

## TRANSFER AND TRANSDUCTION OF HORMONAL SIGNALS INTO DIFFERENT COMPARTMENTS OF THE CELL

V. I. KULINSKY

*Control of cell functions by the intercellular regulators – hormones requires the obligatory transfer and transduction of their signals into intracellular ones, and as to organelles their further transduction into nuclear and mitochondrial signals. Signal-transductor systems of the cell and peculiarities of signals transfer in nucleus and mitochondria are considered.*

**Контроль функций клеток межклеточными регуляторами – гормонами требует обязательной передачи и трансдукции их сигналов во внутриклеточные, а для органелл – дальнейшей трансдукции в ядерные и митохондриальные сигналы. Рассмотрены сигнал-трансдукторные системы клетки и особенности передачи сигналов в ядра и митохондрии.**

## ПЕРЕДАЧА И ТРАНСДУКЦИЯ ГОРМОНАЛЬНОГО СИГНАЛА В РАЗНЫЕ ЧАСТИ КЛЕТКИ

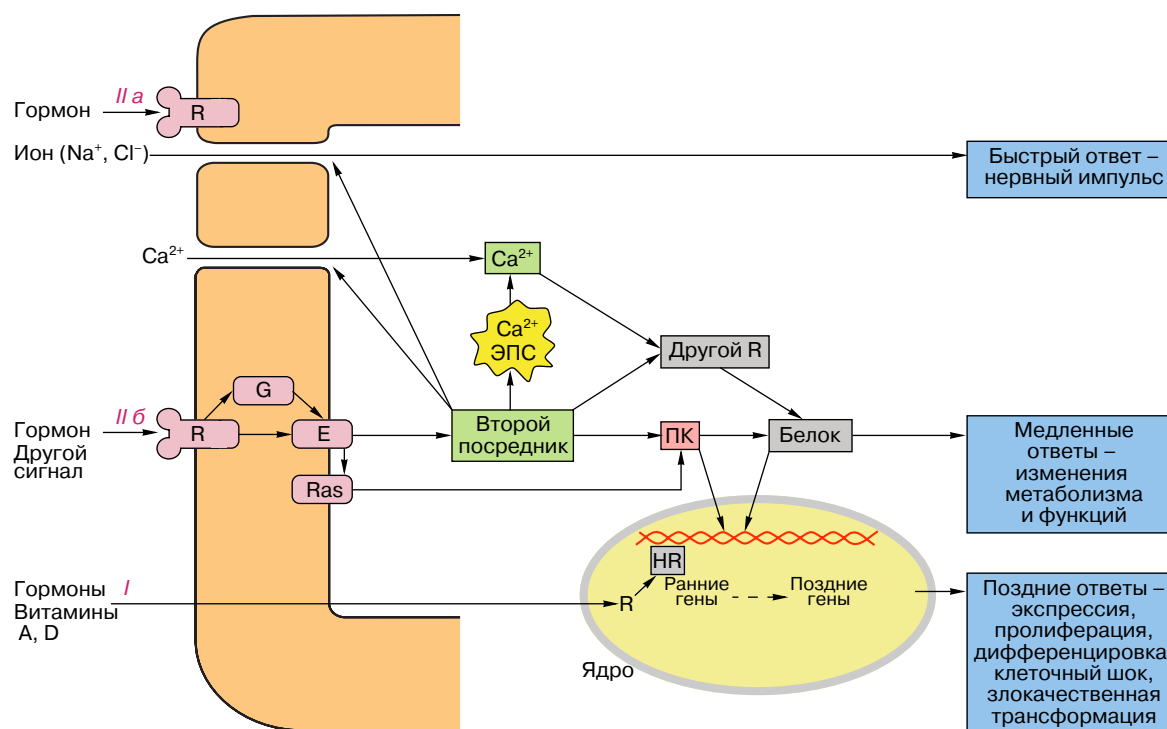
В. И. КУЛИНСКИЙ

Иркутский государственный медицинский университет

### ВВЕДЕНИЕ

Общим принципом передачи любой информации в клетке, как наследственной, так и оперативно регулирующей и управляющей, является обязательность ее трансдукции (преобразования) на каждом этапе. Для наследственной информации общеизвестны как факт трансдукции, так и ее этапы: транскрипция – процессинг про-мРНК (созревание проматричной РНК) – трансляция – посттрансляционная модификация белка. Для передачи гормональной информации это во многом выяснено в последние годы.

Существуют два основных механизма трансдукции гормонального сигнала в клетку (рис. 1). При первом гидрофобный гормон (стероидный, иодтиронин, активированные витамины А и D) проникает через плазматическую мембрану, а затем через цитозоль (последнему, очевидно, способствуют транспортные рецепторы цитозоля) в ядро, где образует комплекс с ядерными рецепторами и в результате изменяет матричные синтезы. При втором гормон-рецепторный комплекс образуется на наружной поверхности плазматической мембраны. Это вызывает либо быстрое открытие ионного канала и вход ионов в клетку (вариант *IIa*, на рис. 1) и в результате нервный импульс, либо включение систем вторые посредники (ВП) – протеинкиназы (ПК), приводящее к более медленным изменениям метаболизма и функций клеток (вариант *IIб*). Два механизма (*I* и *IIб*) могут приводить к поздним эффектам – изменениям процессов, которые регулируются ядром клетки. Совокупности механизмов, осуществляющих трансдукцию межклеточных сигналов гормонов во внутриклеточные, в том числе и во внутриорганелльные сигналы, получили название сигнал-трансдукторных систем [1]. В статье излагаются современные данные по системам ВП–ПК для разных компартментов (микроотсеков) клетки. Важным достижением является выяснение того, что передача регулирующей информации в ядро и митохондрии происходит своеобразно и различно.



**Рис. 1.** Общая структура сигнал-трансдукторных систем клетки. R – рецептор, G – G-белок, E – фермент, образующий второй посредник, ЭПС – эндоплазматическая сеть, ПК – протеинкиназа, Ras – белок Ras, HR – гормон-рецепторный комплекс

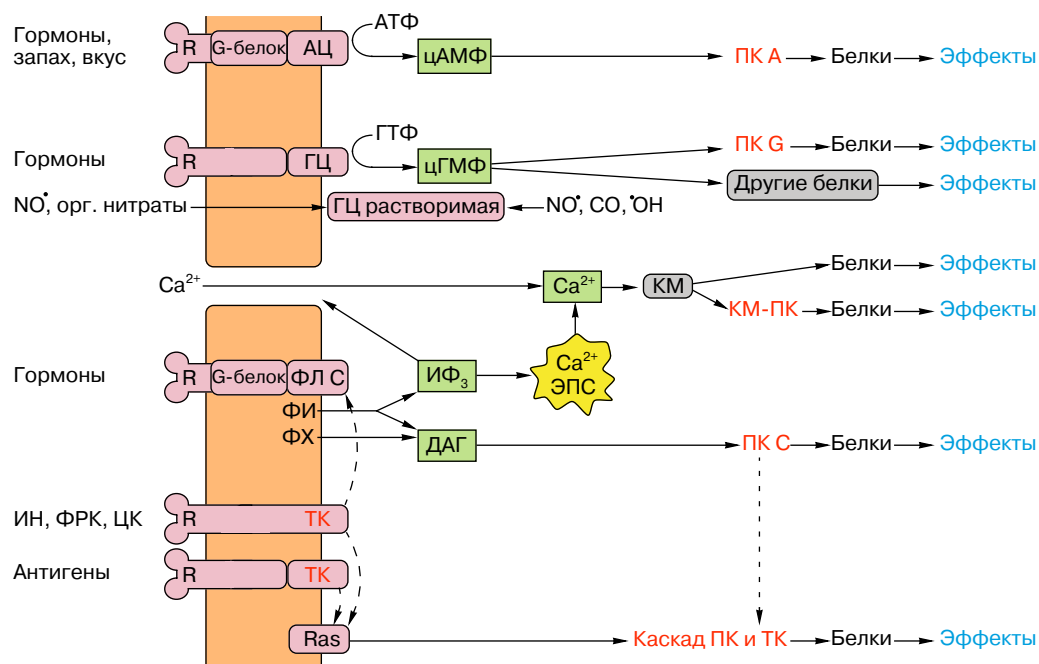
## ЦИТОЗОЛЬ

Четыре основные и наиболее изученные системы передачи гормонального сигнала в цитозоль [1, 2] представлены на рис. 2. Многие гормоны (амины, пептиды, белки, простагландины I и E), а также запахи и вкусы действуют через систему цАМФ (циклический аденозинмонофосфат). Образование гормон-рецепторного комплекса через G [ГТФ (гуанозинмонофосфат)-зависимые]-белки активирует или ингибирует аденилциклазу, которая из АТФ (аденозинтрифосфат) образует цАМФ. Этот ВП вызывает диссоциацию зависимой от него ПК. А на регуляторную и каталитическую субъединицы. В результате последняя активируется и фосфорилирует многочисленные белки. Это увеличивает, например, распад гликогена и жира, синтез катехоламинов и глюкокортикостероидов, сокращение сердца, расслабление гладких мышц. Поэтому цАМФ часто рассматривают как сигнал голода и стресса.

Другой циклонуклеотид – цГМФ (циклический гуанозинмонофосфат) образуется двумя гуанилилциклазами. Мембранный фермент активируется натрийуретическими гормонами (G-белки не участвуют), а растворимый (цитозольный) – монооксидами NO<sup>•</sup>, CO и \*OH [1–3]. Последние – новый (90-е годы) класс неорганических регуляторов, проявляющих свойства иногда межклеточных, иногда

внутриклеточных регуляторов. цГМФ активирует ПК G, но, кроме того, изменяет активность других белков, включая ионные каналы (последнее важно для восприятия света [4]). цГМФ увеличивает выделение мочи и Na<sup>+</sup>, расслабляет гладкие мышцы; NO через цГМФ вызывает эрекцию полового члена. Оба циклонуклеотида дезагрегируют (разъединяют) тромбоциты.

Многие гормоны (амины, пептиды, белки, простагландины F и тромбоксаны) через G-белок включают систему фосфолипаз C, которые из фосфатидилинозитидов образуют два ВП: инозитолтрифосфат и диацилглицерид, а из фосфатидилхолина – только последний. Инозитолтрифосфат увеличивает поступление в цитозоль Ca<sup>2+</sup> – как внутриклеточного из эндоплазматической сети, так и межклеточного через медленные кальциевые каналы. Комплекс Ca<sup>2+</sup> с его рецептором кальмодулином активирует многие цитозольные ферменты либо прямо, либо через кальмодулиновую ПК. Диацилглицерид при наличии Ca<sup>2+</sup> активирует ПК C. Таким образом, в этой системе функционируют три ВП, две ПК и кальмодулин. Ее стимуляция, например, модулирует функции ионных каналов, способствует распаду гликогена, фосфолипидов и белка, активирует секрецию разных желез, выделение гормонов, вызывает сокращение гладких мышц и агрегацию тромбоцитов [1, 2].



**Рис. 2.** Основные сигнал-трансдукторные системы клетки. АЦ – аденилилциклаза, ГЦ – гуанилилциклаза, КМ – кальмодулин, КМ–ПК – кальмодулиновая ПК, ФЛ С – фосфолипаза С, ФИ – фосфоинозитиды, ФХ – фосфатидилхолин, ИФ<sub>3</sub> – инозитолтрифосфат, ДАГ – диацилглицерид, ИН – инсулин, ФРК – факторы роста клеток, ЦК – цитокины, ТК – тирозинкиназа

Тирозинкиназы (ТК) – это ПК, фосфорилирующие в белках остатки тирозина (а не серина или треонина, как другие ПК). Эта система отличается от остальных отсутствием ВП. Различают рецепторные ТК, расположенные в плазматической мембране и являющиеся частью рецептора или сопряженные с ним, и нерецепторные (или клеточные). Эта система включается в действие факторов роста клеток, цитокинов (см. раздел “Ядро”) и инсулина, опосредуя большинство его эффектов (цитозольные). Образование гормон-рецепторного комплекса, а также антигены активируют рецепторные ТК, и они фосфорилируют различные белки (см. рис. 2). Это включает системы малого G-белка Ras и фосфолипаз С. В последние годы установлено, что обе они запускают целый каскад цитозольных ПК – обычных ПК и нерецепторных ТК [1, 2, 5].

Нет сомнений, что сигнал-трансдукторных систем больше. В 90-е годы открыты новые ВП: церамид, фосфатидная кислота, цАДФ (циклоаденозиндифосфат)-рибоза и даже 5'-АМФ (аденозинмонофосфат). Сейчас интенсивно изучаются связанные с ними сигнал-трансдукторные системы.

## ЯДРО

Многие гормоны и другие внеклеточные факторы (некоторые витамины, сыворотка крови) регулируют матричные синтезы, деление и дифферен-

цировку клеток и другие процессы, определяемые ядром клетки. Однако в ядро проникает очень небольшая группа гормонов (стероиды, иодтиронины). Все остальные гормоны регулируют ядерные процессы без проникновения не только в ядро, но даже в клетку. Это возможно только в том случае, если вместо самого гормона в ядро будет поступать его сигнал. Очевидно, что для этого межклеточный сигнал, передаваемый гормоном, должен трансдуцироваться вначале во внутриклеточный, а затем во внутриядерный сигнал.

Первый этап преобразования гормонального сигнала нами уже разобран. Он приводит к накоплению в клетке ВП и/или активации ПК, то есть особый эффекты гормонов здесь нет. Отметим только, что ядерные эффекты гормонов наиболее часто связаны с активацией ТК, ПК С и А [5].

Гормоны, наиболее эффективно регулирующие ядерные процессы, – это факторы роста клеток (ФРК) и цитокины. ФРК регулируют деление и дифференцировку всех клеток и, кроме того, поддерживают их витальность (жизнестойкость). Аналогичные эффекты соматотропного гормона (гормона роста) и инсулина реализуются через ФРК. Цитокины регулируют деление и дифференцировку иммунных клеток и вообще процессы иммунитета и воспаления. Иммунологи часто включают ФРК в состав цитокинов.

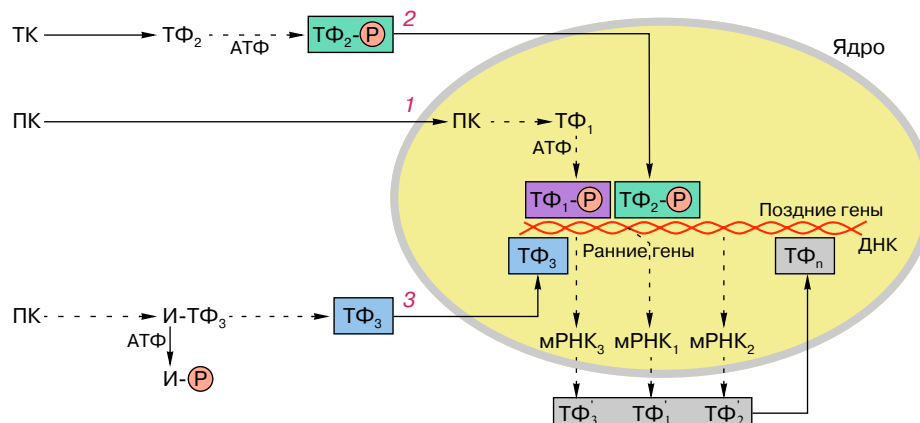
Теперь и начинается самое интересное — как цитозольный сигнал трансдуцируется во внутриядерный. Наиболее частым механизмом регуляции транскрипции на этапе инициации является специфическое взаимодействие белковых транскрипционных факторов с регуляторными участками ДНК. Поэтому основные усилия были направлены на выявление взаимодействия этого механизма с цитозольными событиями. В результате в 1990—1994 годы были выявлены три основных варианта [5] (рис. 3). При первом, характерном для действия сыворотки крови или цАМФ-зависимых гормонов в ядро проникают цитозольные ПК, например киназа митоген-активированного белка (МАР-киназа) или каталитическая субъединица ПК А. В ядре такие ПК фосфорилируют один (или более) из внутриядерных транскрипционных факторов, что изменяет его сродство к ДНК и/или степень его активности. Например, ПК А участвует в развитии клеток (спермы и др.), синтезе гормонов и поддержании суточного ритма, то есть функции цАМФ намного шире, чем думали недавно. При втором варианте, установленном для ряда ФРК, цитокинов и противовирусных белков интерферонов, сигнал в ядро передает не ПК, а фосфорилированный ею белок (например, Stat). До этого он был латентным транскрипционным фактором, но в результате фосфорилирования становится активным, проникает в ядро и специфически связывается с ДНК. При третьем варианте, реализующем эффекты ФРК, активных форм кислорода и ультрафиолета и регулирующем процессы воспаления и иммунитета, в белковом комплексе фосфорилируется и в результате отщепляется ингибиторная или якорная субъединица. Освобожденный от нее и ставший активным транскрипционный фактор проникает в ядро и связывается с ДНК. Это установлено, например, для NF-κB-ядерного фактора, первым (из очень многих) открытым эф-

фектом которого была стимуляция синтеза κ-легкой цепи иммуноглобулинов в В-лимфоцитах.

Таким образом, все три уже изученных варианта передачи сигнала в ядро связаны с протеинкиназным фосфорилированием регуляторных белков — транскрипционных факторов или их предшественников. При всех трех вариантах связывание активного транскрипционного фактора с регуляторным участком ДНК происходит быстро и запускает или увеличивает процесс транскрипции ранних генов, то есть генов, определяющих быстрые (в пределах ~ 15 мин) ответы клетки. Возникающие мРНК определяют синтез белковых продуктов ранних генов, которые становятся новыми транскрипционными факторами. Последние, как хорошо известно, стимулируют поздние гены (их активность реализуется в течение часов и суток) [5].

Напомним, что такие гормоны, как стероидные и иодтиронины, и активированные витамины А (ретиноевая кислота) и D (кальцитриол) после образования комплекса со своими ядерными рецепторами также взаимодействуют с регуляторными участками ДНК (см. рис. 1). Это означает, что конечный этап в регуляции ядерных процессов разными гормонами оказывается близким — это взаимодействие гормон-рецепторного комплекса (при механизме I на рис. 1) или — при механизме IIб — модифицированного транскрипционного фактора (см. рис. 3) с регуляторными участками ДНК. Однако очевидны глубокие различия и в процессах трансдукции гормонального сигнала в ядро, и в регуляторных участках ДНК. Отметим, что изобилие последних почти в каждом гене эукариот привело к термину “мозг гена”, а сам такой ген заслужил название “умного” (smart gene).

Изложенные данные не исчерпывают возможных механизмов и уровней регуляции. Показано, что при стимуляции деления клеток в ядре



**Рис. 3.** Основные пути передачи сигнала из цитозоля в ядро. ТФ — транскрипционный фактор, Р — остаток фосфата, И — ингибитор. —> транслокация сигнальной молекулы в ядро, - - -> другие варианты передачи сигнала

увеличивается концентрация  $\text{Ca}^{2+}$ . Следовательно, проникать в ядро могут не только ПК и модифицированные ими транскрипционные факторы, но и ВП. Однако трансдукция сигнала  $\text{Ca}^{2+}$  в ядре пока не выяснена. Ясно также, что цитозольные ВП и ПК могут регулировать экспрессию генов и на пост-транскрипционном и трансляционном уровнях. Но конкретные механизмы передачи сигналов в ядро еще не установлены.

## МИТОХОНДРИИ

В последние годы окончательно доказано, что существует множественная регуляция гормонами и ВП всех основных функций митохондрий (МХ) [6]: активности ферментов, включая цикл трикарбоновых кислот Кребса, работы дыхательной цепи, окислительного фосфорилирования и процессов энергопотребления. Регуляция осуществляется двумя группами гормонов:  $\text{Ca}^{2+}$ -мобилизующими (катехоламины через  $\alpha_1$ -рецепторы, вазопрессин, ангиотензин) и цАМФ-зависимыми (глюкагон и катехоламины через  $\beta$ -рецепторы). Схема передачи гормонального сигнала в МХ представлена на рис. 4. Общее для обоих механизмов — первичный регуляторный сигнал в клетке возникает в гормональных рецепторах плазматической мембраны и затем трансдуцируется в увеличение цитозольной концентрации ВП —  $\text{Ca}^{2+}$  и/или цАМФ. Их влияние на МХ является вторичным — в результате воздействия

на наружную сторону внутренней мембраны МХ или проникновения через нее в матрикс (внутренняя растворимая часть МХ).

Конкретные механизмы этих процессов различны. Для  $\text{Ca}^{2+}$  существует постоянный обмен через внутреннюю мембрану МХ: вход в матрикс (к минусу внутри) за счет энергии мембранного потенциала и выход назад в гиалоплазму в обмен на  $\text{Na}^+$  или  $\text{H}^+$  за счет энергии, связанной с различиями рН. Расход энергии на это невелик и оправдан: он является основой для кальциевой регуляции функций МХ. Кроме того,  $\text{Ca}^{2+}$  активирует как минимум один фермент наружной стороны внутренней мембраны МХ (глицерофосфатдегидрогеназу). цАМФ взаимодействует с рецепторным белком внутренней мембраны МХ, что, очевидно, и приводит к активации их функций. Кроме того, цАМФ проникает во все компартменты МХ, а в каждом из них есть ПК А (но ее роль в регуляции функций МХ еще не вполне доказана). В результате описанных процессов цитозольный сигнал — увеличение концентрации  $\text{Ca}^{2+}$  и/или цАМФ — трансдуцируется в митохондриальный, что и вызывает множественные изменения функций этих субклеточных частиц [6].

Необходимо обратить внимание на две важные особенности: 1) ионы  $\text{Ca}^{2+}$  действуют не через специализированные рецепторные белки типа кальмодулина, а прямо на митохондриальные ферменты как матрикса, так и внутренней мембраны;

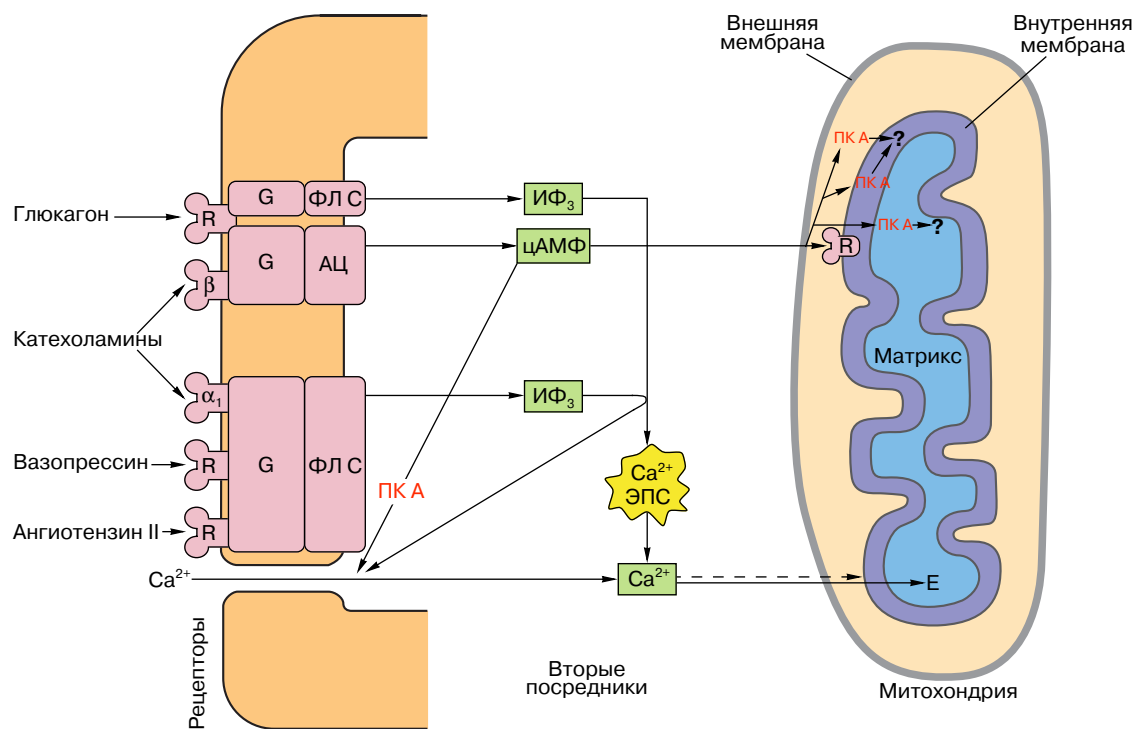


Рис. 4. Передача гормонального сигнала в митохондрии. Е — фермент МХ



2) эффекты цАМФ могут реализовываться не только через ПК А, но и путем связывания с рецепторным белком внешней стороны внутренней мембраны МХ, что изменяет ее свойства и в результате приводит к изменениям функций МХ. Это существенно отличается от классических механизмов, характерных для цитозоля эукариот. В то же время у прокариот нет обычных рецепторных белков (кальмодулина и ПК А) для этих вторых посредников, и цАМФ действует через внутриклеточный цАМФ-рецепторный белок. Эту аналогию можно рассматривать как еще один важный факт в пользу известного представления о прокариотическом происхождении МХ (суть его в том, что МХ в клетке — эндосимбиоз безмитохондриального эукариота, ранее жившего на гликолизе, с прокариотом, открывшим окислительное фосфорилирование). Вместе с тем у МХ есть и важные отличия от прокариот: 1) отсутствие аденилициклазы, 2) локализация рецепторного белка цАМФ в мембране МХ, 3) наличие в ней системы транспорта  $\text{Ca}^{2+}$ , 4) наличие ПК А. Все эти особенности могли появиться после возникновения эндосимбиоза как ответ на потребность клетки регулировать свои (уже свои) МХ. Конечно, в процессе эволюции это происходило разновременно: рецепторный белок цАМФ в МХ есть уже у дрожжей, а система транспорта  $\text{Ca}^{2+}$  развивается только у позвоночных. Последние в регуляции функций МХ имеют наиболее широкие возможности для выбора: 1) выбор гормона, 2) выбор одного из его рецепторов, 3) выбор ВП, 4) для цАМФ вероятен также выбор пути реализации его эффекта (рецептор внутренней мембраны МХ или ПК А).

Вероятно, регуляция функций МХ не ограничивается рассмотренными четырьмя гормонами и двумя ВП: 1) как  $\text{Ca}^{2+}$ -мобилизующих, так и цАМФ-зависимых гормонов очень много; 2) биосинтезы (особенно матричные), ионный транспорт (особенно  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$ ) и мышечная работа — основные пути расхода энергии, поэтому их регуляторы должны стимулировать и энергообеспечение. Функции МХ могут стимулироваться и другими ВП и их рецепторными белками. Для цГМФ и ПК С такие данные уже появились, но излагать их пока преждевременно, да и регуляторные механизмы остаются неясными.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В каждой клетке существует комплекс сигнал-трансдукторных систем, преобразующих все внеш-

ние сигналы во внутриклеточные, а затем и во внутриорганелльные. Сигналы подавляющего большинства гормонов с рецепторов плазматической мембраны в цитозоль передаются системой вторых посредников — их специфические рецепторы (чаще всего протеинкиназы); фосфорилирование же белков изменяет их активность. Существуют и варианты: второй посредник — неферментный рецепторный белок ( $\text{Ca}^{2+}$  — кальмодулин или цГМФ — ионный канал) и протеинкиназы (тирозинкиназы), прямо активируемые гормон-рецепторным комплексом.

В ядро сигнал обычно передается путем транслокации в него цитозольной протеинкиназы или активированного транскрипционного фактора (фосфорилированного ею или освобожденного из комплекса с другим белком). В митохондриях сигнал передается иначе — путем транслокации из цитозоля вторых посредников:  $\text{Ca}^{2+}$  или цАМФ, которые в основном действуют не через свои специфические рецепторы, а прямо на функциональные белки митохондрий. Механизмы трансдукции в органеллах отличаются от классических цитозольных, но они обеспечивают столь же эффективный контроль гормонами ядерных и митохондриальных процессов, как и цитозольных.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Кулинский В.И. Лекционные таблицы по биохимии. Иркутск: Иркут. мед. ин-т, 1994. Вып. 4: Биохимия регуляций. 94 с.
2. Нейрохимия / Под ред. И.П. Ашмарина, П.В. Стукалова. М.: НИИ биомед. химии РАМН, 1996. С. 244–371.
3. Реутов В.П. // Успехи биол. химии. 1995. Т. 35. С. 189–228.
4. Островский М.А. // Природа. 1993. № 10. С. 23–36.
5. Терентьев А.А. // Биохимия. 1995. Т. 60. С. 1923–1952.
6. Кулинский В.И. // Успехи биол. химии. 1997. Т. 37. С. 171–209.

\* \* \*

Владимир Ильич Кулинский, доктор медицинских наук, профессор, зав. кафедрой биохимии Иркутского государственного медицинского университета, действительный член Академии наук высшей школы. Научные интересы — регуляция гормонами и вторыми посредниками окислительно-восстановительных процессов и устойчивости организма к экстремальным факторам. Автор более 360 публикаций, включая 170 статей в центральных журналах, и четырех учебных пособий.