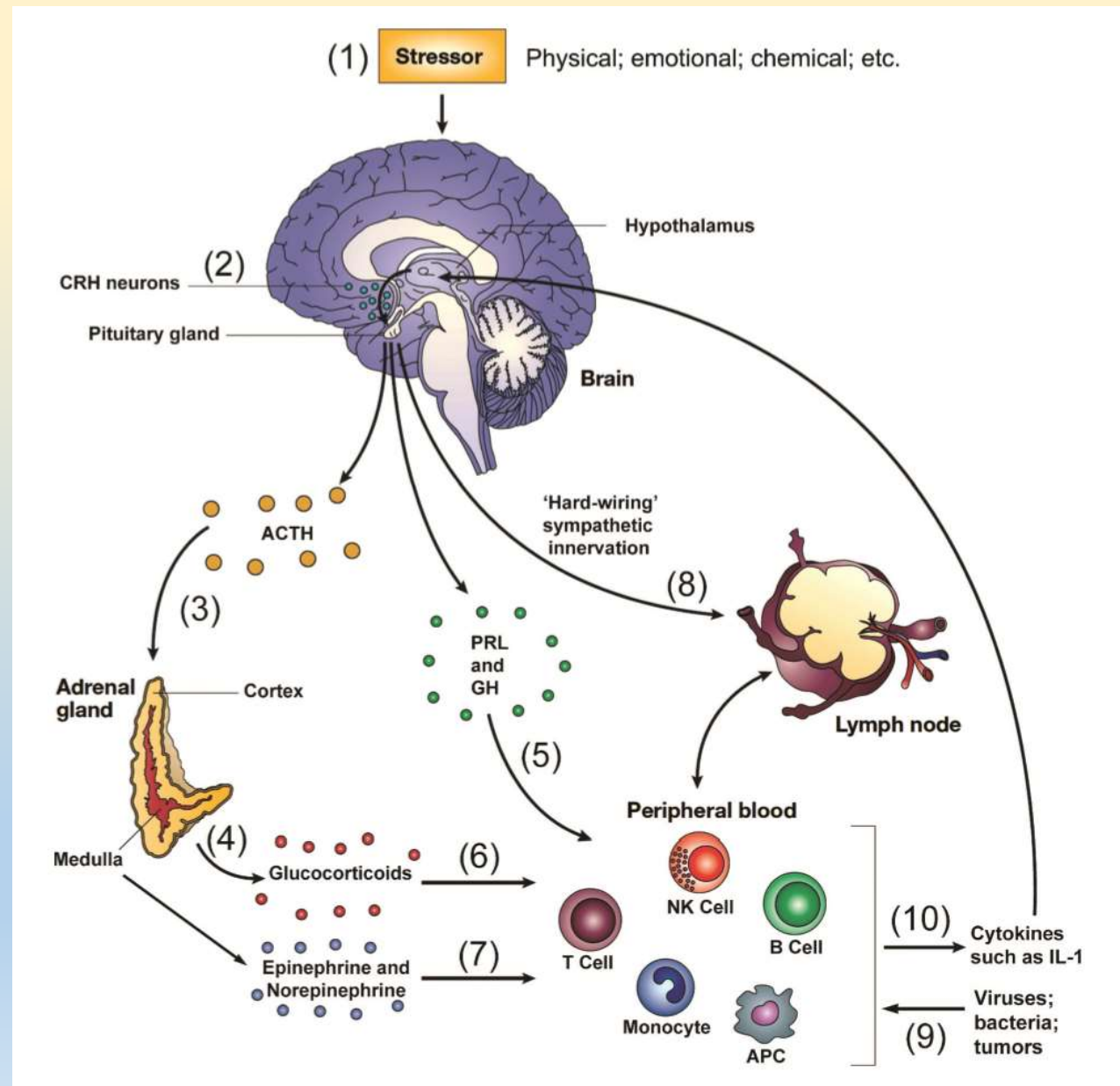


Obecné principy endokrinních funkcí.

Integrace nervového, endokrinního a imunitního systému

- Hormony
- Neurohormony
- Neurotransmitery
- Parakrinně (autokrinně) působící působky



Jak spolu buňky komunikují?

- Intrakrinie
- Autokrinie
- Parakrinie
- Neurokrinie
- Endokrinie
- Neuroendokrinie

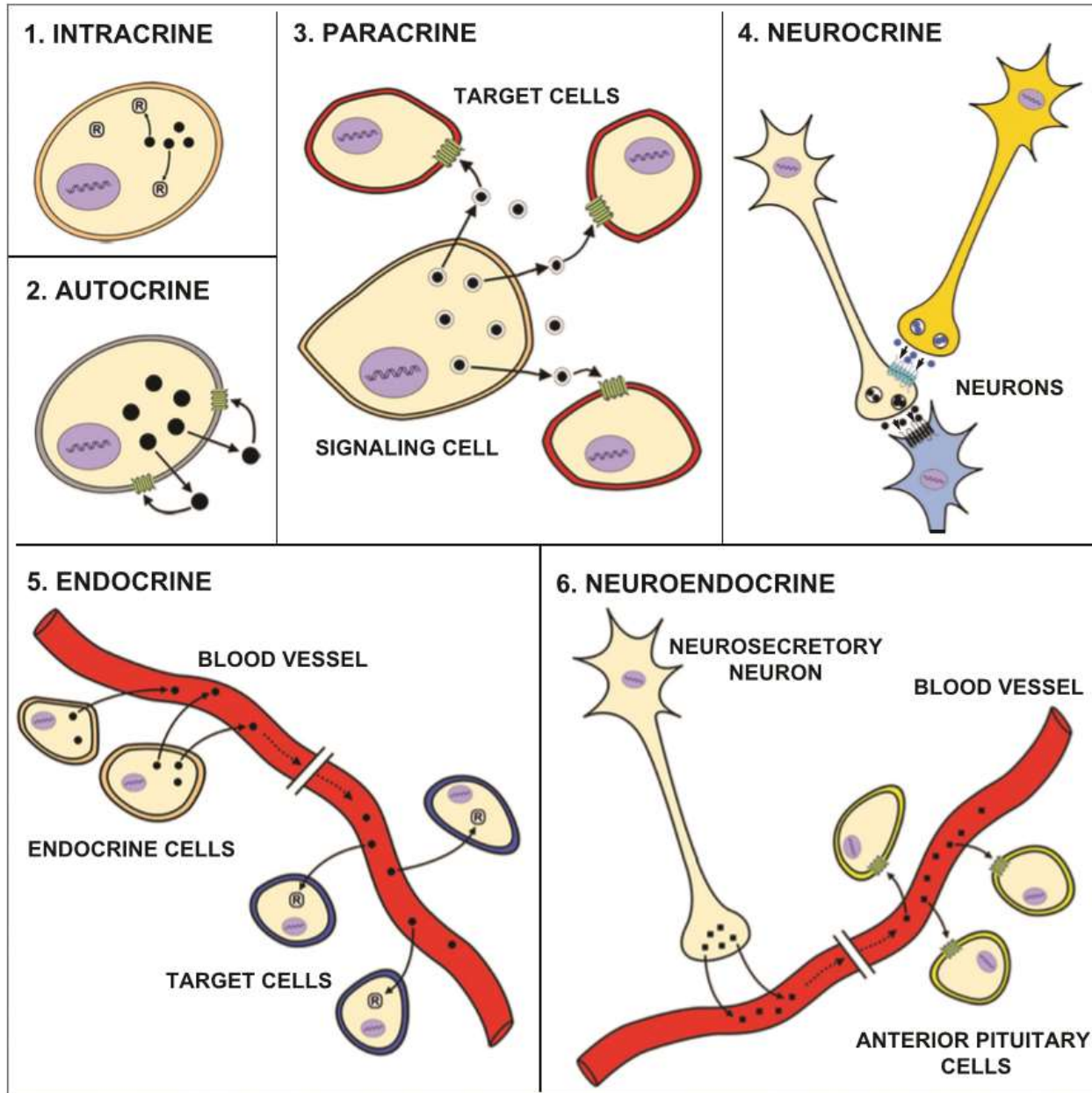
zdroj



prostředí



cílová buňka



endokrinie

zdroj



žláza

- syntéza/sekrece
- žádné ovlivnění specifičnosti účinku

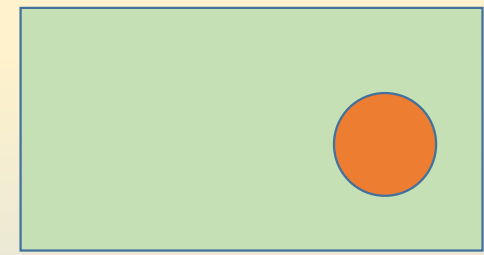
prostředí



krev

- univerzální prostředí
- diluce a interakce

cílová buňka



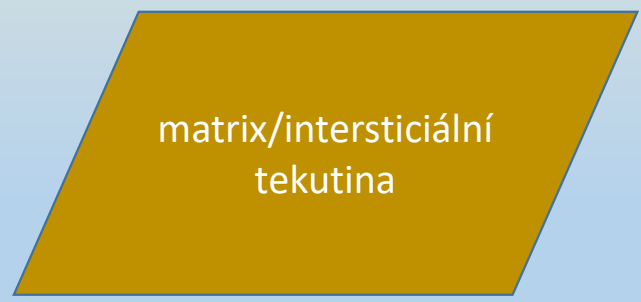
- receptor = specifičnost
- buněčná odpověď
 - počet receptorů
 - signální dráhy
 - další ligandy
 - metabolizace ligandu/receptoru

parakrinie, autokrinie



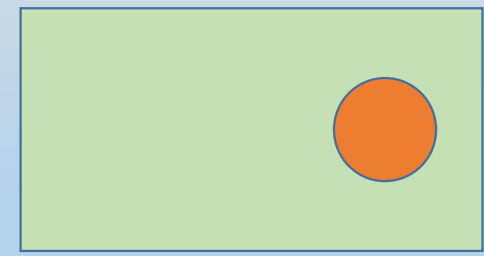
buňka

- syntéza/sekrece
- hlavní determinant cílové buňky (dáno lokalizací)



matrix/intersticiální tekutina

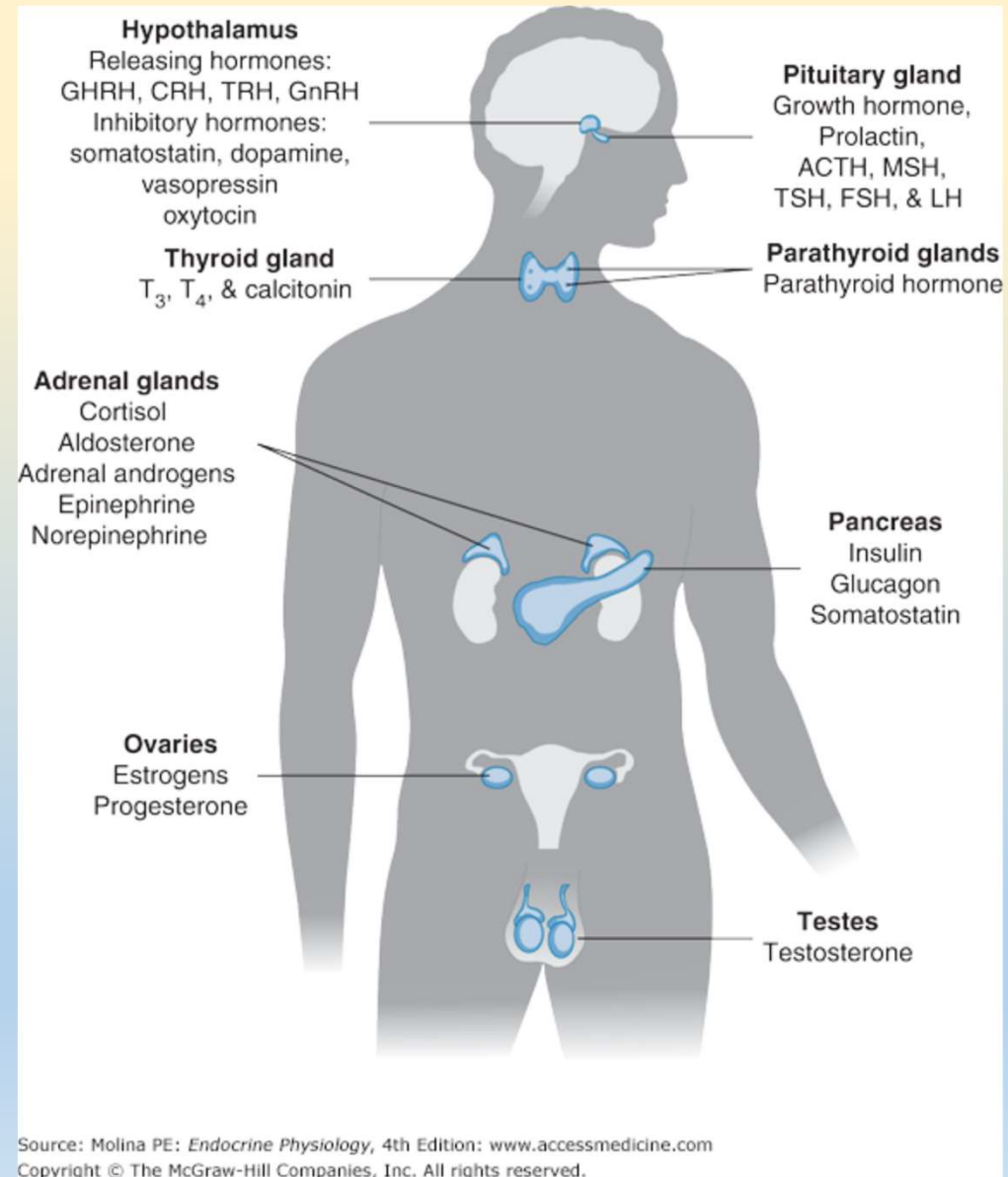
- difuze
- vazebné proteiny
- proteázy
- komponenty extracellulární matrix



- specifičnost a senzitivita
- difuzní bariéra
- determinanty gradientu
- inhibiční signální dráhy
- vliv dalších ligandů
- vazebné proteiny

Hormony

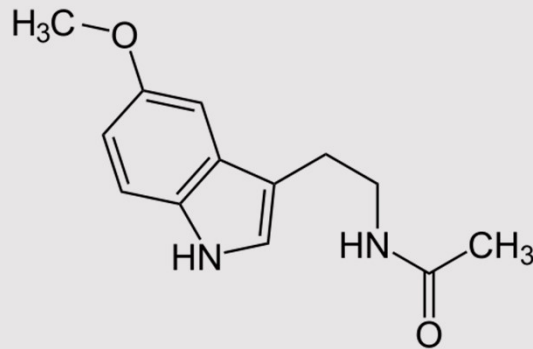
- Starling 1905 - *sekretin*
- Glandotropní hormony
- Aglandotropní hormony
- Cílové buňky
- Limitovaná doba působení



Chemická povaha hormonů

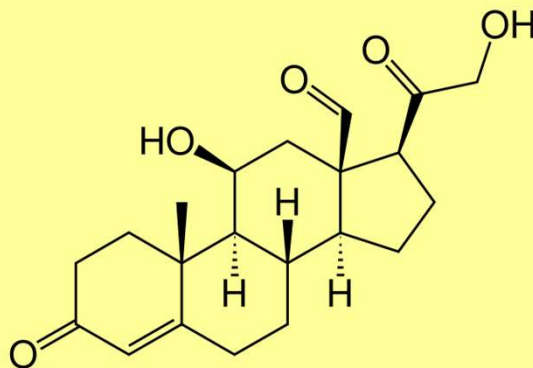
ODVOZENÉ OD AMINOKYSELIN

- Adrenalin
- Noradrenalin
- Dopamin
- Melatonin
- T3/T4



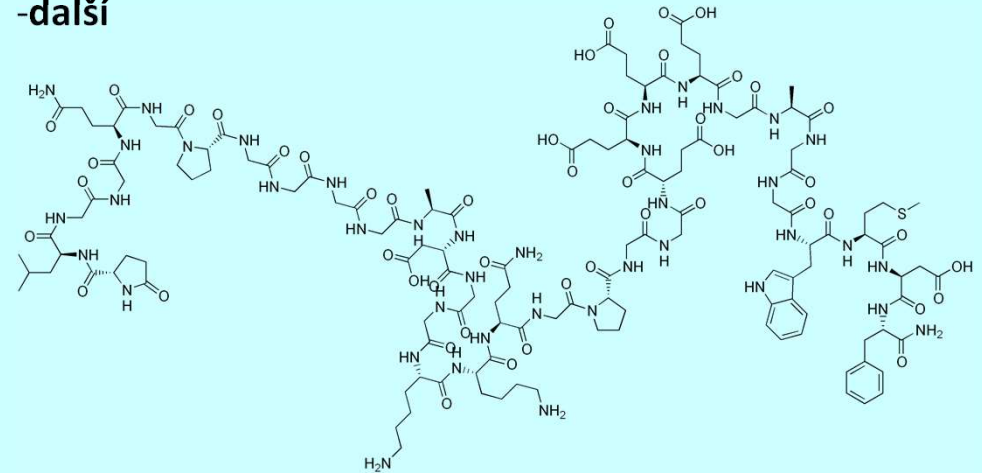
STEROIDNÍ

- Kortizol
- Aldosteron
- Testosteron
- Progesteron
- Estradiol
- Kalcitriol



PEPTIDY A PROTEINY

- Hormony hypothalamu
- Hormony adenohipofýzy
- Inzulin, glukagon, somatostatin
- Gastrin, cholecystikin, sekretin
- Natriuretické peptidy
- Erythropoietin, trombopoietin
- PTH, PThP
- další



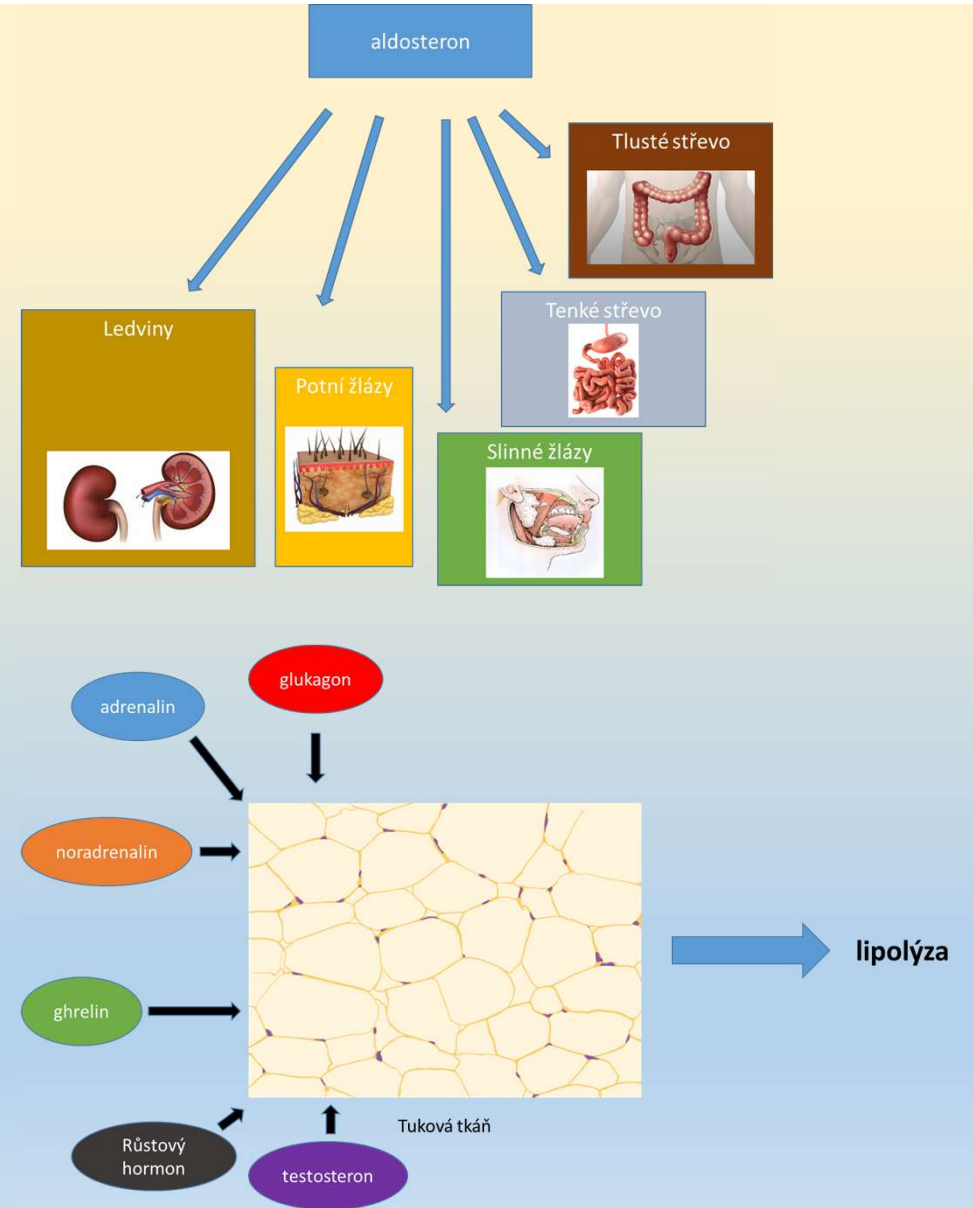
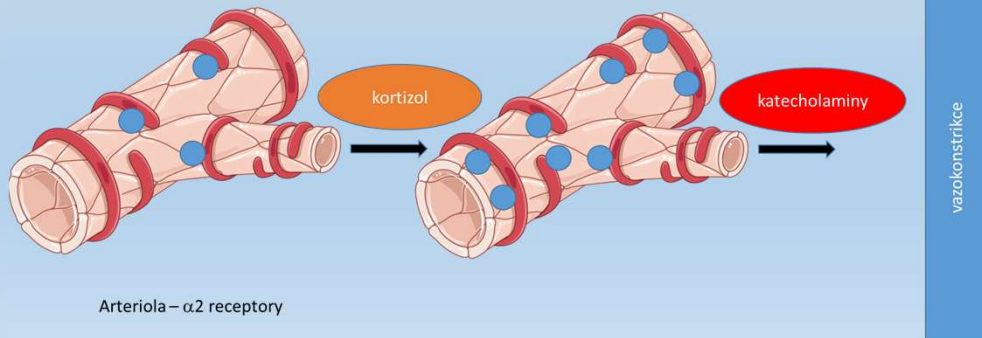
Chemická povaha hormonů

Hormon - charakteristika	Peptidy - proteiny	Katecholaminy	Steroidní hormony	Tyreoidální hormony
F-CH vlastnosti	hydrofilní	hydrofilní	lipofilní	lipofilní
syntéza	proteosyntéza	modifikace Tyr	prekurzory CH	modifikace Tyr
zásoba	sekreční granula	sekreční granula	není	koloid
sekrece	řízená exocytóza	řízená exocytóza	difúze	difúze
transport	volné	volné/ slabě vázané	vázané	vázané
eliminační poločas	krátký (4 – 40 – 170 min)	velmi krátký (2 – 3 min)	středně dlouhý (až 180 min)	Dlouhý (20 hod – 7 dní)
receptory	membránové	membránové	cytosolové	jaderné
účinek	krátkodobý	velmi krátkodobý	dlouhodobý	dlouhodobý
buněčná odpověď	rychlá	velmi rychlá	pomalá	pomalá

CHEMICKÁ STRUKTURA HORMONŮ URČUJE JEJICH BIOSYNTÉZU, SKLADOVÁNÍ, UVOLNĚNÍ, TRANSPORT, POLOČAS ELIMINACE, ZPŮSOB ELIMINACE A MECHANISMUS ÚČINKU NA CÍLOVÉ BUŇKY

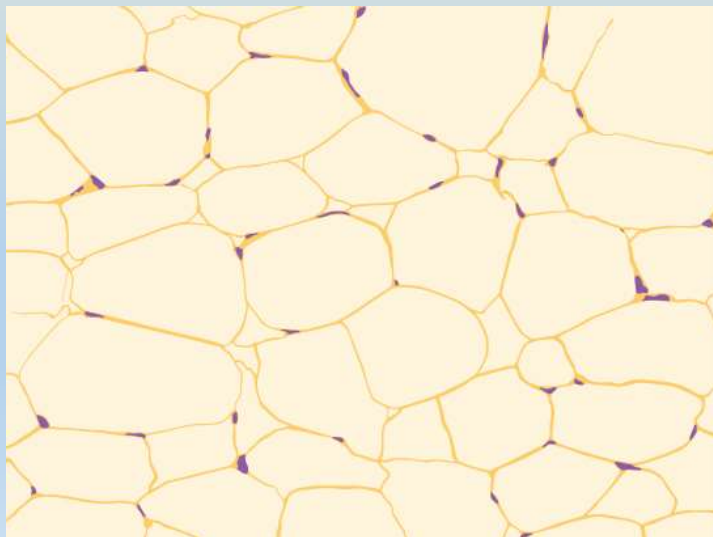
Hormony

- Pleiotropní účinek
- Multiplicita
- Permisivní působení

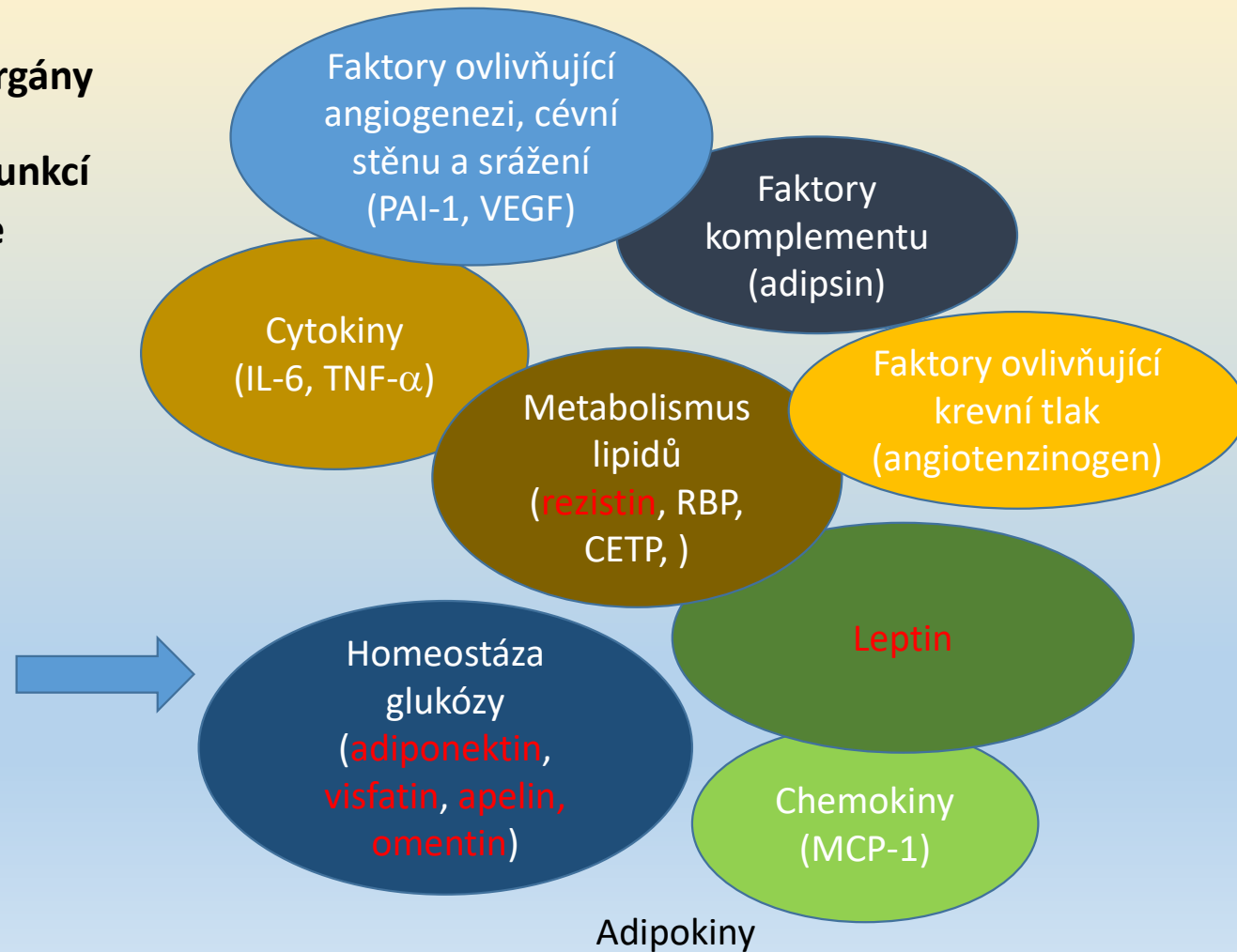


Endokrinní orgány

- specializované buňky – specializované orgány (endokrinní)
- „sekreční“ buňky – orgány s endokrinní funkcí
- buňky bez specializované sekreční funkce
- buňky konvertující prekurzory hormonů



Tuková tkáň



Klinické aspekty

• Produkce hormonů nádory – PARANEOPLASTICKÉ SYNDROMY

Nádory plic

- ADH (hyponatrémie)
- ACTH (Cushingův syndrom)
- PTHrP (hyperkalcémie)

Nádory jater a ledvin

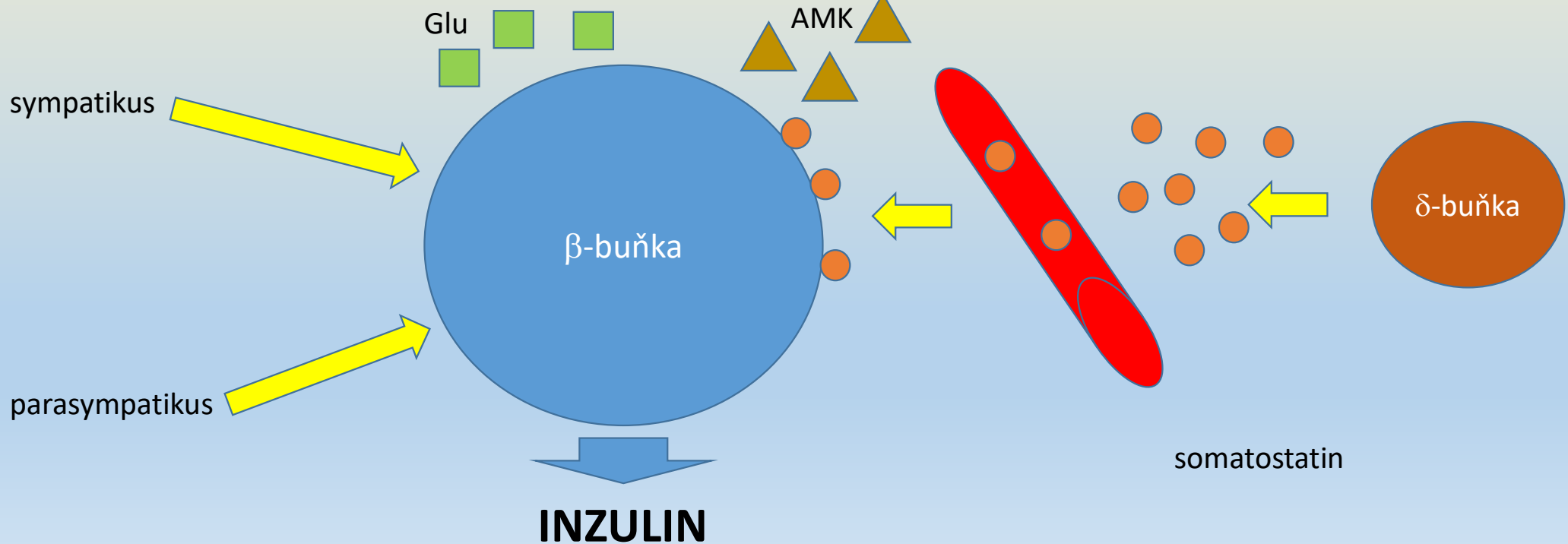
- erythropoietin
(polycytémie)

Nádory GIT

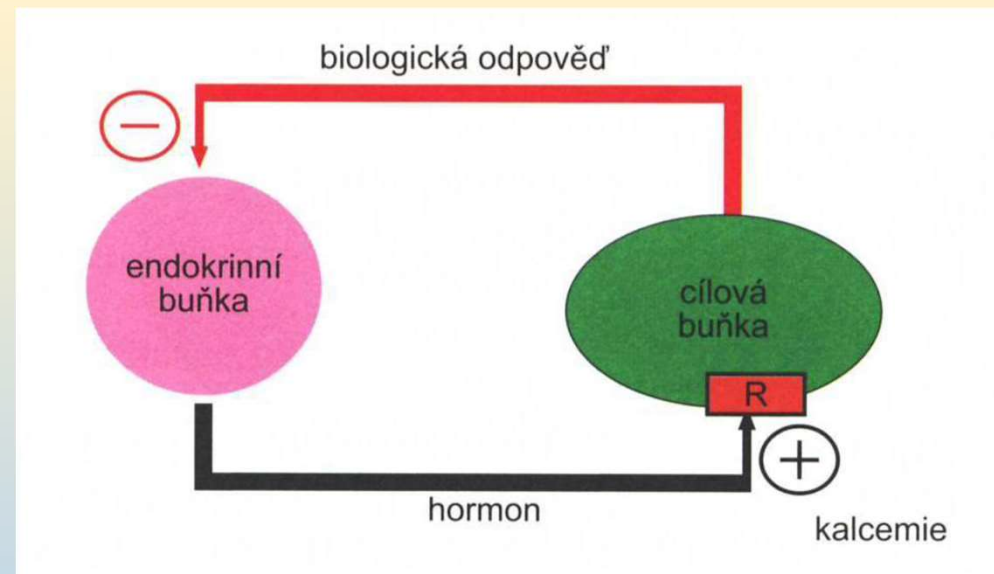
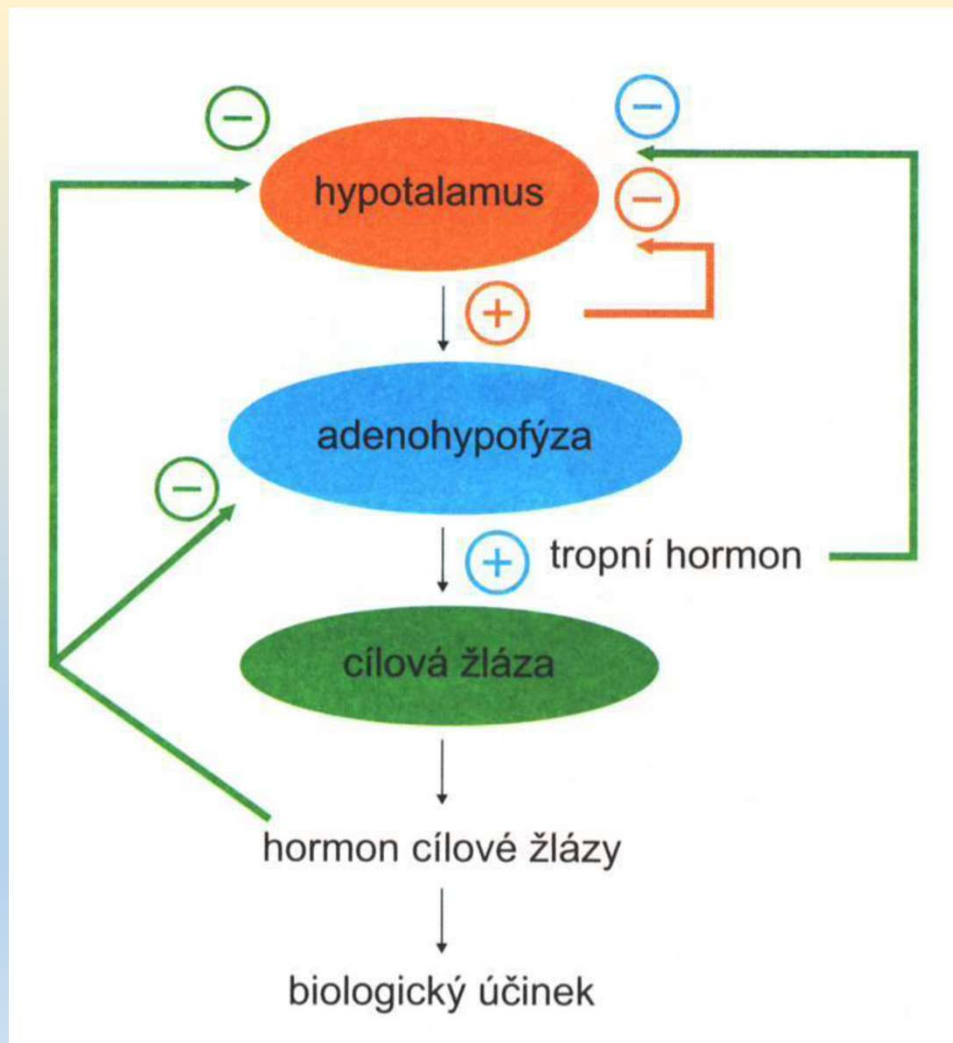
- ACTH (Cushingův syndrom)

Sekrece hormonů a její regulace

- Neurální kontrola
 - hypothalamus
 - sympatikus, parasympatikus
- Hormonální kontrola
- Regulace sekrece ionty nebo substráty (Glu, AMK)



Sekrece hormonů je regulována zpětnovazebně



Zpětná vazba

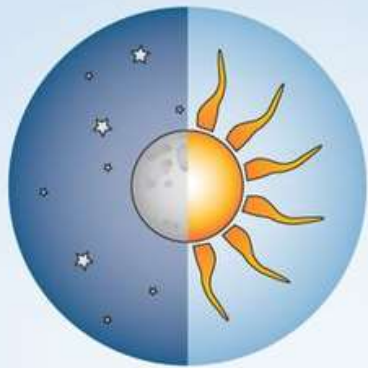
Negativní X Pozitivní

Jednoduchá X Složitá

Převzato. Kittnar et al. Lékařská fyziologie. 1. vydání. Grada 2011.

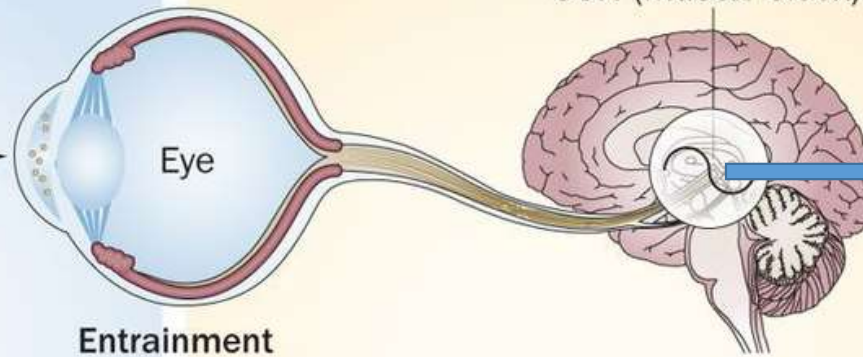
Cyklické změny sekrece hormonů

External 24 h light-dark cycle



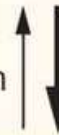
Photic Zeitgeber

Endogenous circadian rhythm



Entrainment

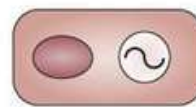
Synchronization



Peripheral oscillators



Cellular oscillators



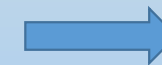
SCN:

- Aference – sítnice
- Eference – jádra hypothalamu

- Melatonin
- ADH
- ACTH – kortisol
- Inzulín
- Ghrelin
- Adiponektin
- Leptin

Nonphotic Zeitgeber

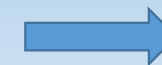
- Sleep-wake cycle
- Physical activity
- Social time
- Meals



Nervové/hormonální
= SNC-dependentní



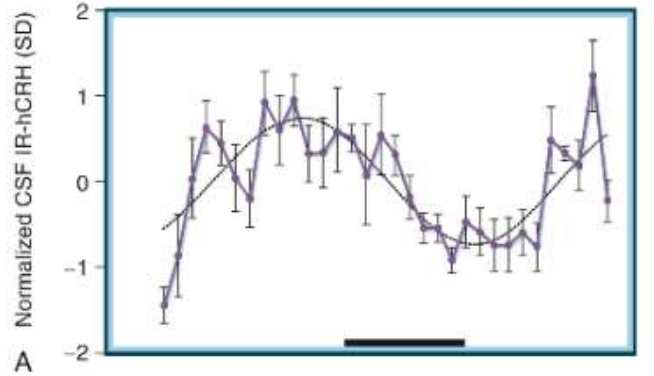
Sytost/hlad



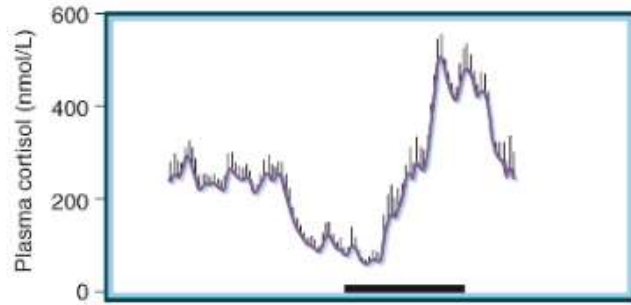
Tělesná teplota

Sekrece hormonů je pulzní

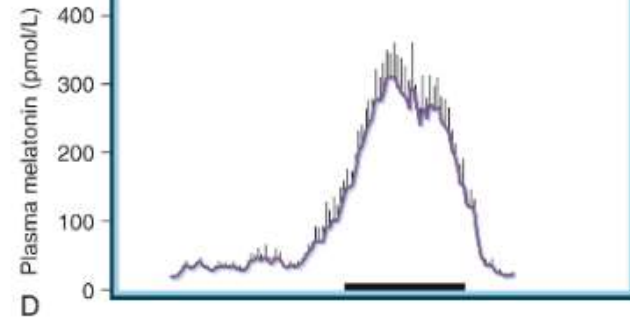
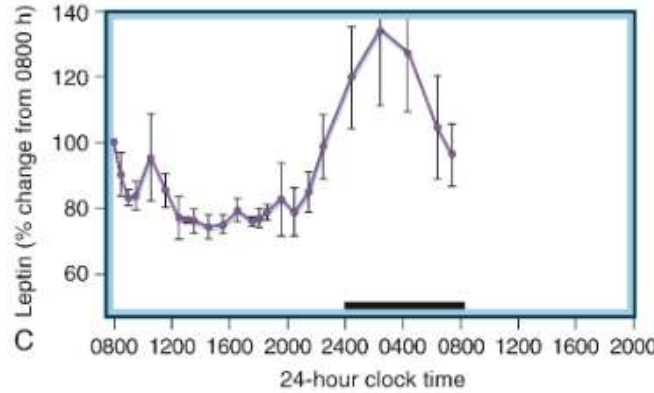
CRH →



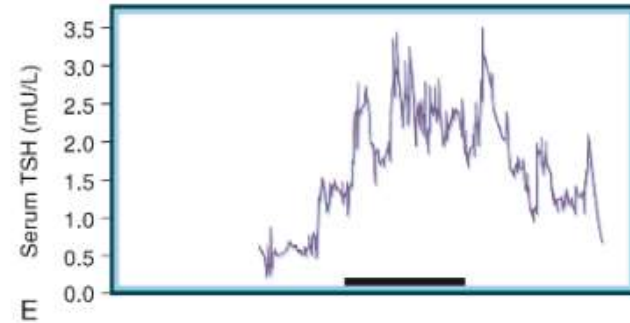
kortizol →



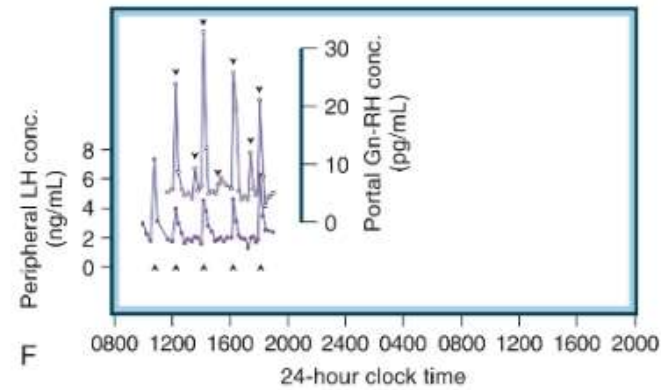
leptin →



← melatonin



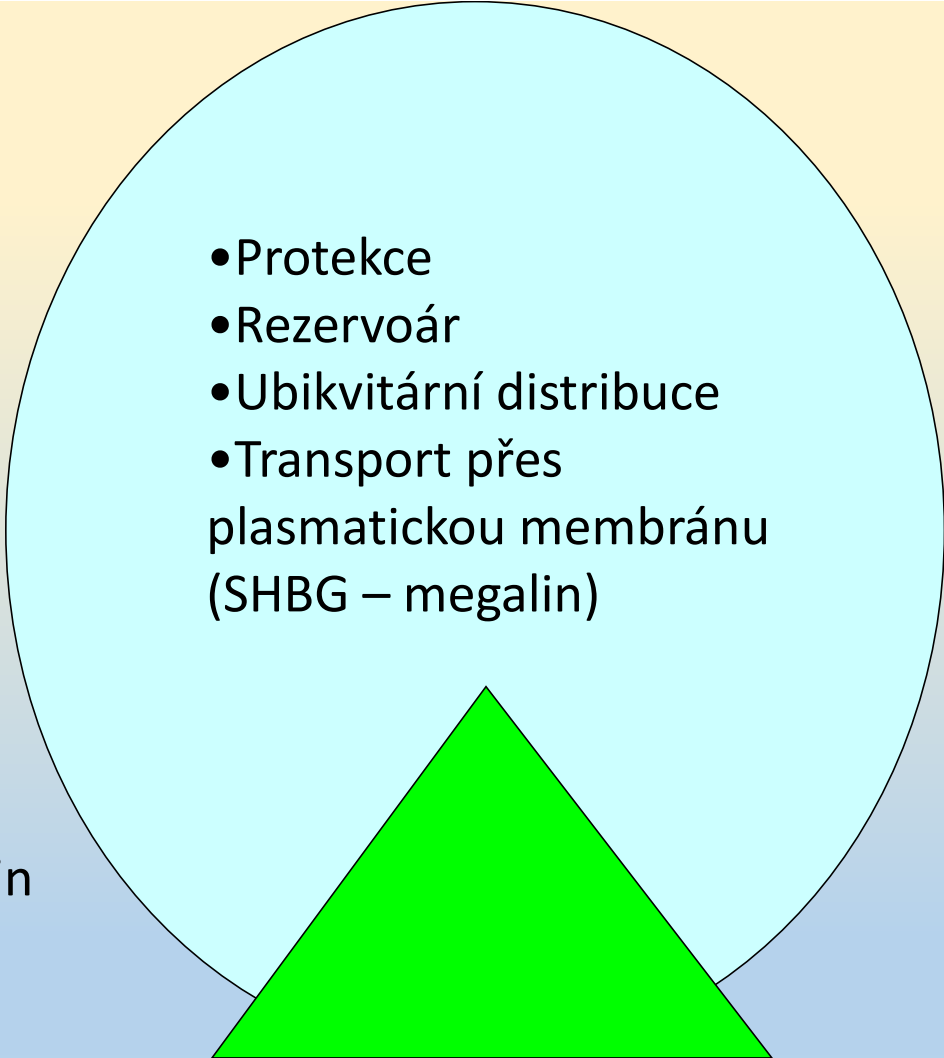
← thyrotropin



← LH

Transport hormonů

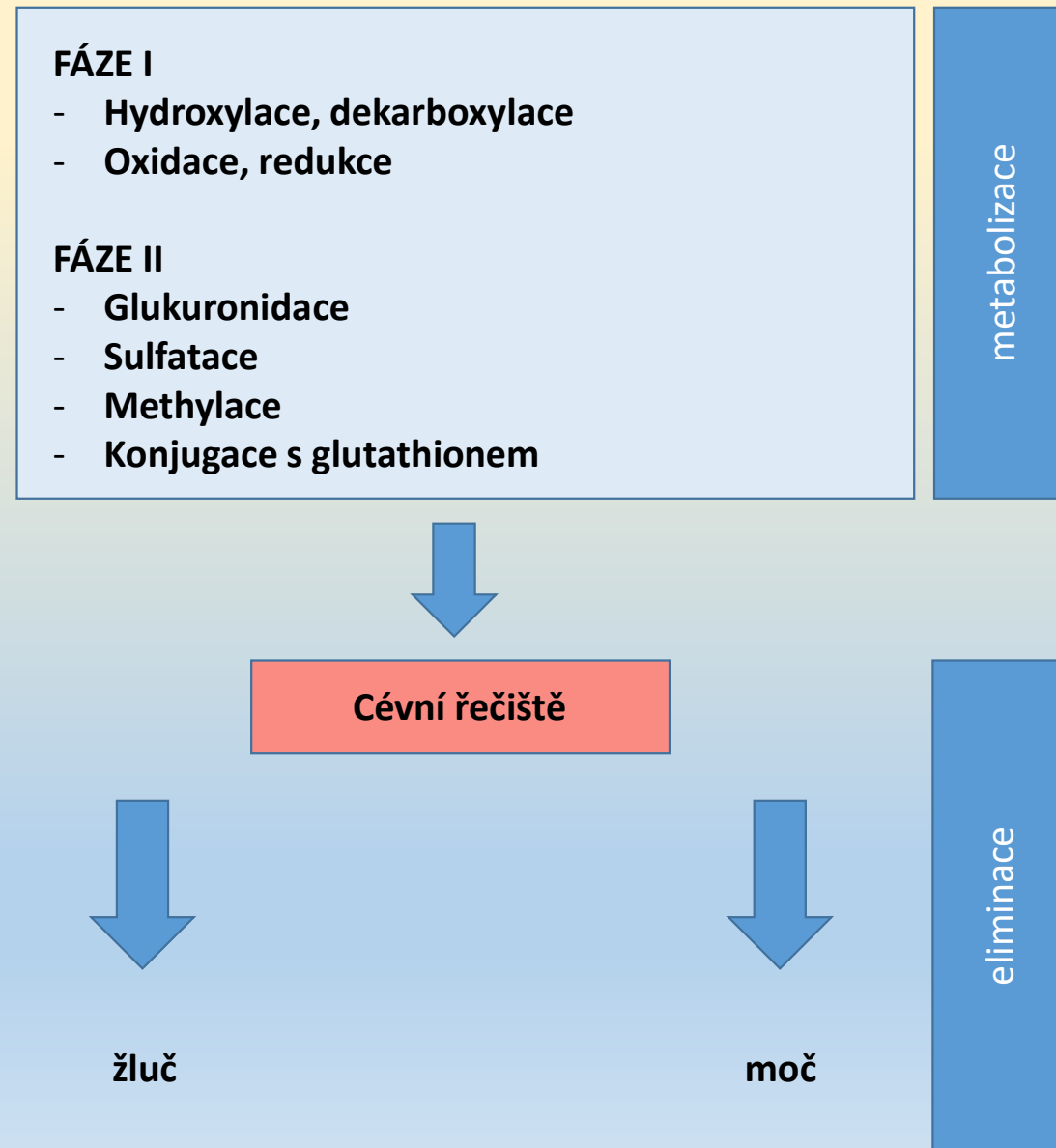
- Chemická povaha hormonu
- Vazba na transportní protein(y) a její význam
 - Albumin
 - Globuliny
 - Specifické proteiny – TBG, SHBG, CBG
- Síla vazby
- „Alternativnost“ vazby – TBG versus transtyreтин

- 
- Protekce
 - Rezervoár
 - Ubikvitární distribuce
 - Transport přes plasmatickou membránu (SHBG – megalin)

MEZI HORMONEM A TRANSPORTNÍM PROTEINEM SE USTAVUJE DYNAMICKÁ ROVNOVÁHA

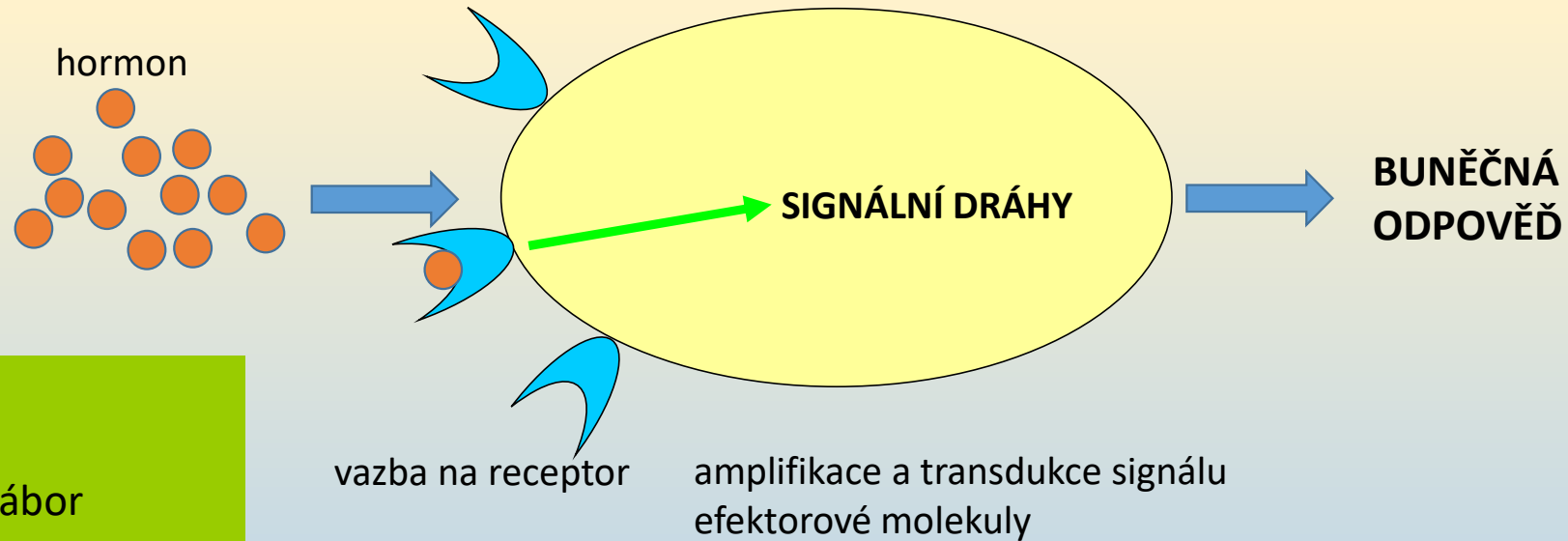
Eliminace hormonů

- Odlišná doba setrvání v cirkulaci
- Metabolizace
 - Cílovými buňkami
 - Enzymovými systémy v krvi
 - Orgány – zejména játra
- Eliminace
 - Játra
 - Ledviny



Hormony a buněčná odpověď

- Cílové buňky
- Specifičnost
- Vysoká afinita
- Selektivita



MECHANISMY

Konformační změny

Fosforylace/defosforylace + nábor proteinů

Vazba GTP (G proteiny)

Vazba cAMP (efektorové proteiny)

Generování molekul s prekurzory v PM

Nekovalentní vazba Ca^{2+}

% obsazených receptorů
konformační změna

synergie

antagonismus

možná ztráta citlivosti

regulace zpětnovazebnými systémy

BUNĚČNÁ ODPOVĚĎ JE ZPROSTŘEDKOVÁNA PŘÍSLUŠNÝMI RECEPTORY

Regulace buněčné odpovědi na úrovni receptorů

- Downregulace
- Upregulace
- Homologní desensitizace
- Heterologní desensitizace

Fosforylace (specifické kinázy)
Defosforylace (specifické fosfatázy)
Modifikace proteiny inhibované signální dráhy

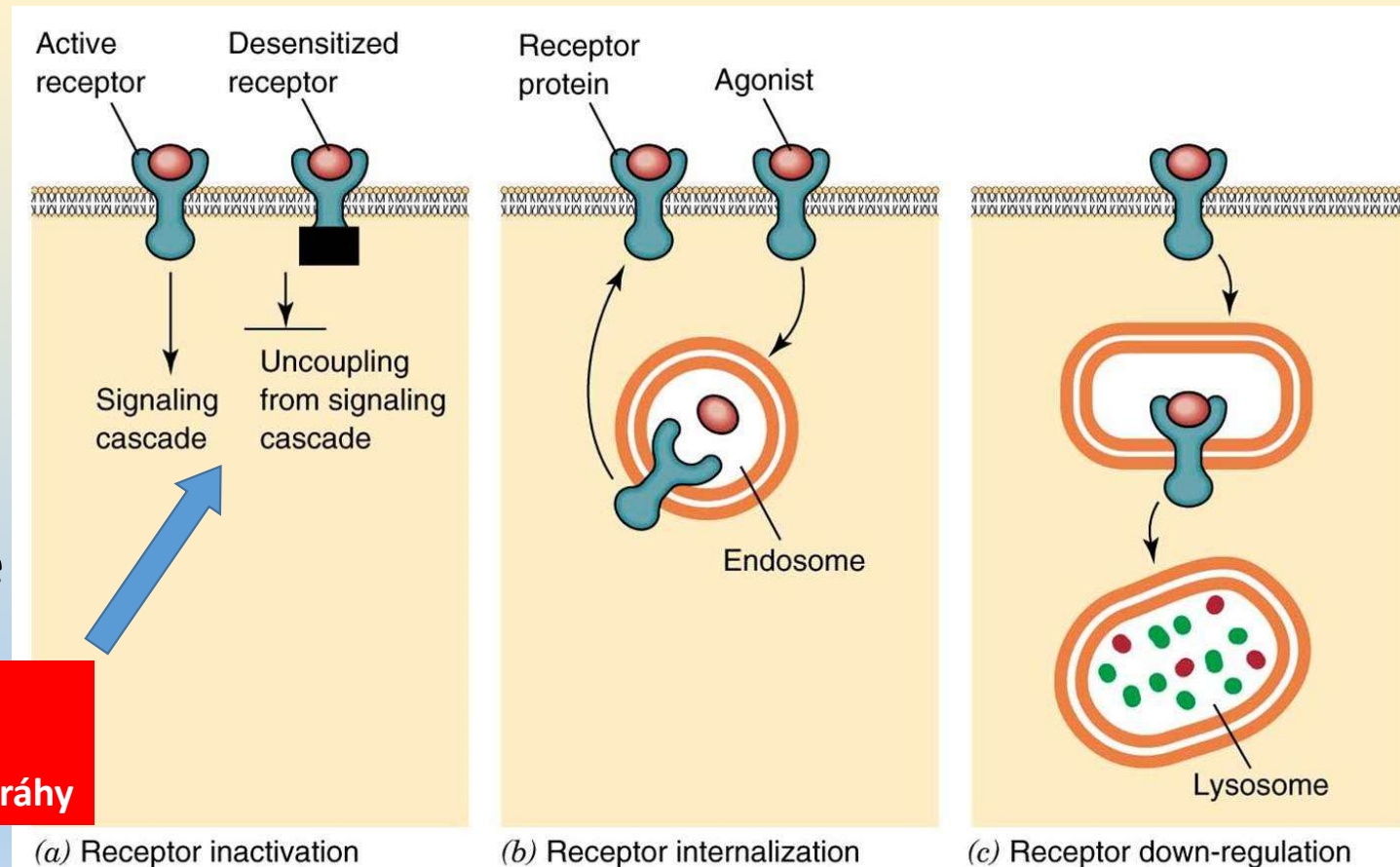


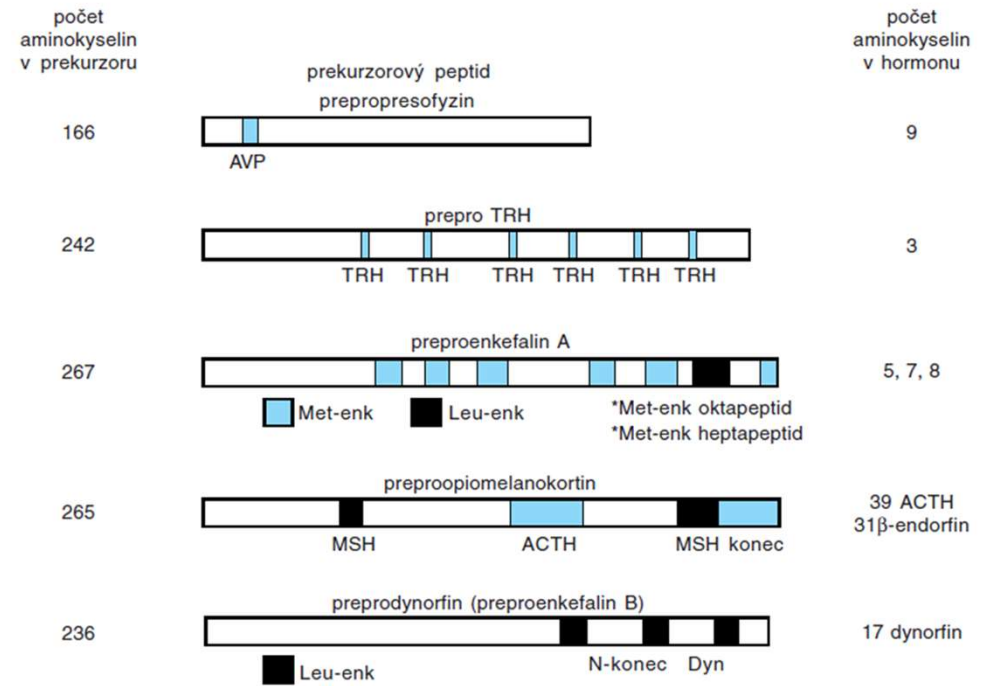
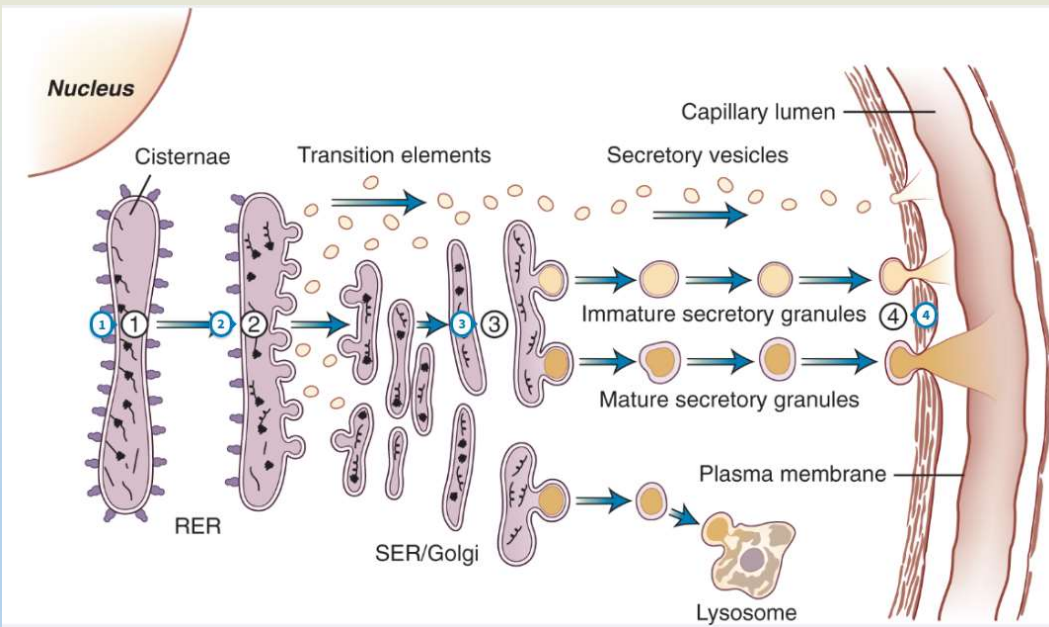
Figure 13.10. Major mechanisms for the termination of receptor-dependent signal transduction.

Textbook of Biochemistry With Clinical Correlations, Sixth Edition, Edited by Thomas M. Devlin. Copyright © 2006 John Wiley & Sons, Inc.

Hormony – proteiny a peptidy

Jak vznikají a jaký je mechanismus působení?

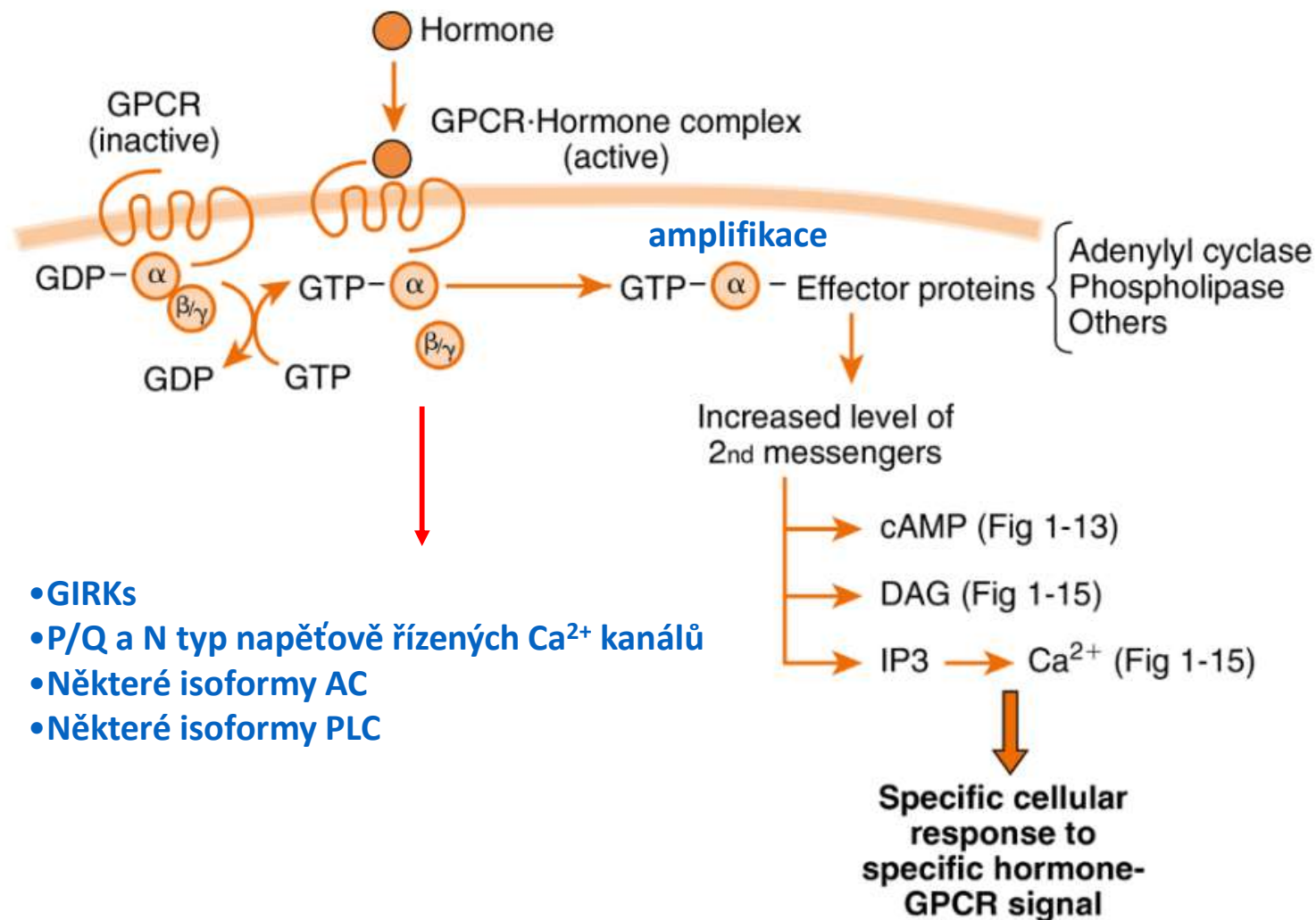
Převzato. Ganong, W. F. Přehled lékařské fyziologie. 20. vydání. Galén 2005.



Obr. 1-22. Příklad velké prekurzory (prehormony) malých peptidových hormonů. Viz také obr. 14-12. TRH – hormon uvolňující thyrotropin; AVP – arginin vazopresin, Met-enk – met-enkefalin, Leu-enk – leu-enkefalin, MSH – hormon stimulující melanocyty, ACTH – adrenokortikotropní hormon, konec – β-endorfin, Dyn – dynorfin, N-konec – neoendorfin

preprohormon – prohormon – hormon (+ fragmenty)

Receptory spřažené s G proteinem (GPCR)



- **GIRKs**
- **P/Q a N typ napětově řízených Ca^{2+} kanálů**
- **Některé isoformy AC**
- **Některé isoformy PLC**

Receptory spřažené s G proteinem (GPCR)

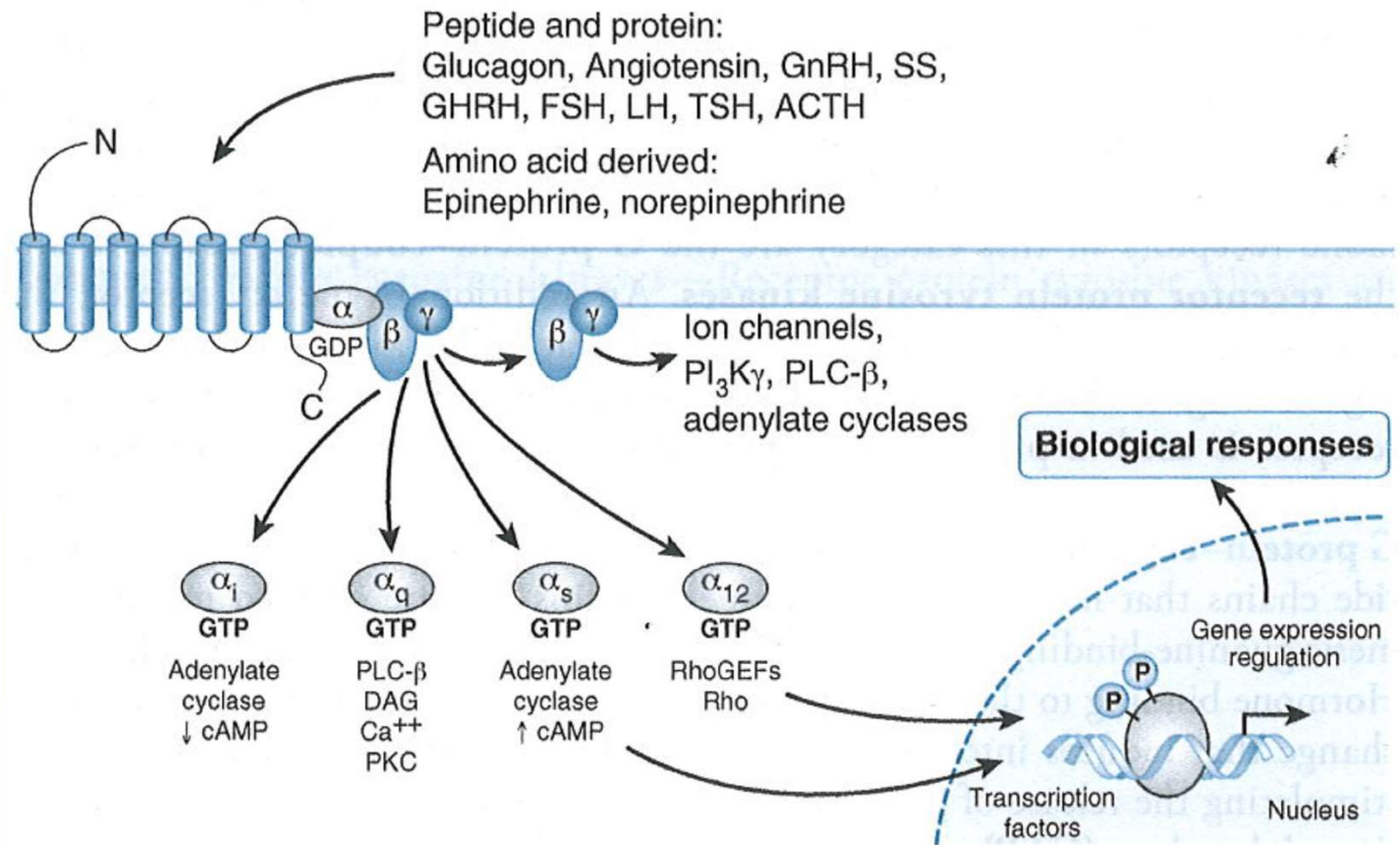
$G_s - G_{olf}$ – aktivace AC

G_i – inhibice AC

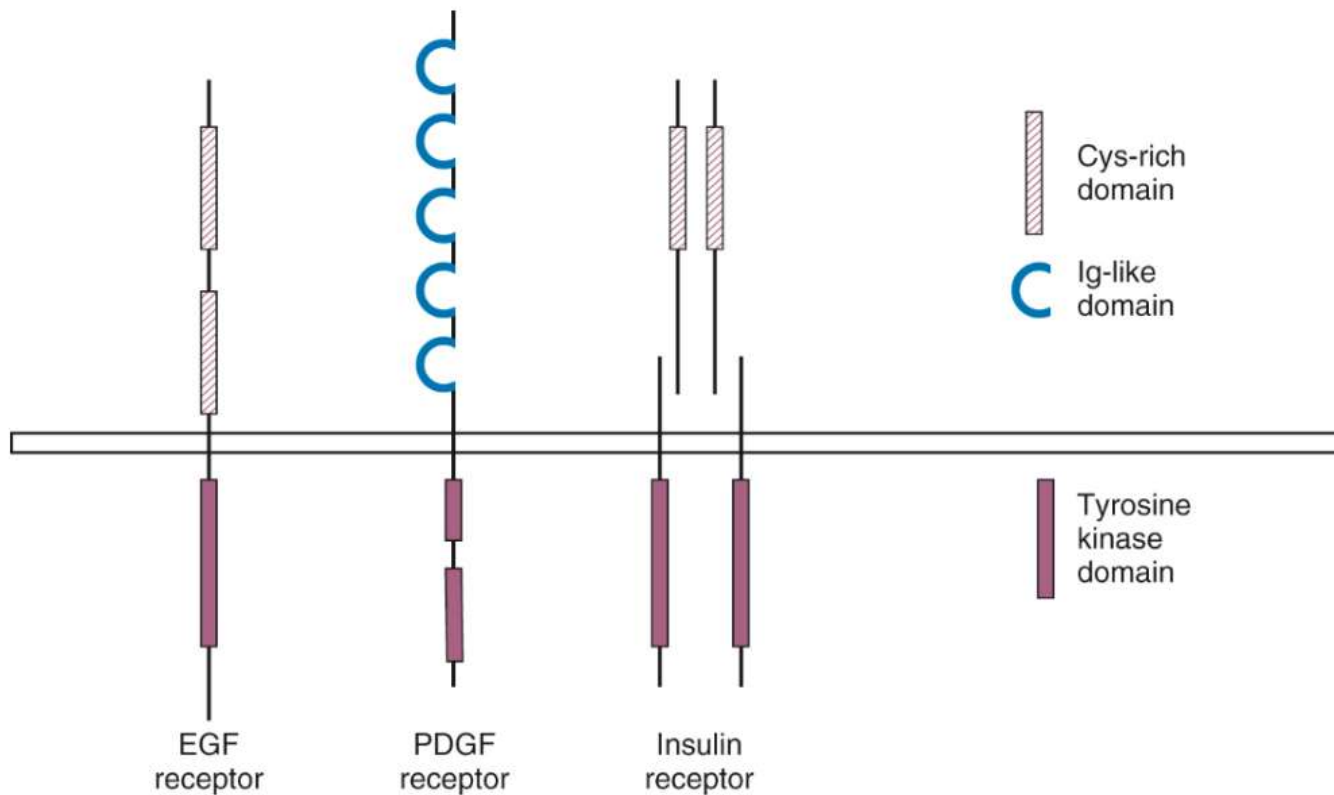
- G_o (2, mozek)
- G_t (2, fotorec. – cAMP-PDE)
- G_z (inhibice K^+ kanálů)

$G_{q/11}$ – aktivace PLC β

$G_{12/13}$ – inhibice a aktivace RhoGEF



Receptorové tyrosinkinázy

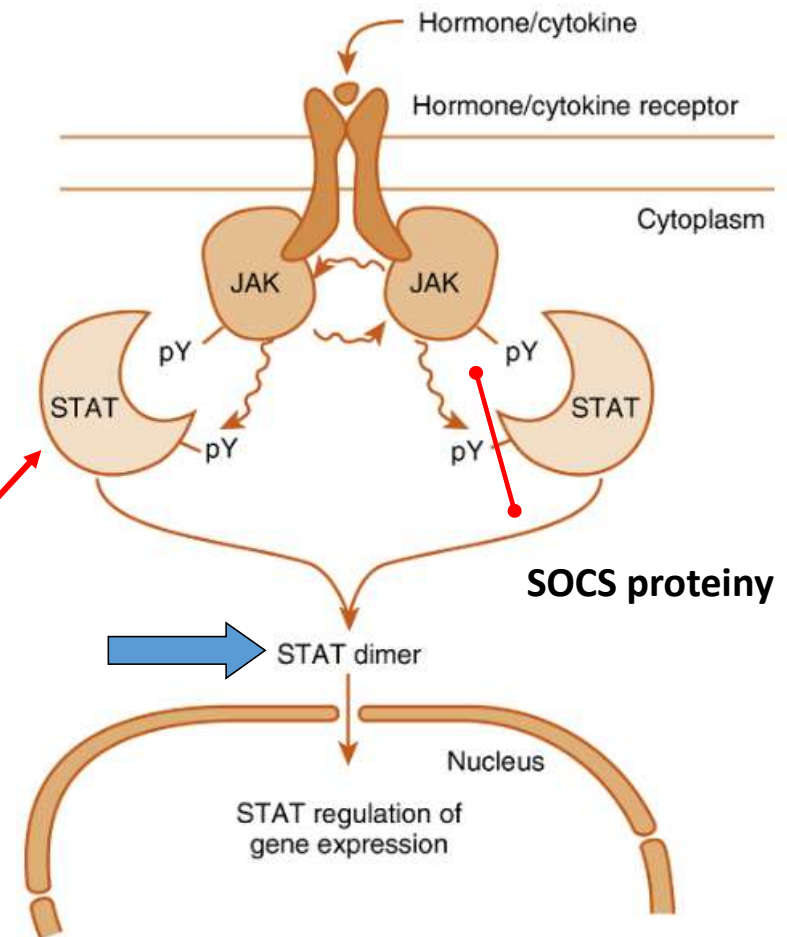


- 58 RTKs/20 podrodin
- Po vazbě ligandu obvykle nastává dimerizace
- ATP jako zdroj P pro fosforylaci intracelulárních domén/asociovaných proteinů
- Inzulin
- IGF-1/2

Receptory asociované s cytosolickými TK

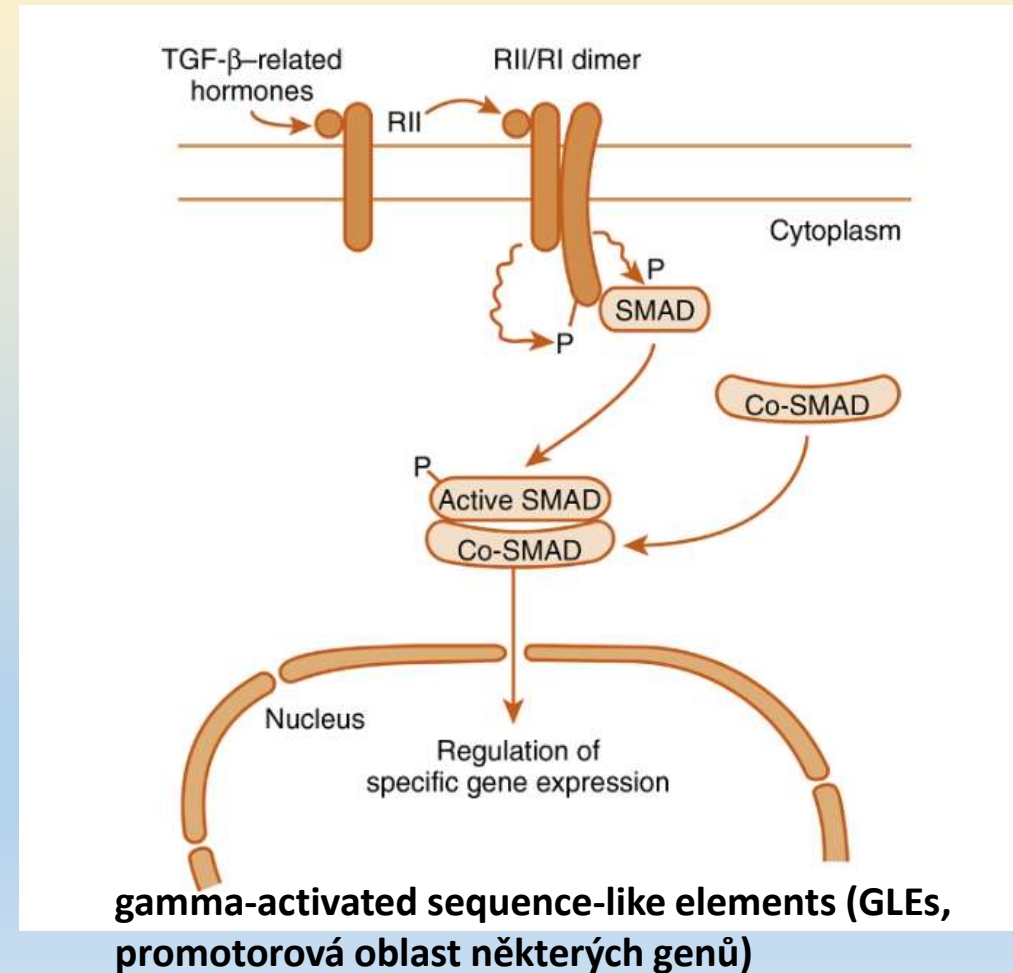
- GH, prolaktin, leptin, erythropoietin
- Dimerní receptory BEZ vlastní TK aktivity
- Asociace s JAK kinázou
- Po vazbě ligandu – dimerizace, transfosforylace, aktivace

signal transducers and activators of transcription



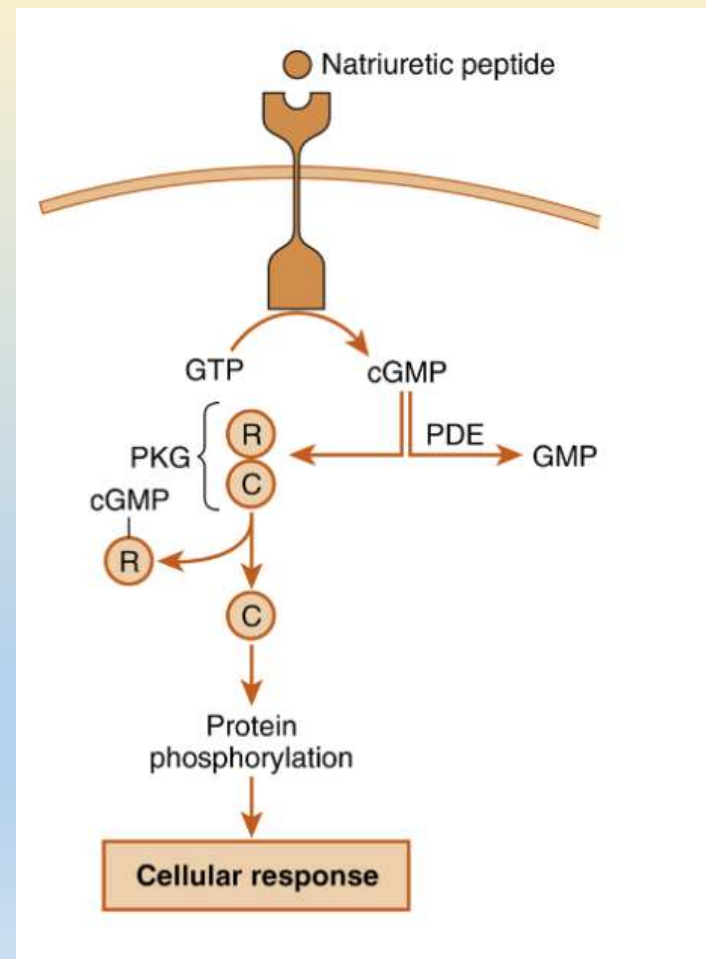
Receptorové serin/threonin kinázy

- Antimulleriánský hormon, inhibitin
- Forma disociovaného heterodimeru
- SMAD = „latent transcription factors“



Receptorové guanylát cyklázy

- Natriuretické peptidy
- ANP, BNP, CNP
- NO



Přenos signálu – systém druhých poslů - přehled

HORMON = PRVNÍ POSEL

INTRACELULÁRNÍ SIGNÁLNÍ MOLEKULA GENEROVANÁ PO VAZBĚ HORMON-RECEPTOR = DRUHÝ POSEL

• cAMP

- TSH, glukagon, ACTH, hormony hypothalamu, ADH a další
- Proteinkináza A
- Modulace signálních drah kompartmentalizací (A-kinase anchoring proteins (AKAPs))

• cGMP

- ANP, BNP, CNP
- NO jako signální molekula
 - Proteinkináza G

• DAG a IP₃

- PIP₂ – fosfolipáza C systém

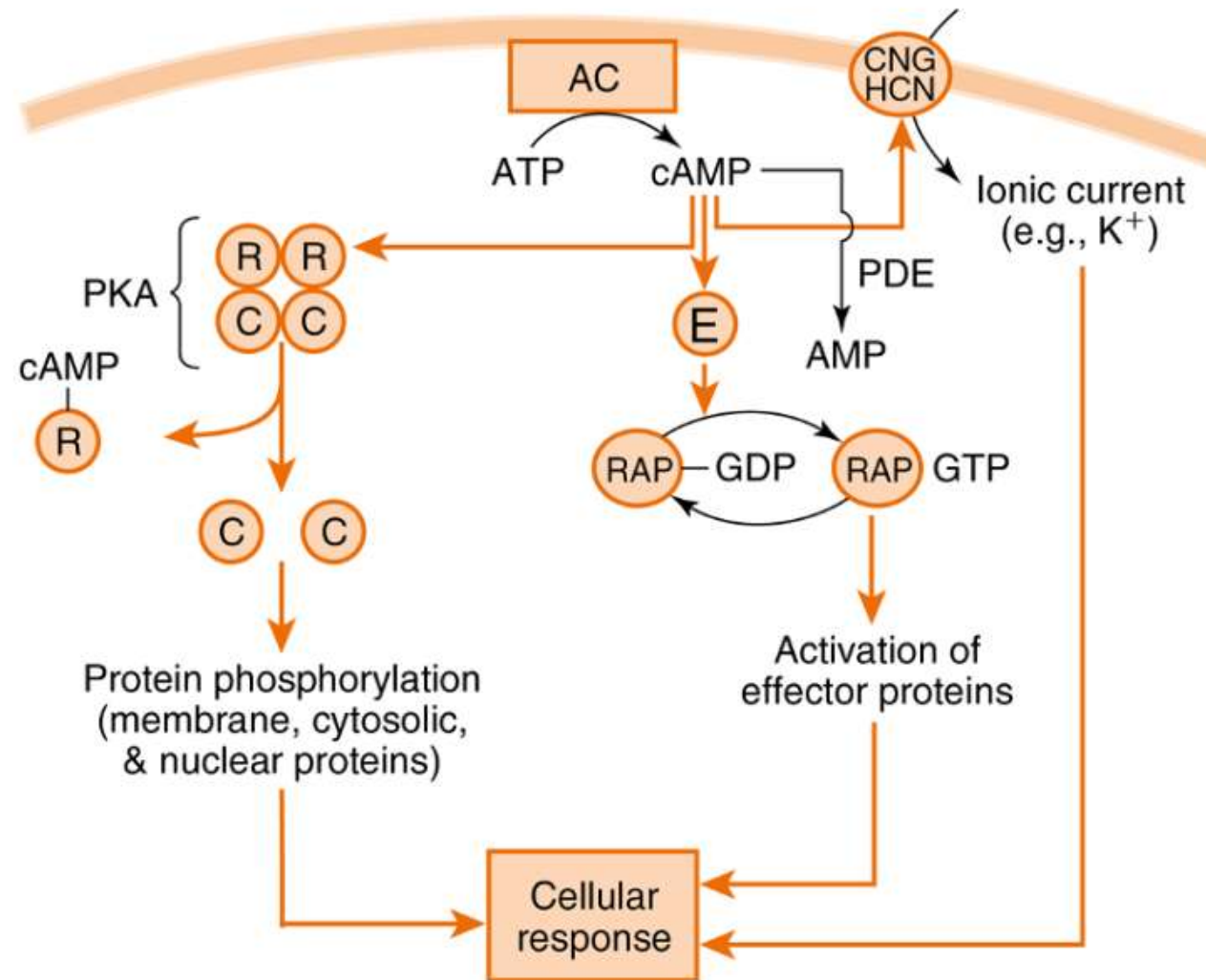
• Ca²⁺

- Ca²⁺/Ca²⁺-kalmodulin

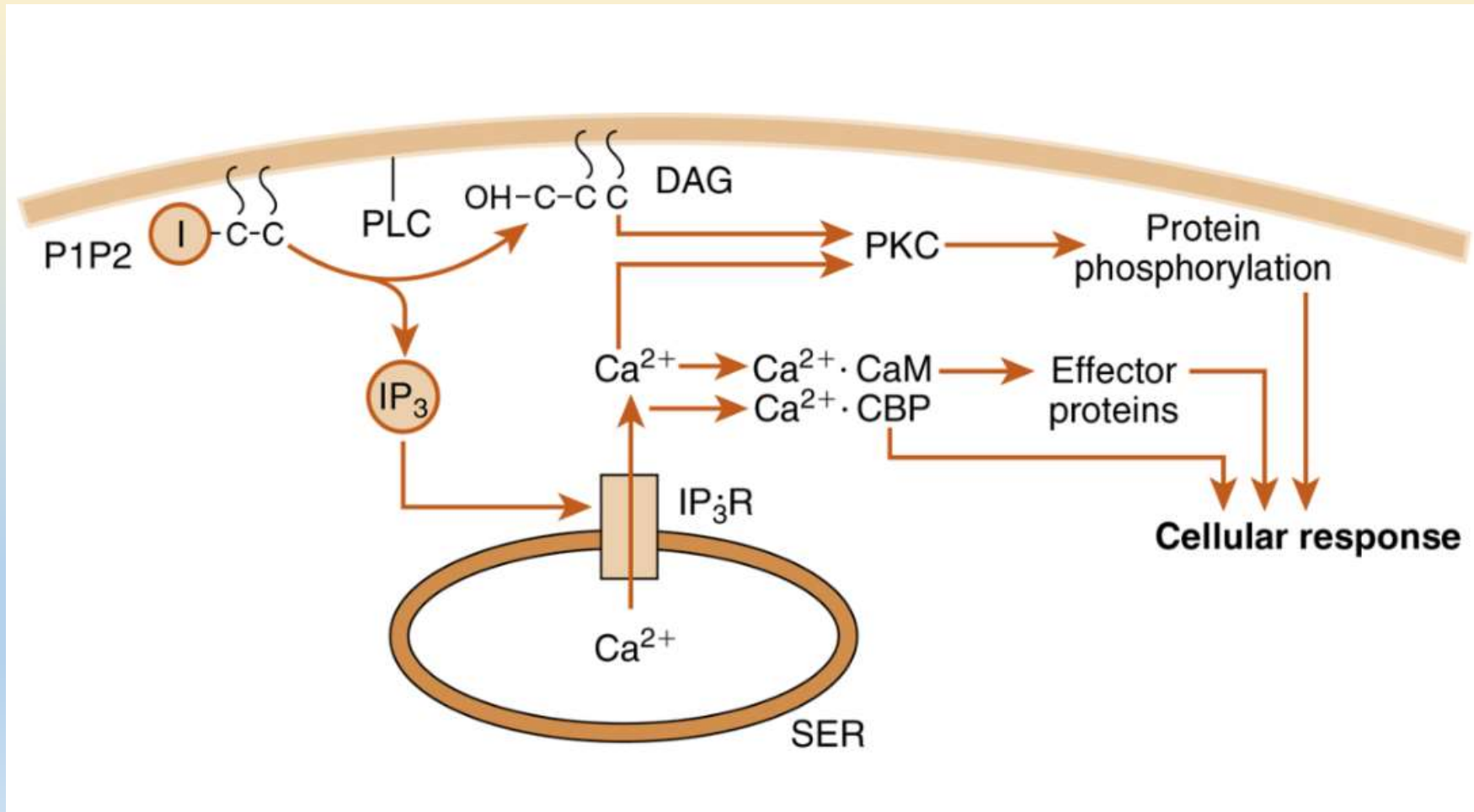
EXTRACELULÁRNÍ SIGNÁL MUSÍ BÝT PŘEVEDEN DO INTRACELULÁRNÍ ODPOVĚDI

System AC - cAMP

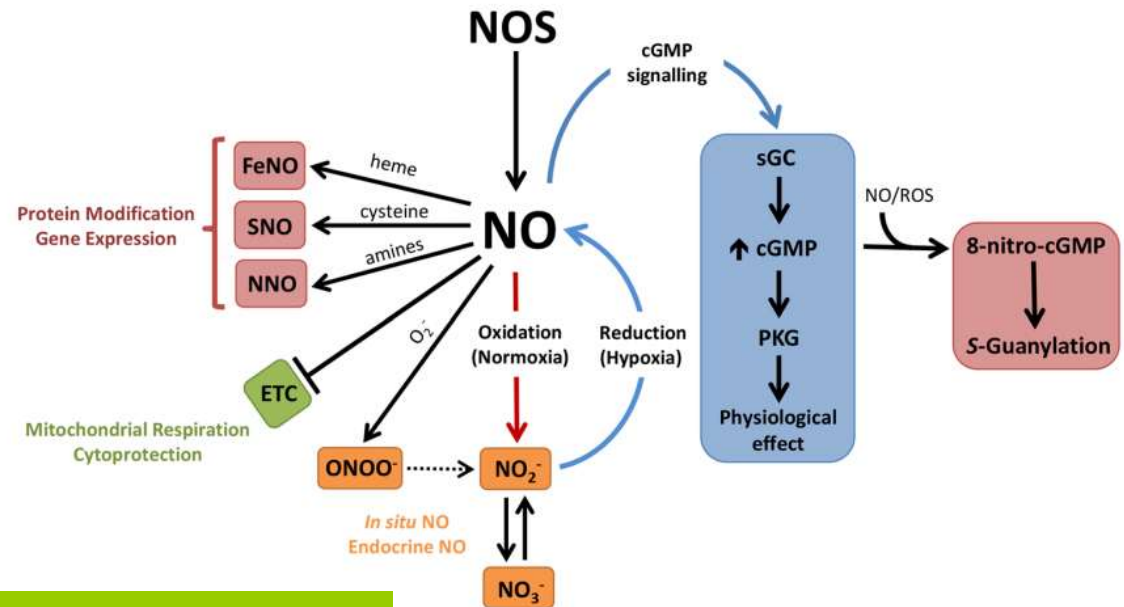
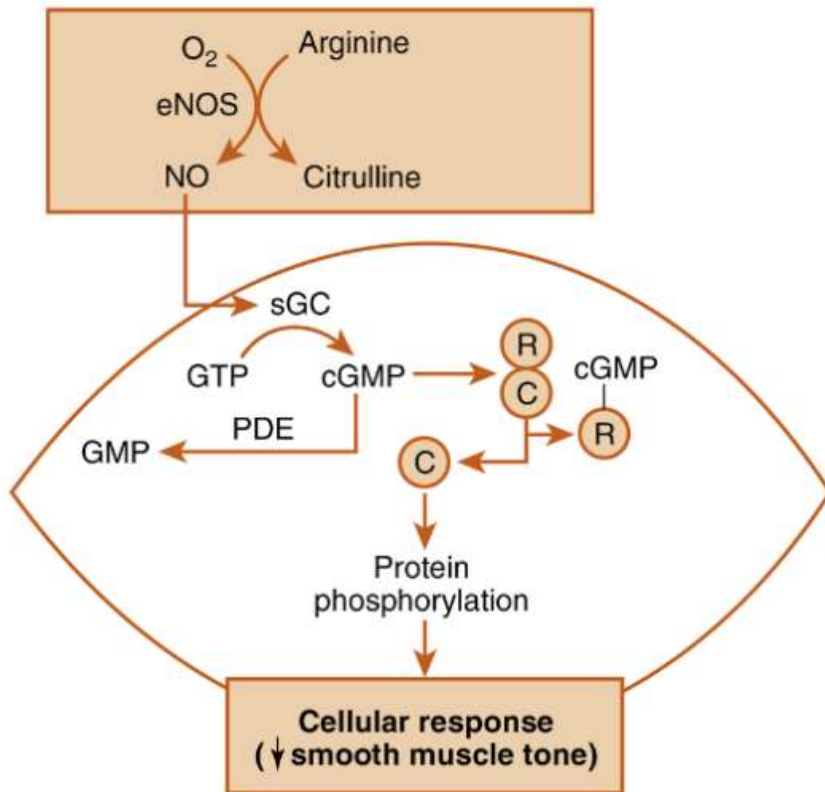
- PKA
- CREB (cAMP-responsive element-binding protein)
- Epac (E) jako další efektorová molekula (exchange protein activated by cAMP)
- cyclic nucleotide gated (CNG) channels
- hyperpolarization-activated cyclic nucleotide modulated (HCN) channels
- fosfodiesterázy



System PLC - DAG a IP₃



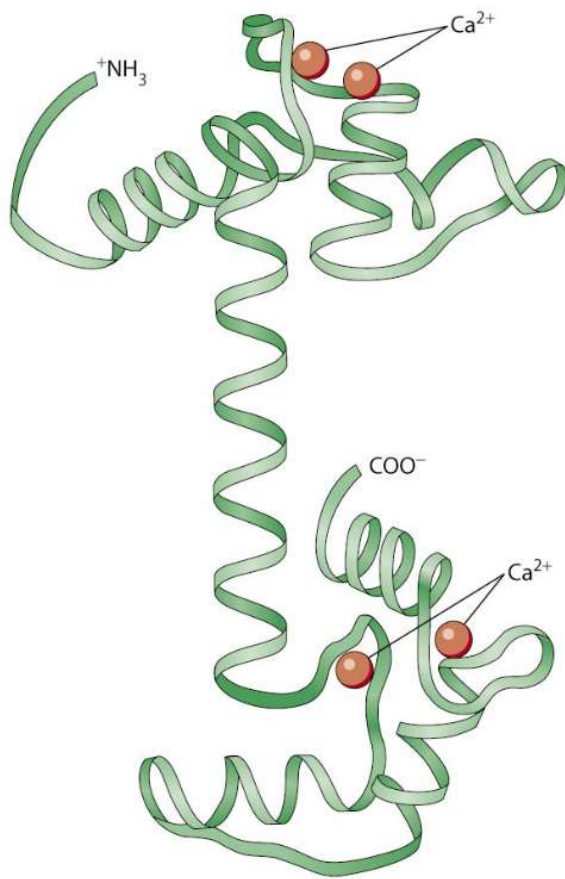
System cGMP - NO jako signální molekula



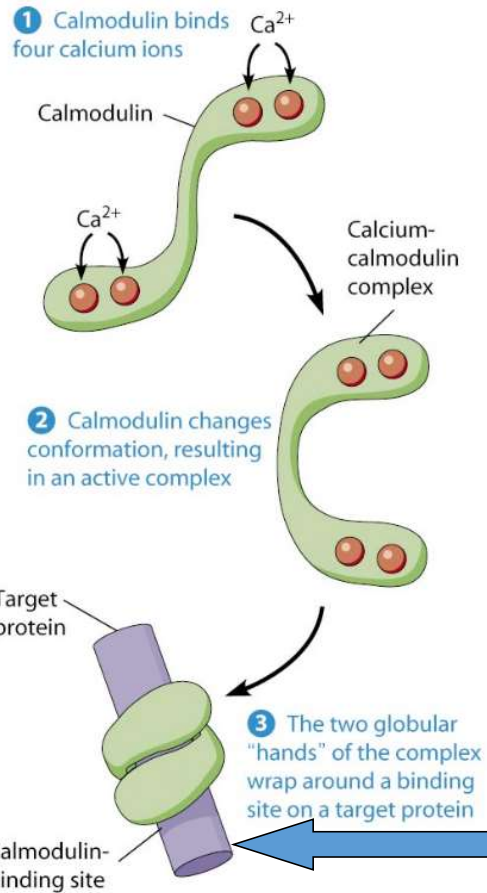
- eNOS
- nNOS
- iNOS

Donald JA, Forgan LG, Cameron MS: **The evolution of nitric oxide signalling in vertebrate blood vessels.** *J Comp Physiol B-Biochem Syst Environ Physiol* 2015, 185(2):153-171.

System Ca^{2+} - kalmodulin



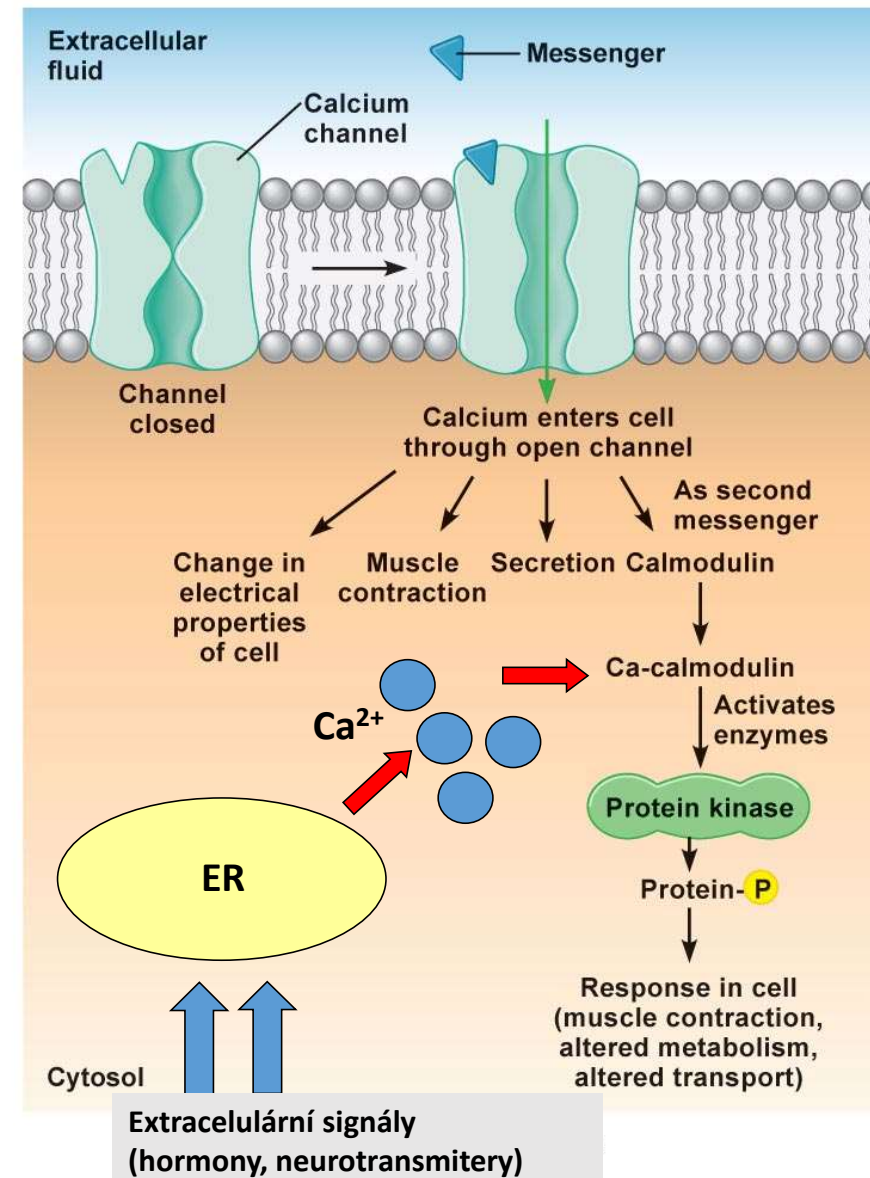
(a) Structure of Ca^{2+} -calmodulin complex



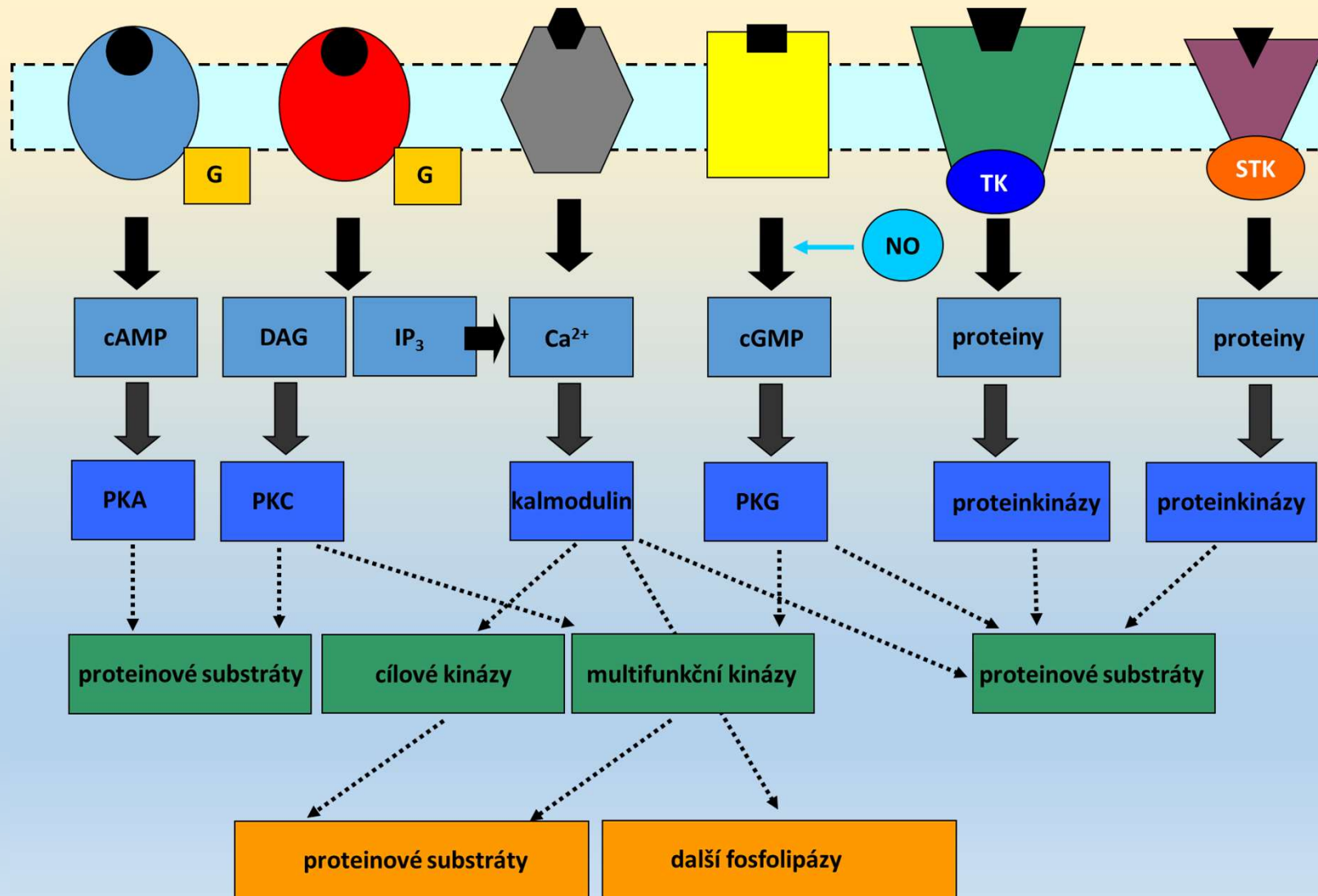
(b) Function of Ca^{2+} -calmodulin complex

Copyright © 2009 Pearson Education, Inc.

kalmodulin-dependenční kinázy



Shrnutí – membránové receptory a asociované systémy



Klinické aspekty

- Syndromy rezistencí k hormonům (př. IR, IGF-1, TR β)
- Syndromy způsobené mutacemi CPCRů a G proteinů
 - ADH – nefrogenní diabetes insipidus
 - ACTH – familiární ACTH rezistence
 - GnRH – hypogonadotropní hypogonadismus
 - FSH – hypergonadotropní ovariální dysgeneze
 - LH – mužský pseudohermafroditismus
 - Melanokortin 4 – obezita
 - PTH/PTHrP – Blomstrandova letální chondrodysplazie

Hormony působící přes jaderné receptory

Hormony působící přes jaderné receptory

HORMONY

- Hormony štítné žlázy – TR α/β ← heterodimery
 - Estrogeny – ER α/β
 - Testosteron - AR
 - Progesteron - PR
 - Aldosteron - MR
 - Kortizol - GR
- homodimery

PRODUKTY METABOLISMU A XENOBIOTIKA

- Mastné kyseliny – PPAR α,β,γ
- Oxysteroly – jaterní X receptor LXR α,β
- Žlučové kyseliny - BAR
- Hem – RevErb α,β
- Fosfolipidy – homolog jaterního receptoru LRH-1, SF-1
- Xenobiotika – pregnanový X receptor PXR
 - konstitutivní androstanový receptor CAR

VITAMÍNY

- 1,25-[OH]₂D₃ - VDR
- All-*trans*-retinová kyselina – RA receptory α,β,γ
- 9-*cis*-retinová kyselina – retinoid X receptor RXR α,β,γ

- Orphan „sirotčí“ receptory
- Variantní receptory

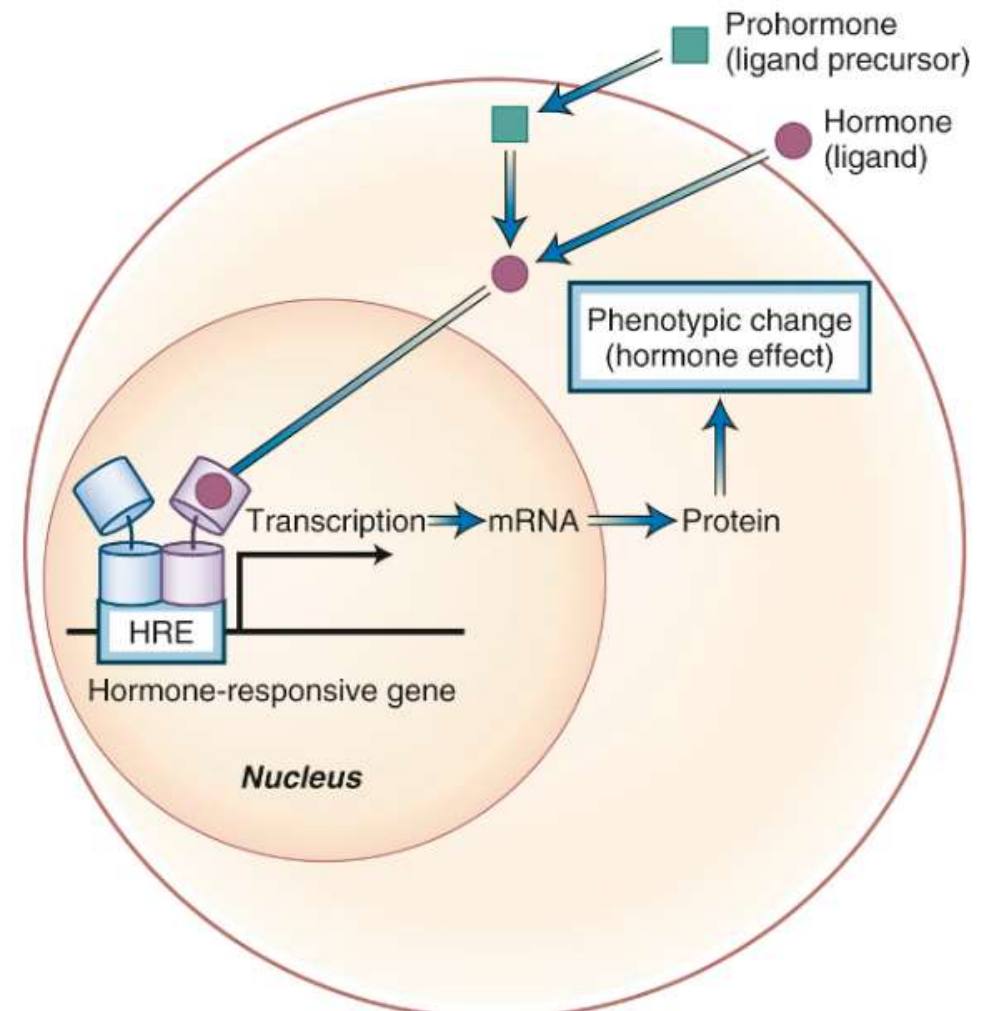
Vysvětlení některých účinků a patologií

Obečný mechanismus účinku hormonů působících přes jaderné receptory

- Vysoká afinita vazby ligandu = dáno strukturou R
- Rozeznání specifické promotorové oblasti
- Dimerizace receptorů (homodimery, heterodimery)
- Remodelace chromatinu pro genovou expresi (HDAC)
- Genová exprese ve výsledku snižená, nebo zvýšená

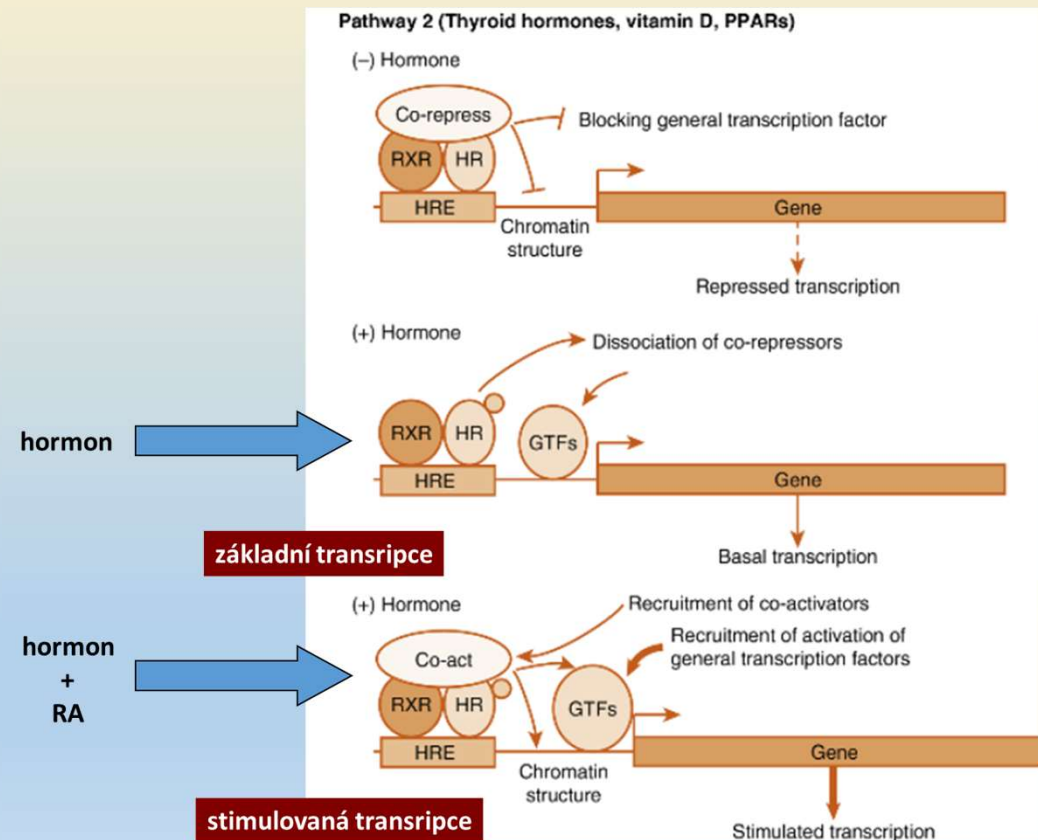
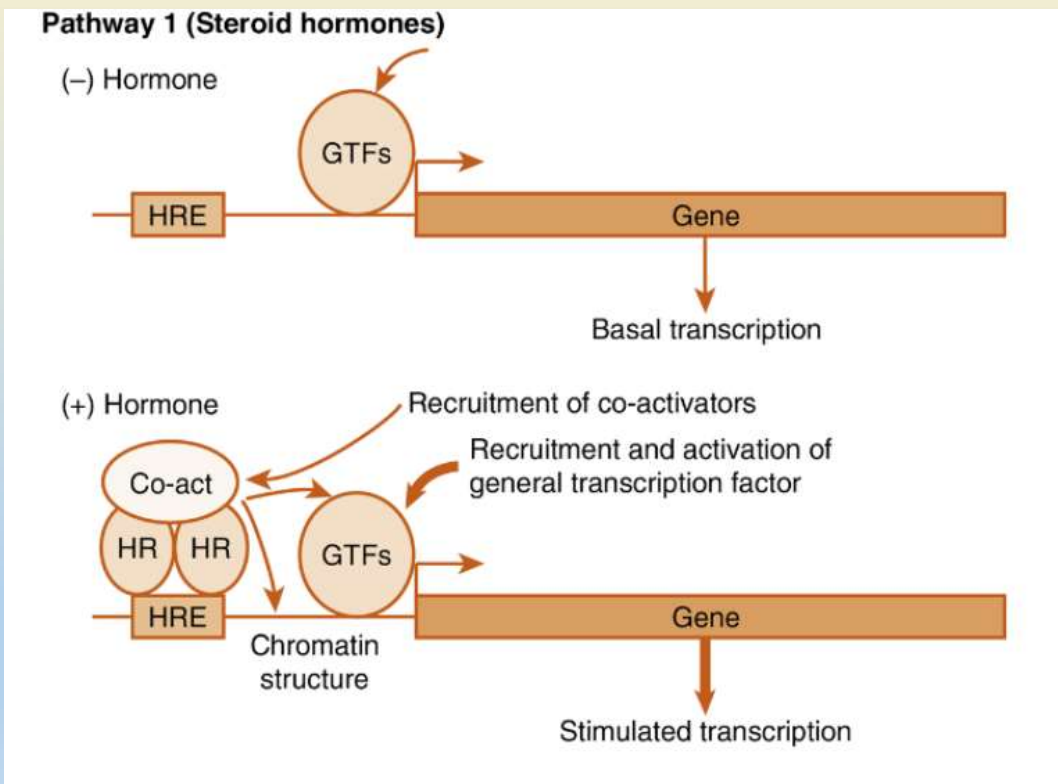
PROČ POUZE JADERNÉ RECEPTORY?

- Syntéza v cytoplasmě
- Zde setrvávají do vazby ligandu, nebo transport do J



- Regulační mechanismus – modifikace a počet receptorů
- Významný parametr – selektivita cílových buněk
- Tkáňově specifické faktory, koaktivátory a korepresory

Příklad – steroidní hormony a hormony štítné žlázy



Ukončení účinku hormonu

Receptorem zprostředkovaná endocytóza a následná degradace v lysozómu

Fosforylace/defosforylace receptoru nebo proteinů signální dráhy

Ubikvitinace a proteosomální degradace

Vazba regulačního faktoru na příslušný protein (enzym)

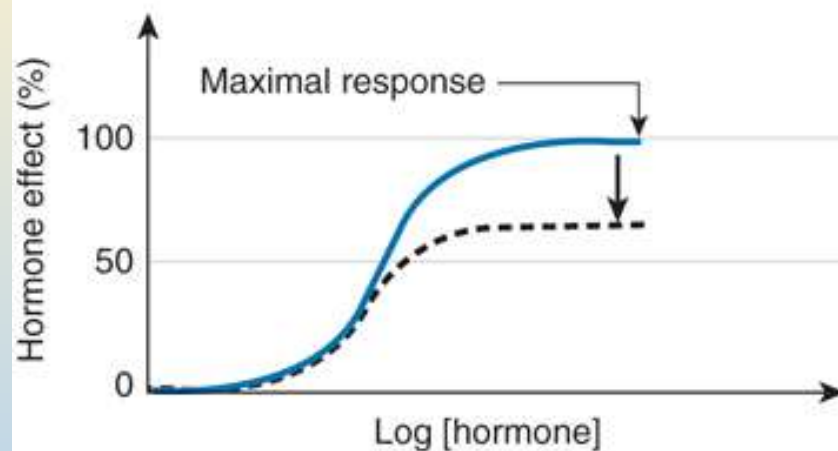
Vnitřní enzymová aktivita a její regulace

Klinické aspekty

- Nadprodukce hormonů
- Nedostatečná produkce hormonů
- Změny citlivosti cílových tkání a/nebo změna buněčné odpovědi
- Zvýšená inaktivace nebo degradace hormonů
- Nedostatečná produkce nebo zvýšená degradace transportních proteinů
- Změny produkce transportních hormonů při fyziologických stavech (těhotenství)

Klinické aspekty

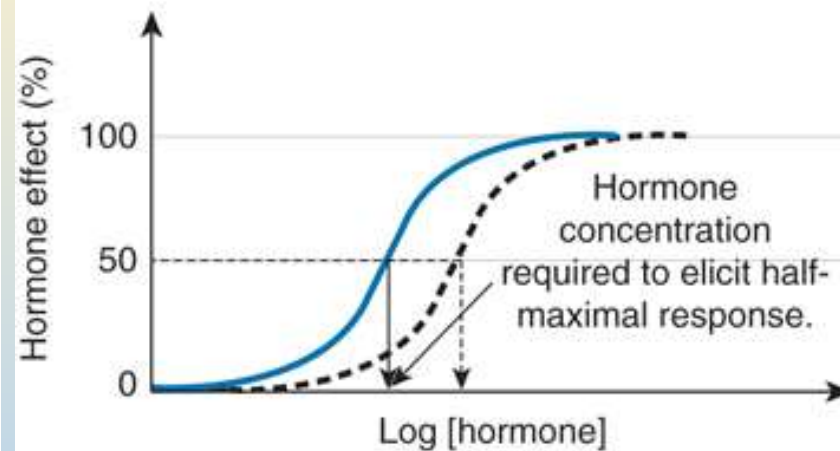
A. Decreased hormone responsiveness



Source: Molina PE: *Endocrine Physiology*, 4th Edition: www.accessmedicine.com
Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. All rights reserved.

- Snížení počtu receptorů
- Snížení koncentrace enzymu aktivujícího hormon
- Zvýšení koncentrace nekompetitivního inhibitoru
- Snížení počtu cílových buněk

B. Decreased hormone sensitivity



Source: Molina PE: *Endocrine Physiology*, 4th Edition: www.accessmedicine.com
Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. All rights reserved.

- Snížení afinity hormonu k receptoru
- Snížení počtu receptorů
- Zvýšená rychlost degradace hormonu
- Zvýšená koncentrace antagonistů/competitivních inhibitorů

Měření hladiny hormonů v krvi

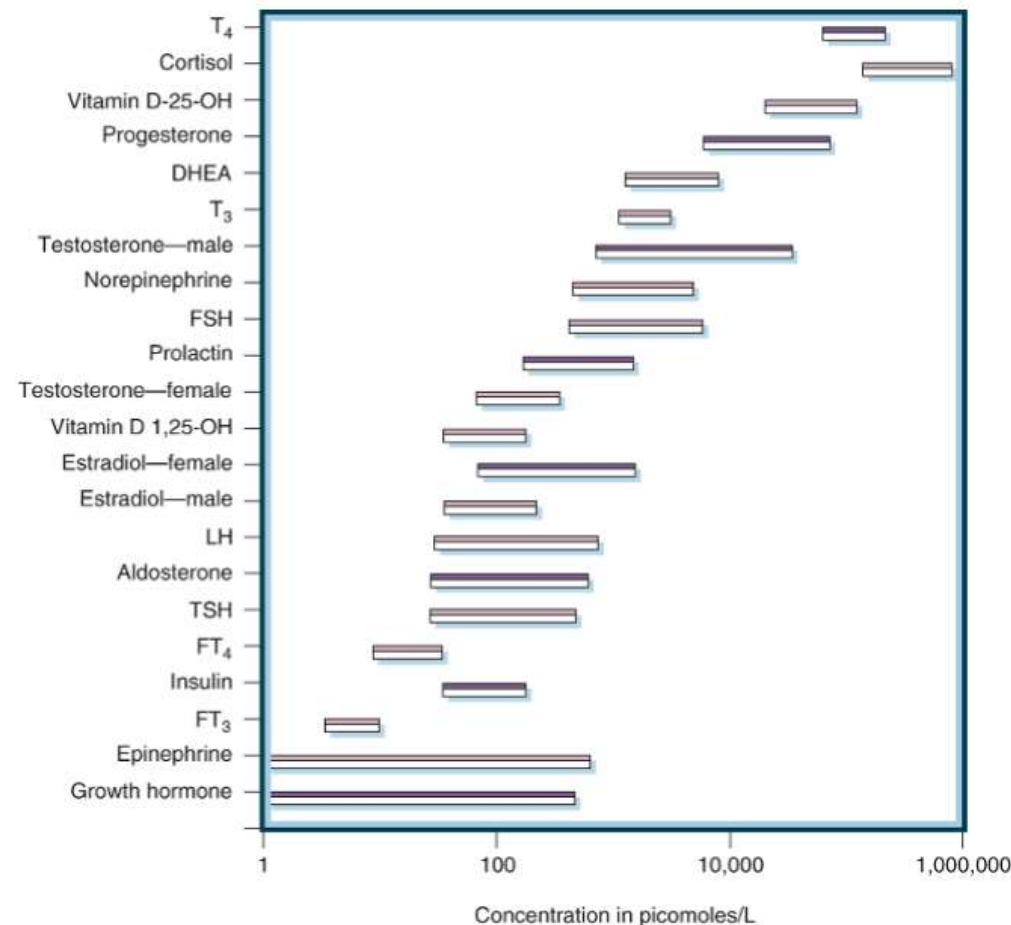
-ZNAČNÉ POŽADAVKY NA CITLIVOST METOD
-ŠIROKÉ KONCENTRAČNÍ ROZPĚTÍ

Metody založené na interakci antigen-protilátka
-Požadavky na protilátku (poly- X monoklonální)
-Monoklonální protilátky = specifické epitopy
-Radioaktivně značené protilátky
-Nutnost kvantifikace!
-RIA, ELISA

Metody založené na HPLC-MS

Metody založené na nukleových kyselinách
-Hybridizační techniky
-Restrikční fragmentace, elektroforéza, sekvenování

Aplikace separačních technik – volné X vázané hormony
- dialýza



EXTRÉMNĚ NÍZKÁ HLADINA HORMONŮ V KRVÍ