

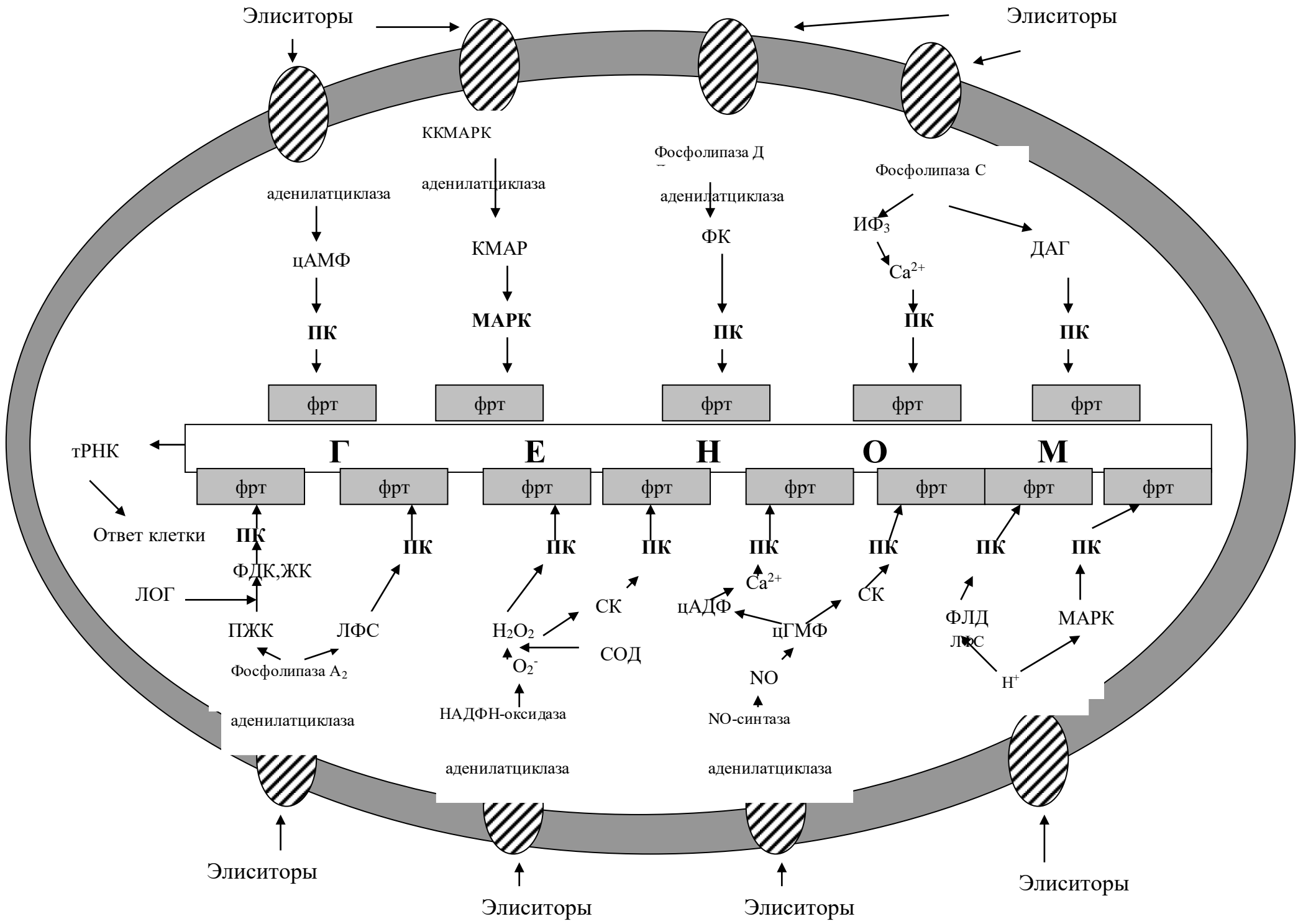
ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ СИГНАЛЬНЫХ СИСТЕМ. НЕКОТОРЫЕ МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ СУММАРНЫЕ ЭФФЕКТЫ РАБОТЫ СИГНАЛЬНЫХ СИСТЕМ

Один и тот же сигнал может включать различные сигнальные системы. Кроме того, существует модулирование (активация или ингибирование) одних сигнальных систем с помощью промежуточных продуктов (вторичных мессенджеров) других. В аденилатциклазной системе – это цАМФ, в фосфатидатной – фосфатидная кислота, в МАР-киназной – различные протеинкиназы, в кальциевой – инозиттрифосфат, диацилглицерин и ионы кальция, в липоксигеназной – полиеновые жирные кислоты и их производные, в НАДФН-оксидазной – активные формы кислорода и салицилат, в NO-синтазной – окись азота, цГМФ, цАДФ-рибоза и салицилат. Если активация ферментов сигнальных систем, в том числе и факторов регуляции транскрипции или белков ионных каналов осуществляется с помощью фосфорилирования или дефосфорилирования, то в качестве сигнальных интермедиатов могут выступать, соответственно, протеинкиназы или протеинфосфатазы.

Как и в случае обычных метаболических цепей главным объектом регуляции в сигнальных системах является фермент первой реакции.

Рис. Совокупность сигнальных систем клеток растений

ДАГ – диацилглицерол; ЖК – жасмоновая кислота; ИФ3 – инозитолтрифосфат; ККМАРК – киназа киназы МАР-киназы; КМАР – киназа МАР-киназы; ЛОГ – липоксигеназа; ЛФС – лизофосфатиды; МАРК – матагенактивируемая протеинкиназа; ПЖК – полиеновые жирные кислоты; ПК – протеинкиназы; СК – салициловая кислота; СОД – супероксиддисмутаза; ФДК – фитодиеновая кислота; ФК – фосфатидная кислота; ФК – фосфатидная кислотат; ФЛД – досфолипаза Д; ФРТ – факторы регуляции транскрипции.



В аденилатциклазной системе таким ферментом является аденилатциклаза. Она активируется относительно низкими концентрациями ионов кальция и Ca^{2+} -кальмодулином, оксигенированными производными полиеновых жирных кислот, но ингибируется относительно высокими концентрациями Ca^{2+} .

В MAP-киназной системе цАМФ или цАМФ-зависимая PKA ингибирует активацию элиситорами KKMAPK. Фосфатидная, салициловая кислота, H^+ и H_2O_2 , наоборот, активируют фермент.

В фосфатидатной системе активирует фосфолипазу D повышение концентрации ионов Ca^{2+} , возможно вследствие вызванного этим передвижением фермента из цитозоля к мембранам. Повышают активность фосфолипаз D также протеинкиназа C, полифосфоинозитолы.

В кальциевой сигнальной системе характер активности стартового фермента фосфолипазы C также зависит от концентрации интермедиатов других сигнальных систем. Например, цАМФ и цАМФ-зависимая PKA активирует или инактивирует фосфолипазы C. Фосфатидная кислота, перекись водорода и полиеновые жирные кислоты активируют фермент, а последние – и кальцийрегулируемые протеинкиназы. ЦГМФ ингибирует фосфолипазу C, а полиеновые жирные кислоты и их гидропероксиформы ингибируют кальциевые каналы.

Для липоксигеназной системы характерен один из наиболее сложных механизмов регуляции. На фосфолипазу A_2 могут действовать MAP-киназы, вызывая фосфорилирование фермента. Повышение концентрации фосфатидной кислоты, перекиси водорода и ионов Ca^{2+} активируют фосфолипазу A_2 и липоксигеназу. Липоксигеназы вообще являются одними из наиболее регулируемых ферментов всех сигнальных систем, причем ее изоформы различным образом отвечают на одни и те же воздействия. ЦГМФ ингибирует фосфолипазу A_2 .

В НАДФН-оксидазной системе активность одноименного фермента может регулироваться фосфолипазой C, Ca^{2+} , полиеновыми жирными кислотами и лизофосфатидами. ЦГМФ ингибирует фермент. Возрастание концентрации оксида азота может привести к повышению интенсивности его связывания с супероксидным радикалом с образованием пероксинитрита, что приводит к снижению его

концентрации и снижению скорости реакции образования из O_2^- перекиси. В то же время оксид азота ингибирует каталазу, что должно привести к повышению содержания перекиси водорода. По всей видимости, итог этого противоположного влияния на содержание H_2O_2 зависит от концентрации оксида азота.

Активатором NO-синтазы является Ca^{2+} , полиеновые жирные кислоты и их гидропероксиформы. Перекись водорода активирует гуанилатциклазу.

Регуляция протонной сигнальной системы сводится к изменению активности ионных каналов и мембранных АТФаз (в том числе протонных помп).

Регуляция ионных потоков интермедиатами сигнальных систем.

Для исследования роли ионных потоков в сигнальном метаболизме применяются различные ионофоры (2,4-динитрофенол (протонофор), валиномицин (специфический K^+ переносчик), моненсин (Na^+/H^+ -обменник), А23187 (специфический Ca^{2+} -переносчик), каналоформеры грамицидины А и Д (образуют каналы, через которые проходят H^+ и K^+), полиеновые антибиотики амфотерицин и нистатин (образуют поры, через которые проходят катионы и анионы), блокаторы Са-каналов верапамил и нифедипин, тетраэтиламмоний (блокирует K^+ -каналы), этакриновая кислота (блокирует анионные каналы) и др.

Очень важно, что изменения концентрации ионов и связанной с ними трансмембранной разности потенциалов проходящи, так же как и многие более поздние метаболические ответы клеток на действие элиситоров. Подавление сос временем возбуждения клетки, индуцированного внешним сигналом, является одним из основных принципов регуляции биологических систем. Можно предположить, что если ранняя активация сигнальных систем клетки зависит от трансмембранного изменения концентрации определенных ионов, то они, в совою очередь, могут испытывать на себе регулирующее действие со стороны сигнальных систем.

Действительно, происходит активация ионных каналов относительно небольшими концентрациями интермедиатов сигнальных систем. Кальциевые каналы активируются цАМФ, ИФ₃ и ИФ₄, цАДФРиб и цГМФ и Ca^{2+} -кальмодулином. Отмечено ингибирование кальциевых каналов полиеновыми жирными кислотами и их

производным, а также повышенными концентрациями ионов кальция. Повышение концентрации указанных интермедиатов приводит к активации кальциевых каскадов клетки, выводящих эти ионы из цитозоля и, таким образом, снижающих их активирующее влияние на сигнальные системы.

Интермедиаты сигнальных систем могут оказывать влияние на функционирование ионных каналов непосредственно или с помощью соответствующих протеинкиназ (например, выход ионов K^+).

Стимуляция кальциевых и протонных помп (повышают активность H^+ -АТФаз плазмалеммы Ca^{2+} , лизофосфатидов, ПЖК, цАМФ и цГМФ), активация калиевых каналов (цАМФ активирует протеинкиназы и с их помощью – калиевые каналы плазмалеммы) вызывает реполяризацию мембран. ионы кальция, лизофосфолипиды, ПЖК.

Следующая за изменением ионных потоков местная деполяризация плазмалеммы (сдвиг мембранного потенциала покоя от $-140...-200$ мВ до более положительных значений) приводит к распространению электрического импульса, которое захватывает соседние клетки и проводящую систему растений и может участвовать в индукции системного иммунитета в удаленных от места повреждения участках растений.

Из всех интермедиатов, регулирующих ионные потоки, особая роль все таки принадлежит цАМФ, которая у растений может активировать K^+ -каналы, Ca^{2+} -каналы, Cl^- -каналы и H^+ -каналы мембран клеток, минуя их фосфорилирование с помощью протеинкиназ. Для такой регуляции в белках ионных каналов существуют специальные цАМФ-связывающие домены, в прочем, как и кальмодулинсвязывающие. Это позволяет сделать вывод о совместном влиянии аденилатциклазной и кальциевой сигнальных систем на ионные потоки в клетках.

Роль сигнальных систем в структурных изменениях цитоскелета.

Цитоскелет – сложная сеть нитей, пронизывающих цитозоль состоит из трех основных типов структур: толстых тубулиновых микротрубочек, тонких актиновых нитей (филаментов) и промежуточных (по диаметру) нитей. От этих надмолекулярных образований, постоянно распадающихся и создаваемых заново из мономерных белков,

зависит движение цитозоля, органоидов и очертания клеток растений, а также внутриклеточный транспорт ряда белков.

Баланс между мономерными актиновыми белками и микрофибриллами, а также перемещение их в цитоплазме обеспечивается вспомогательными белками: актиндеполимеризующим фактором, кофилином, фодрином (появление пучков), кинезином и динеином (перемещение).

Многие участники процессов функционирования, образования и деградации микротрубочек, а также их реориентации являются мишенями интермедиатов некоторых сигнальных систем клеток. Это относится к повышению в цитозоле концентрации протонов, ионов кальция, Ca^{2+} -кальмодулина, активности MAP-киназ, цАМФ-зависимых протеинкиназ и протеинкиназы С, протеинфосфатаз, фосфоинозитолфосфатазы.

Установлен факт удивительного сходства трехмерной структуры цитоскелетных вспомогательных моторных белков с G-белками. Этот факт позволяет допускать возможность очень тесной связи между начальными звеньями сигнальных систем и цитоскелетом. Но иногда это свойство используется патогенами для облегчения проникновения в клетку, так как элиситоры вызывают быструю локальную деполимеризацию актина.

Перестройки актиновых нитей очень чувствительны к изменениям pH. При высоком содержании протонов актиновые нити более стабильны, а микротрубочки менее стабильны, что не может не отразиться на состоянии цитоскелета в целом.

Механизмы индуцированной смерти клеток

Существует два типа смерти клеток, осуществляемых по разным сценариям. Первые и наиболее простой – это **некроз** клеток, который происходит благодаря нарушению целостности плазмалеммы и других мембран клетки, что приводит к невосстанавливаемым нарушениям трансмембранных ионных градиентов плазмалеммы, освобождению лизосомальных ферментов, вызывающих деградацию белков, нуклеиновых кислот и липидов. Ультраструктурными проявлениями этого являются набухание клеток, лизис их составляющих, разрушение плазмалеммы и

вытекание содержимого клеток. Этот процесс не регулируется генетическим аппаратом.

Второй тип гибели клеток – это генетически программируемая смерть (**апоптоз**), вызванная действием элиситоров и опосредованная сигнальными системами. Апоптоз может быть вызван тем же агентом, что и некроз, но в последнем случае требуется гораздо большая концентрация агента (например, перекись водорода). Ультраструктурные изменения при апоптозе – вакуолизация и сжатие цитоплазмы, вздутия ядерной оболочки, фрагментация ядер, конденсация хроматина, уплотнения матрикса митохондрий и др. Плазмалемма при этом сохраняет свою целостность. Апоптозу подвергаются клетки, окружающие инфицированный участок (особенно клетки, примыкающие к проводящим пучкам), что создает механический барьер распространения инфекции по растению.

Элиситор – сигнал смерти вызывает экспрессию генов апоптоза с помощью сигнальных систем. В исследовании процесса апоптоза широко используются трансгенные растения с привнесенными генами апоптоза или генами ферментов, влияющих на содержание небелковых соединений, принимающих участие в процессе апоптоза, например, салициловой кислоты.

Основной механизм апоптоза у животных и растений консервативен, но растения используют большее количество регуляторов для контроля над этим процессом.

Очень важным этапом апоптоза является активация цистеиновых протеиназ – каспаз (сокращение от кальцийзависимых протеиназ). Еще один существенный этап апоптоза – активация эндонуклеаз.

Растения имеют два основных класса ДНКаз: Zn^{2+} и Ca^{2+} -зависимые, и оба принимают участие в процессе апоптоза. Их активация приводит к фрагментации ядерной ДНК.

Начальные этапы процесса апоптоза осуществляются с помощью сигнальных систем клеток растений, «включаемых» элиситорами и токсинами патогенов. Это кальциевая, НАДФН-оксидазная, NO-синтазная и липоксигеназные системы. Сигнальные интермедиаты перечисленных выше систем могут активировать

предсуществующие в клетках фермента, а также инициировать экспрессию главных генов апоптоза, кодирующих эндонуклеазы и протеиназы.

В активации предсуществующих ферментов важную роль играет кальциевая сигнальная система в связи с тем, что каспазы и эндонуклеазы – это кальцийактивируемые ферменты. Кроме того, сигнальный Ca^{2+} вызывает повышение проницаемости внутренней мембраны митохондрий и выходу в цитозоль цитохрома *c*, который в окисленном состоянии индуцирует апоптоз. В норме высокий уровень цитоплазматического восстановленного глутатиона поддерживает его в неактивном состоянии, а H_2O_2 , снижая содержание глутатиона, вызывает апоптоз.

Апоптоз также индуцируется сигнальными путями, включающими салицилат и жасмоновую кислоту.

Схема участия кальциевой, липоксигеназной, НАДФН-оксидазной и NO-синтазной сигнальных систем в процессах апоптоза клеток.

ГПО-ПЖК – гидропероксипроизводные полиеновых жирных кислот; НАДФН-О- НАДФН-оксидаза; OONO^- - пероксинитрит.

