

Principy regulací metabolismu. Hormony. Biochemické komunikace.

PRINCIPY REGULACE METABOLISMU:

TEORETICKÉ ZÁKLADY

ZPĚTNÁ VAZBA

ENZYMY

ENZYMY -BIOKATALYZÁTORY

HORMONY (Obecné mechanismy účinku hormonů a neurotransmiterů)

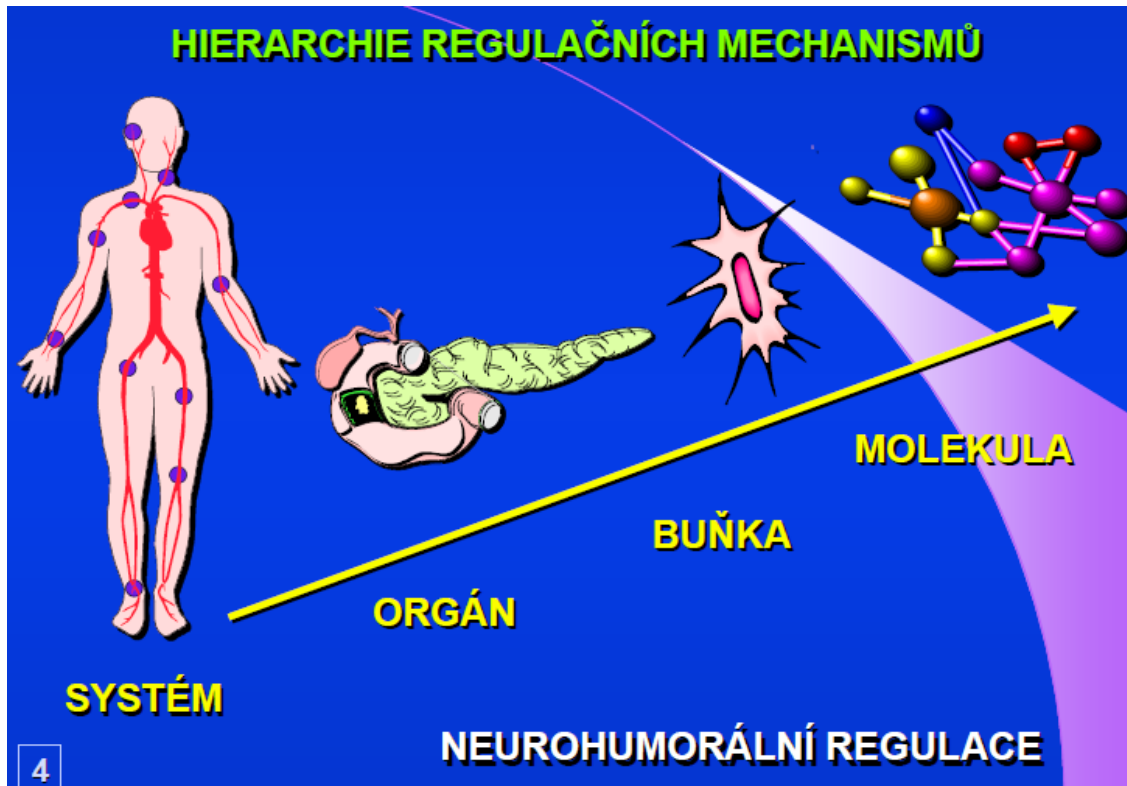
RECEPTORY (Typy membránových receptorů a intracelulární receptory)

METABOLICKÉ REGULACE

Aktivita metabolických drah musí být neustále monitorována a upravována, aby syntéza a degradace metabolitů uspokojila převládající fyziologické požadavky. Přepínání mezi různými **katabolickými a anabolickými reakcemi** je nezbytné jednak podle aktuálních metabolických potřeb každé **buňky**, jednak podle potřeb **celého organismu**.

Pro zachování existence živých objektů je proto nutné propojení jednotlivých částí organismu a zajištění vzájemné regulace.

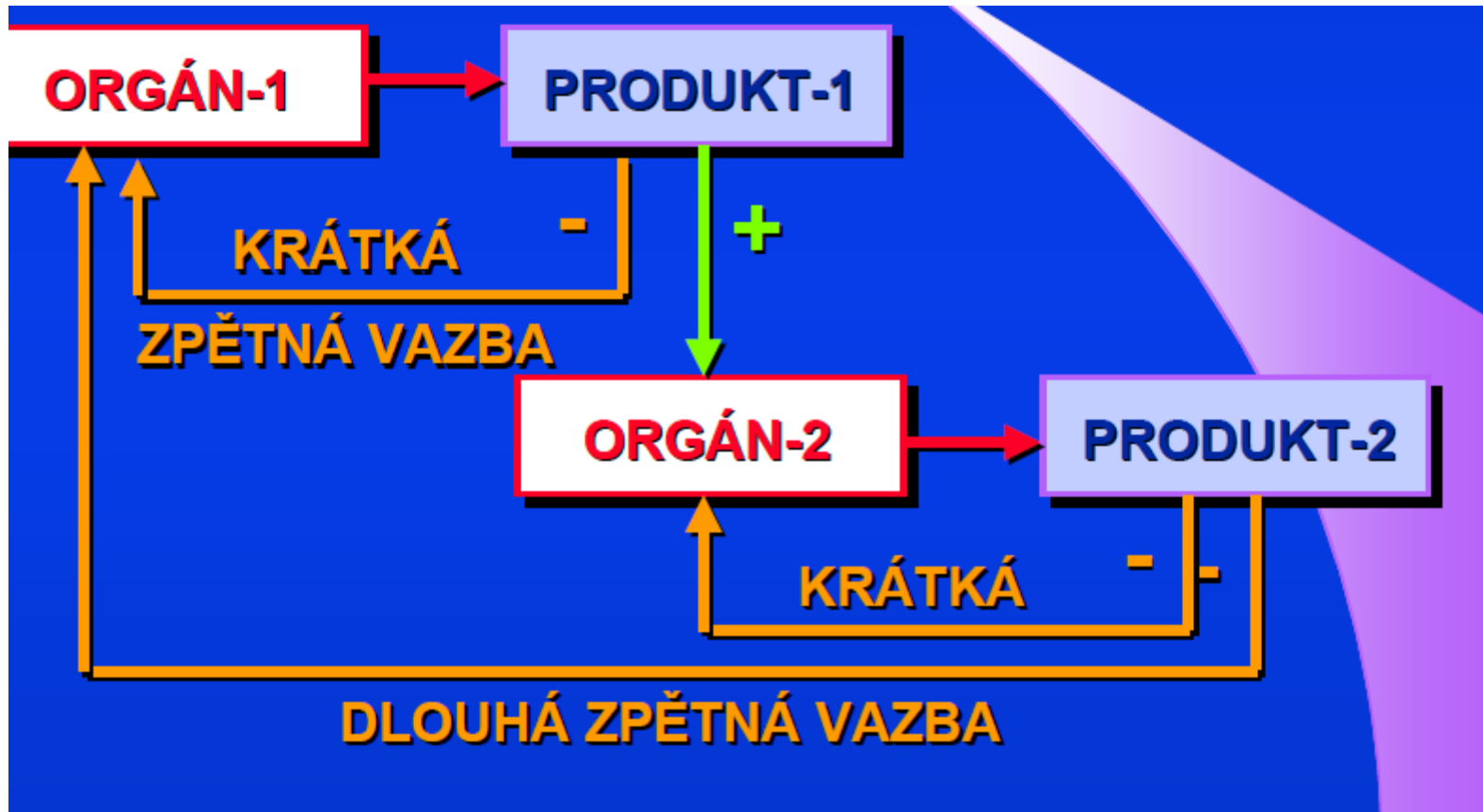
Regulace metabolismu probíhá na různých úrovních, ale vždy na molekulárním podkladě.



Pro život mnohobuněčného organismu je nezbytná **spolupráce mezi blízkými a vzdálenými buňkami**, neboť buňky musí vzájemně sladit své chování. Jde nejen o vzájemnou regulaci (**neurohumorální regulace**), ale i o společné využívání produktů různých metabolických pochodů, probíhajících v různých buňkách v různé míře.

Cílem je přizpůsobit se neustále se měnícím vnějším i vnitřním podmínkám. Vzájemnou komunikaci mezi buňkami zajišťují **signální molekuly**, které jsou zachyceny cílovými buňkami pomocí specifických **receptorových proteinů (receptorů)**. Extracelulární signál je pak převáděn na intracelulární signály, které řídí chování buňky. Signál je mezi buňkami přenášen na různou vzdálenost, s různou rychlostí a selektivitou.

Základním regulačním mechanismem – zpětná vazba



Regulace metabolismu probíhá na různých úrovních, ale vždy na molekulárním podkladě.

Centrálním nástrojem regulace metabolismu je **regulace enzymových reakcí**

regulace **v určitém buněčném kompartmentu**

regulace **v rámci kompletní buňky**

(proteom, specifické receptory, izoenzymy, transportéry, energetický stav buňky)

regulace vyplývající z **komunikace mezi buňkami**

úrovně regulace se překrývají.

Enzymy

Regulace buněčných dějů v rámci samotné buňky souvisí s regulací přicházející z okolí - regulační děje navazující na vnější signál probíhají obdobným mechanismem, jako regulace zprostředkované samotnou buňkou. **Všechny regulační kaskády vždy vedou**

Takový enzym je označován **jako klíčový nebo regulační enzym** a obvykle se v buňce vyskytuje v nízké koncentraci (regulace je obecně založena na).

Rychlost celé metabolické dráhy (sledu následných **změně koncentrace aktivního enzymu** reakcí) je tak dána reakcí, která je za daných podmínek **nejpomalejší**.

Všechny kroky metabolických drah regulovány nebývají, regulace nejčastěji zahrnuje pouze **klíčové reakce metabolismu**.

Regulován bývá enzym, který katalyzuje **první rozhodující reakci** metabolické dráhy, vycházející z obecné hotovosti intermediárního substrátu. Nejčastěji jde o silně exergonické, tj. prakticky nevratné, reakce.

Regulace enzymové aktivity

A) regulace **množství enzymu** (syntéza a degradace)

B) regulace **aktivity enzymu** (modifikace enzymu proteolýzou, kovalentní modifikací, allosterická regulace, interakce s regulačními proteiny)

C) **dostupnost a koncentrace** substrátu (regulace transportu)

BIOKATALYZÁTORY

KATALÝZA

JE ZMĚNA RYCHLOSTI CHEMICKÉ REAKCE
ÚČINKEM KATALYZÁTORU

PODÍLÍ SE NA REAKCI, ALE SAMI SE
NEPOTŘEBOVÁVAJÍ

AKTIVÁTORY - RYCHLOST REAKCE ZVYŠUJÍ

INHIBITORY - RYCHLOST REAKCE SNIŽUJÍ

B) Strategie regulace (proteinové) enzymové aktivity.

1. **Allosterická kontrola.** Allosterické proteiny obsahují regulační místa odlišná od substrátových. Allosterický z řečtiny „allos“ = další, „steros“ = uspořádání. Skládají se z podjednotek (protomerů). Mají schopnost kooperativity.

Jako příklady enzym **aspartáttranskarbamoylasy (ATCasa)** a neenzymový kyslíkový přenašeč **hemoglobin**.

2. **Mnohočetné formy enzymů.**

Isozymy - jsou homologní enzymy katalyzující stejnou reakci, ale lišící se jemně v struktuře a více v K_m a V_{lim} a regulačních vlastnostech.

- 3. **Reversibilní kovalentní modifikace.** Katalytické vlastnosti řady enzymů se mění po kovalentní vazbě nějaké skupiny na jejich molekulu - nejčastěji fosforylace. **Modifikující enzymy** jsou **proteinkinasy a proteinfosfatasy**.

- 4. **Proteolytická aktivace.** Mnoho proteinů je syntetizováno v neaktivní formě.

U enzymů jsou to **zymogeny** (proenzymy).

Po odštěpení části řetězce přechází zymogen na aktivní enzym. Jako aktivující složky působí proteolytické enzymy jako **chymotrypsin, pepsin a trypsin**. Aktivace je ireversibilní.

Kaspasy, proteolytické enzymy, účastníci se programové buněčné smrti, jsou aktivovány z formy prokaspas.

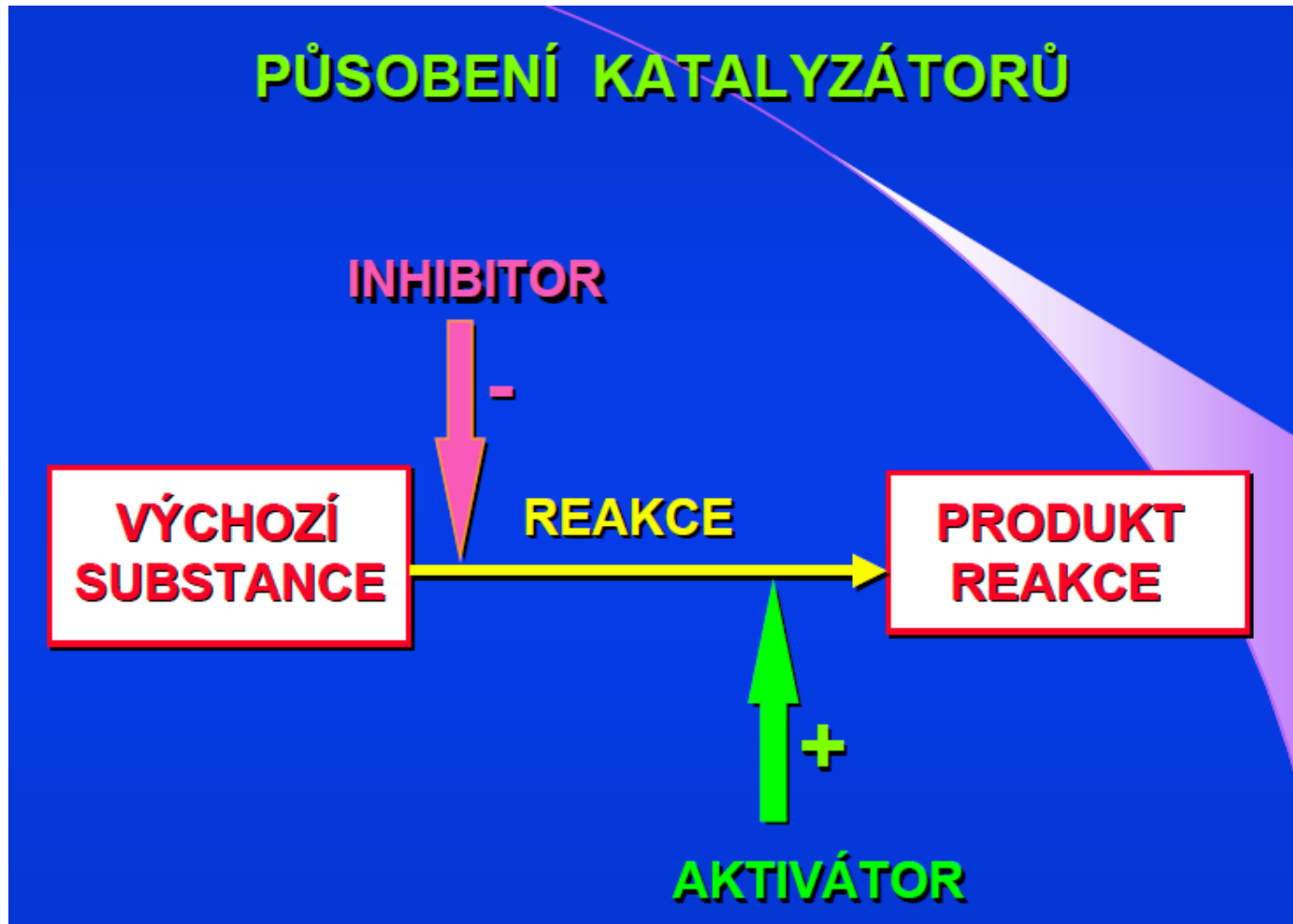
Dalším příkladem je kaskáda **enzymů při srážení krve**.

5. **Kontrola množství přítomného enzymu**-kontrola na úrovni transkripce.

Významné regulační mechanismy

- 1) dostupnost substrátů** - zvyšuje se s jejich zvýšeným příjmem nebo syntézou a také s transportem na místo, kde mohou být metabolizovány, snižuje se s jejich odběrem dalšími metabolickými drahami
- 2) využívání produktů** - pokud je produkt reakce ihned využíván následnou reakcí jako substrát (metabolické dráhy), nedochází k hromadění tohoto produktu a reakce dále probíhá ve směru jeho další tvorby; začne-li se nevyužitý produkt hromadit, často pak slouží jako inhibitor reakce, nebo sledu reakcí, vedoucích k jeho vzniku
- 3) dostupnost potřebných koenzymů** - většina enzymů potřebuje pro svou katalytickou funkci vhodný koenzym, který se během přeměny substrátu také mění: při jeho regeneraci následnou drahou je rychlost reakce dána rychlostí této následně probíhající zpětné přeměny koenzymu
- 4) aktivita potřebných enzymů** - závisí jednak na koncentraci daného enzymu v buňce, jednak na tom, jak velká část z přítomných molekul enzymu je aktivní; z regulačního hlediska je nejvýhodnější měnit aktivitu enzymů katalyzujících nejpomalejší reakci dané metabolické dráhy

Aktivita enzymů – inhibitory, aktivátory



Regulace na úrovni makroorganismu

Pro život mnohobuněčného organismu je nezbytná **spolupráce mezi blízkými a vzdálenými buňkami**, neboť buňky musí vzájemně sladit své chování. Jde nejen o vzájemnou regulaci (**neurohumorální regulace**), ale i o společné využívání produktů různých metabolických pochodů, probíhajících v různých buňkách v různé míře.

Cílem je přizpůsobit se neustále se měnícím vnějším i vnitřním podmínkám.

Vzájemnou komunikaci mezi buňkami zajišťují **signální molekuly**, které jsou **receptorových proteinů (receptorů)**. **zachyceny cílovými buňkami pomocí specifických**

Extracelulární signál je pak převáděn na **intracelulární signály**, které řídí chování buňky. Signál je mezi buňkami přenášen na různou vzdálenost, s různou rychlostí a selektivitou.

Mezibuněčná komunikace

- koordinace růstu, diferenciací, metabolismu buněk tkání a jiných mnohobuněčných struktur
- **buňky - komunikace přímým kontaktem buňka-buňka** - specialisované spoje v plasmatické membráně - výměna malých molekul - např. koordinace metabolických odpovědí; určení tvaru buněk
- interakce buňka-buňka = počátek vývoje a diferenciací tkání, vazba specifického proteinu jedné buňky na receptor buňky druhé
- **extracelulární signální molekuly** - syntetizovány “**signalizujícími**” buňkami, vyvolají odpověď jen v “**cílových**” buňkách, majících **receptory**
- **signální transdukce** - proces “přeměny” extracelulárního signálu na buněčnou odpověď

Komunikace extracelulárními signály: 6 kroků

- 1) syntéza signální molekuly “signalizující” buňkou
- 2) uvolnění signální molekuly “signalizující” buňkou
- 3) transport “signálu” k cílové buňce
- 4) detekce “signálu” specifickým receptorovým proteinem
- 5) změna buněčného metabolismu, funkce nebo vývoje vyvolaná komplexem signál-receptor
- 6) odstranění signálu, obvykle “ukončí” buněčnou odpověď

Komunikace mezi buňkami

Signální transdukce je proces, při němž **signální molekuly (působky)** přenášejí specifické informace přes membrány z **vnějšku cílové buňky** do jejího nitra, kde vyvolávají příslušnou biologickou odpověď.

Ve vyšších organismech se uplatňují **hlavní signální systémy**, pomocí kterých je regulována a integrována činnost buněk.

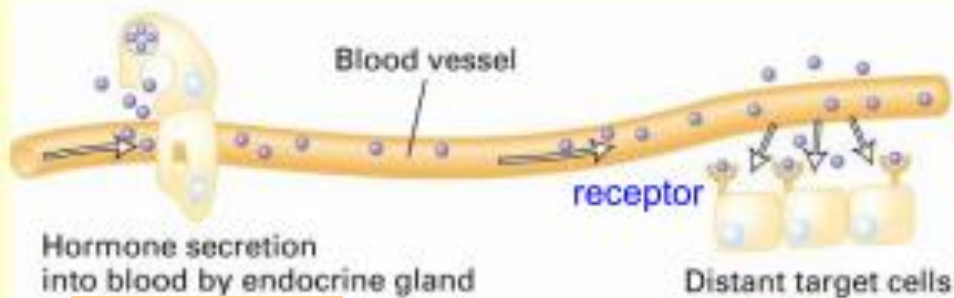
Kromě nich se v metabolismu uplatňují další, do těchto systémů nezařazené signální molekuly.

Hlavní signální systémy ve vyšších organismech

System	Zdroj signálních molekul	Signální molekuly
Endokrinní	Endokrinní žlázy, rozptýlené žlázové buňky	Hormony
Nervový	Nervová buňka	Neurotransmitery, neurohormony
Imunitní	Buňky imunitního systému	Cytokiny
Další typy	Různé buňky	Ikosanoidy, růstové faktory

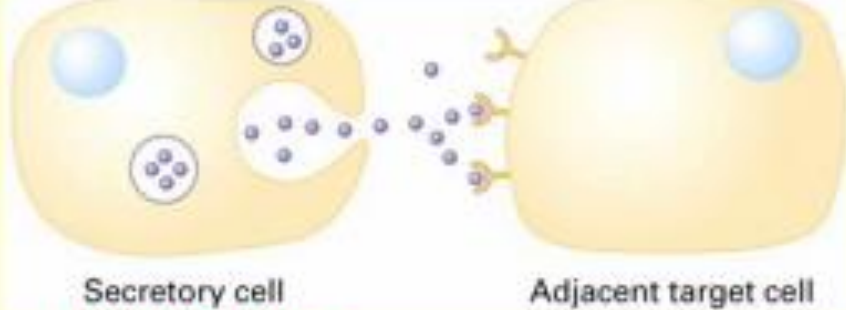
Účinky signálních molekul

Název účinku	Charakter účinku
endokrinní	Působek je přenášen krví na cílovou buňku, která je většinou vzdálena od místa vzniku. Typicky hormony . Koncentrace působku v krvi je velmi nízká (10^{-12} – 10^{-9} mol/l) – cílová buňka má proto velkou afinitu k působku-- vazba hormonu k receptoru je velmi silná, hormon nesnadno disociuje . Dalším rysem je, že trvá určitou dobu, než se koncentrace hormonu v krvi zvýší a hladina hormonu v krvi zůstává po určitou dobu (několik minut až hodin) zvýšena.
parakrinní	Působek je secernován do bezprostředního okolí buňky (lokální mediátory). Působkem jsou ovlivněny jen buňky v nejbližším okolí. Koncentrace působku v okolí buněk je vyšší (10^{-9} – 10^{-6} mol/l). Afinita receptorů k působku je nižší -- po poklesu koncentrace v okolí buňky se působek od receptoru oddělí. Parakrinní signalizace je určena pro rychlou a lokalizovanou komunikaci mezi buňkami .
Juxtakrinní.	– signalizace mezi buňkami nebo buňkou a extracelulární matrix vyžaduje těsný kontakt
autokrinní	Buňka sekretuje působek a je současně cílem. Rysy jsou obdobné parakrinnímu působení.



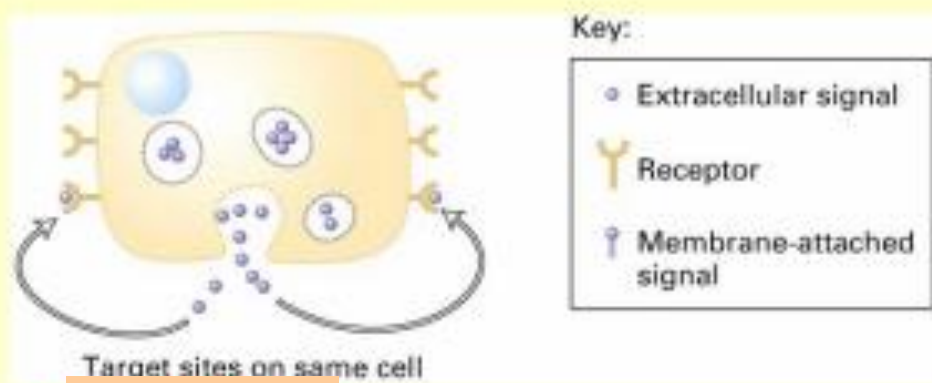
1. **endokrinní**

signální molekuly **hormony** - ovlivní cílové buňky vzdálené od místa syntézy



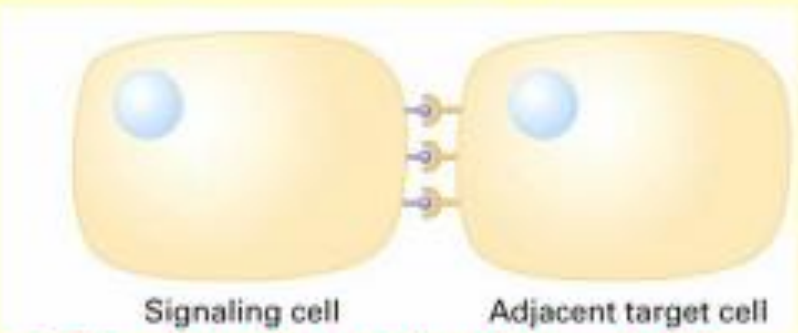
2. **parakrinní**

signální molekuly uvolněné buňkou ovlivní cílové buňky v těsné blízkosti **nervové buňky - neurotransmitery**



3. **autokrinní**

Buňky odpovídají na látky, které samy produkují **růstové faktory** stimulují růst b., které je produkují (nádorové b.)



4. **Signalisace proteiny plasmatické membrány**

Juxtakrinní — signalizace mezi buňkami nebo buňkou a extracelulární matrix vyžaduje těsný kontakt

- Některé signální molekuly - kombinace více typů signalisací - napr. **Epinephrine** - jako neurotransmitter i jako hormon

signální systémy

TEST

Obecné mechanismy účinku hormonů a neurotransmiterů.

Typy signálních molekul v neurohumorálních regulacích:

Působek	Zdroj
HORMONY	vylučované endokrinními žlázami, rozptýlenými žlázovými buňkami, ikosanoidy mnoha jinými typy buněk
NEUROHORMONY	vylučované neurony do krevního oběhu
NEUROTRANSMITERY	vylučované na synaptických zakončeních
CYTOKINY, RŮSTOVÉ FAKTORY, IKOSANOIDY	Vylučovány mnoha typy buněk, zpravidla ne z endokrinních žláz

RECEPTORY

Společným rysem všech **látek s modulačními účinky** na buňky je jejich působení prostřednictvím **receptorů**.

Receptory jsou **allosterické proteiny**, které mění svou konformaci po navázání ligandu.

Ligandem jsou **signální molekuly**.

Agonisté jsou ligandy, které po navázání na receptor **vyvolají transdukcii signálu**,

antagonisté po navázání na receptor **brání transdukcii signálu**.

Receptorové proteiny

- specifické proteiny lokalizované **na povrchu** cílové buňky, nebo **v cytosolu** nebo **v jádře**
- **signální molekula** (hormon, feromon, neurotransmitter) funguje jako ligand, který se váže do specifického místa receptoru
- vazba ligandu **vyvolá změnu konformace receptoru** ⇒ **iniciace buněčných změn**
- **různé skupiny buněk** ⇒ různé receptory pro stejný ligand ⇒ různé odpovědi na stejný signál
- **různé ligand/receptor komplexy** ⇒ mohou vyvolat stejné b. odpovědi u určitých typů buněk.

Receptorový protein ⇒ vazebná specifita pro určitý ligand

Ligand/receptor komplex ⇒ efektorová specifita ⇒ vyvolá specifickou buněčnou odpověď

- Ve většině případů - role ligandu je pouze se vázat na receptor, ligand není metabolisován na užitečné produkty, nemá enzymatickou aktivitu
- **Cílové buňky** - většinou modifikují nebo degradují ligand -modifikace nebo terminace odpovědi na signál

Receptory jsou lokalizované buď na **vnějším povrchu cytoplazmatické membrány**, nebo **intracelulárně (cytosol, jádro)**.

Ve své struktuře mají dvě **hlavní komponenty**:

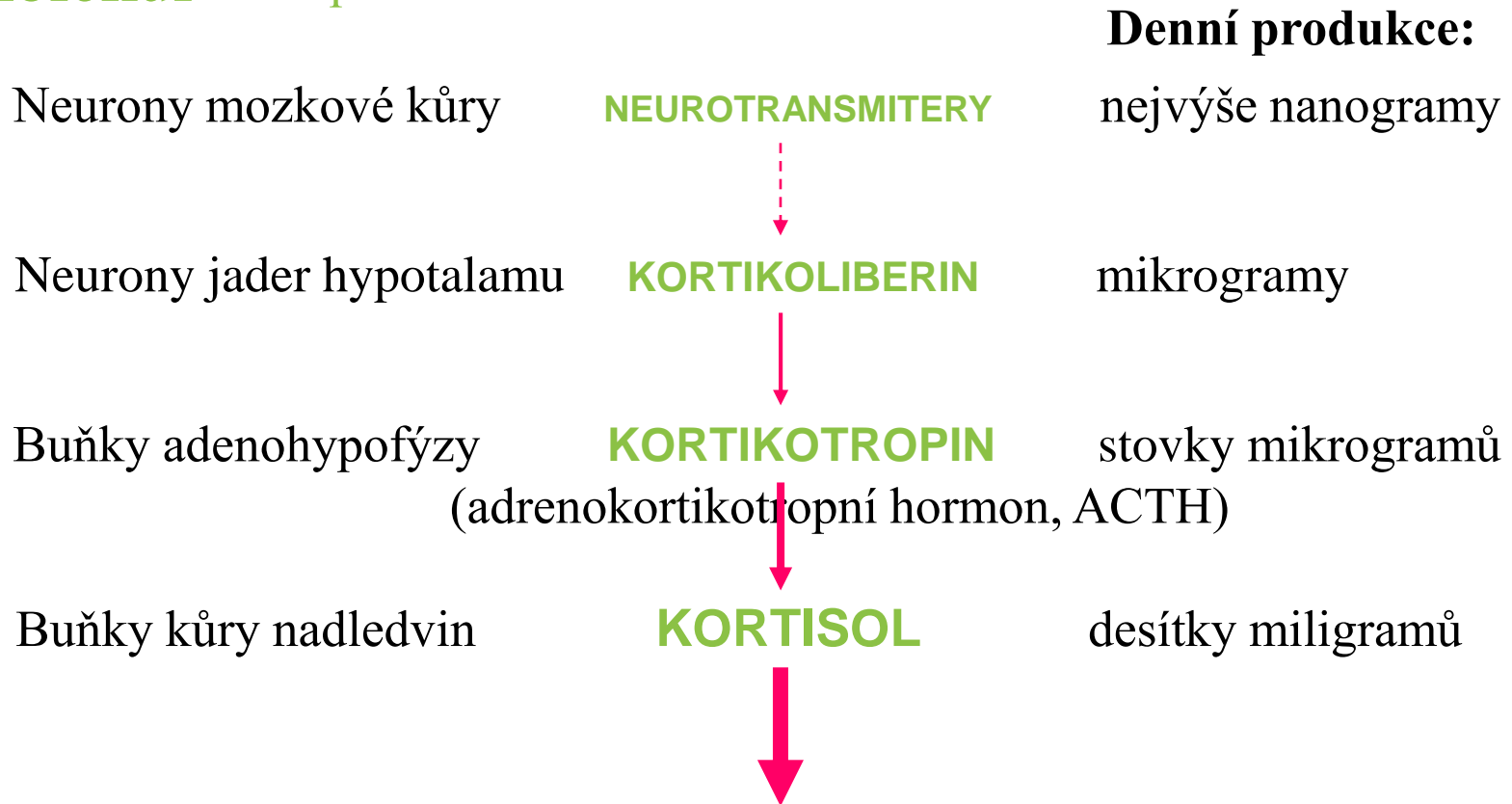
(1) doménu vázající ligand, která zajišťuje specifitu vazby s příslušným ligandem; (2) efektorovou doménu, která zahajuje vznik biologické odpovědi po vazbě ligandu.

Aktivovaný receptor může vstoupit do reakce s dalšími buněčnými komponentami a realizovat tak proces signální transdukce.

Tkáně, jejichž buňky nemají žádné molekuly specifického receptoru, nemohou reagovat na příslušný hormon.

Charakteristickým rysem přenosu signálu prostřednictvím receptorů je jeho **amplifikace** (zesílení), kdy jedna jediná molekula hormonu je schopna vyvolat buněčnou odezvu s 10⁴–10⁵krát vyšší intenzitou.

Princip hierarchie v některých hormonálních regulacích a zesílení toku informací pomocí signálních molekul Např.



CÍLOVÉ BUŇKY PERIFERNÍCH TKÁNÍ

Kortizol zvyšuje celkovou pohotovost organismu při zátěžových situacích ([stresech](#), [infekčních chorobách](#), velké tělesné námaze, dlouhodobém hladovění). Jeho účinek na [metabolismus](#) by se dal jednoduše popsat jako [katabolický](#), [antianabolický](#) a [diabetogenní](#).

Hormony

vs.

Neurotransmitery

Působí prostřednictvím
receptorů

Často shodné struktury

(noradrenalin jako
neurotransmitter i hormon)

Vznik v endokrinní buňce

Transport krví

Působení na cílové tkáně

Vznik v nervové buňce

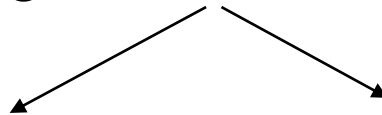
Působení z buňky na buňku
na synapsích

Transdukce signálu

Jak buňka převezme informaci nesenou chemickým signálem?



Reakce signální molekuly s receptorem



Membránové receptory

Hormony i neurotransmitery

Proteiny a menší signální molekuly (peptidy, aminokyseliny, biogenní aminy, ikosanoidy)

Intracelulární receptory

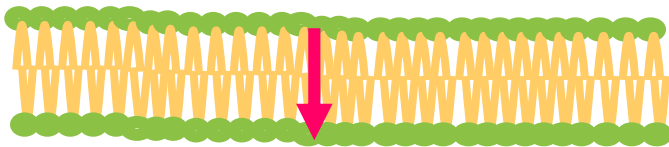
Pouze hormony

Nepolární signální molekuly
(steroidy, jodtyroniny, retinoáty)

Membránové a intracelulární receptory

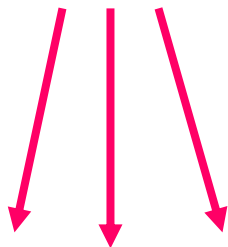
Polární signální molekula

Membránový receptor



Transdukce signálu

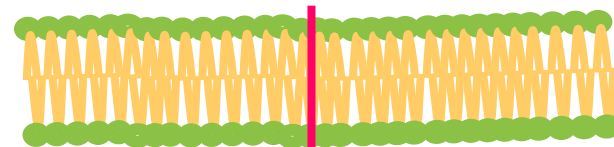
Amplifikace



10 000 Biologická odpověď
(rychlý účinek, může
být následován i
účinkem pozdějším)

Nepolární signální molekula
navázaná na transportní protein plazmy

Přenos signální molekuly

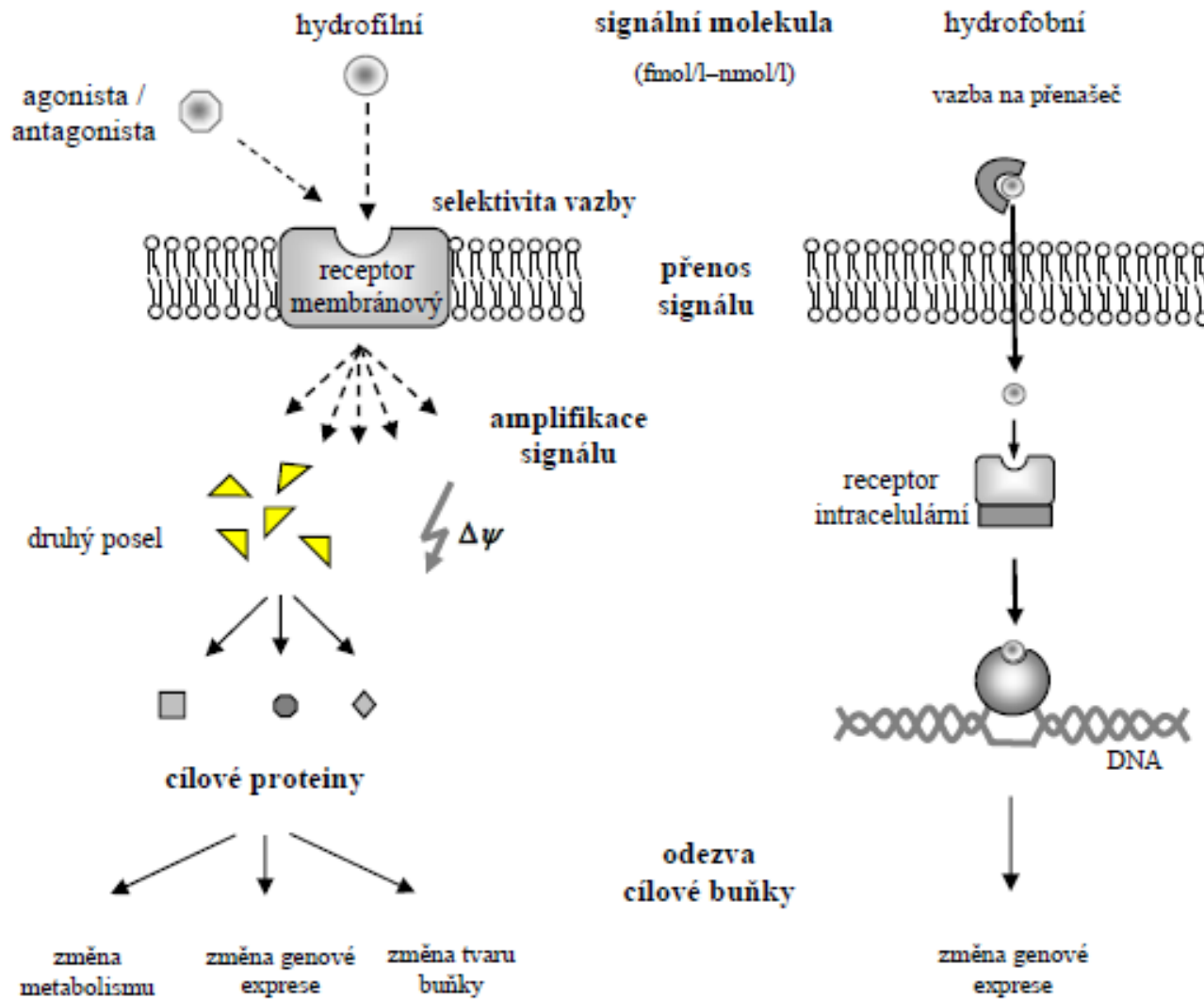


Intracelulární receptor

Interakce komplexu hormon- receptor
s hormonsenzitivním elementem DNA

Biologická odpověď
(účinek pomalejší)

Schéma transdukce signálu



HORMONY

LÁTKY RŮZNÉ CHEMICKÉ POVAHY, S REGULAČNÍ FUNKCÍ VYTVÁŘENÉ V ORGÁNU NEBO ENDOKRINNÍ ŽLÁZE;

KRVÍ NEBO LYMFOU JSOU PŘENÁŠENY DO JINÉHO ORGÁNU V TĚLE, KDE SPECIFICKY OVLIVŇUJÍ ZVÝŠENÍ NEBO SNÍŽENÍ FUNKCE DANÉHO ORGÁNU.

HORMONY TVOŘÍ NEODDĚLITELNOU SOUČÁST TZV. NEUROHUMORÁLNÍ REGULACE ORGANISMU.

Princip signalizace

tvorba signálu

registrace signálu receptorem

na vnějším povrchu buňky

nebo v cytoplasmě/jádře

přenos signálu z receptoru k

efektorům uvnitř buňky

TRANSDUKCE SIGNÁLU

efektorem může být

transkripční faktor, enzym,

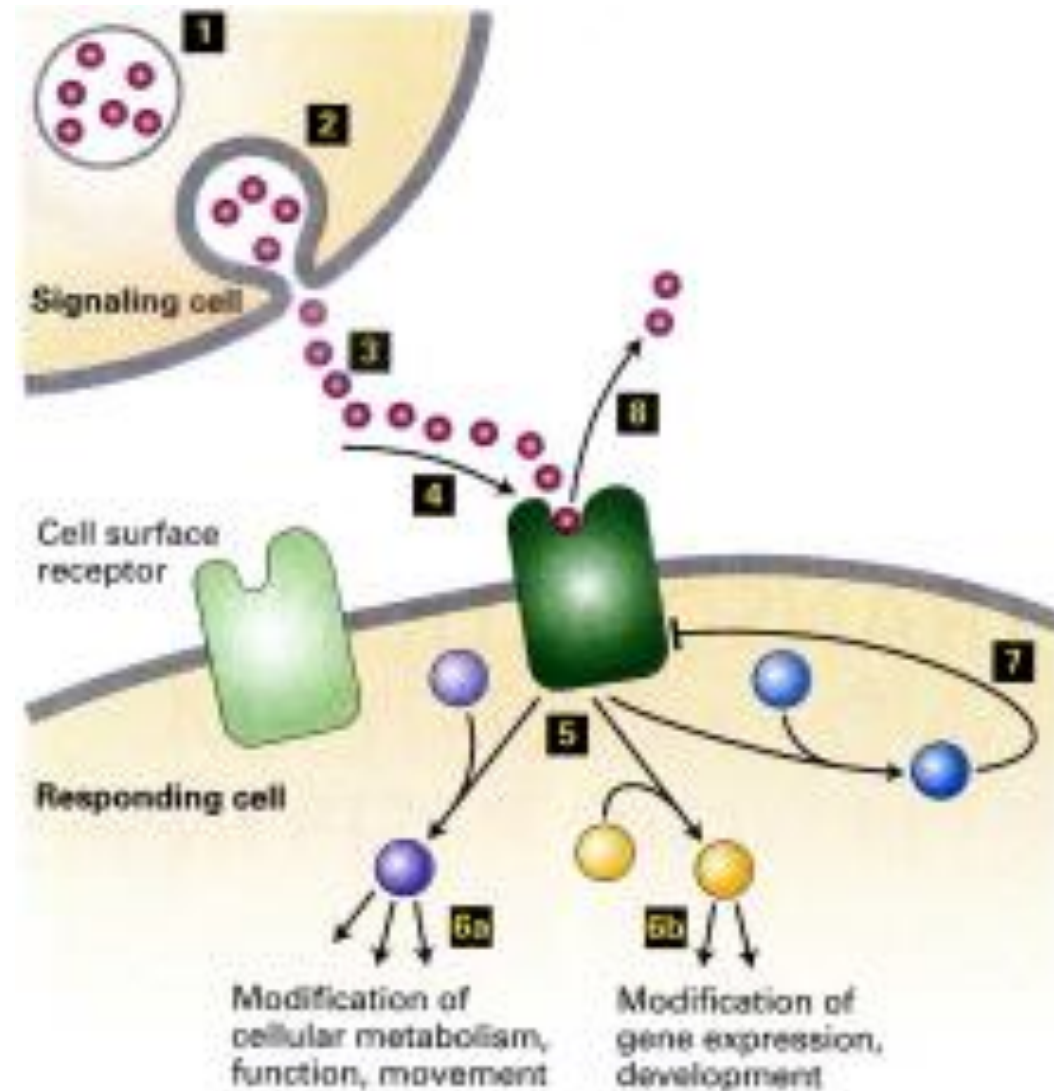
složka cytoskeletu, atd...

schopnost buňky reagovat na

podněty je geneticky určena -

spektrém receptorů, které je

schopna vytvořit



Typy receptorů

Typ receptoru	Charakter ligandu	Charakteristika receptoru
Membránový	Velké signální molekuly (peptidy a proteiny) Malé, silně hydrofilní molekuly (aminokyseliny a jejich deriváty ad.)	Integrální membránové proteiny
Intracelulární	Menší hydrofobní molekuly (steroidy, deriváty vitamínu D ₃ , retinoidy, thyroïdní hormony)	Proteiny v cytoplazmě nebo jádře

Klasifikace signálních hormonů - podle solubility a lokalisace

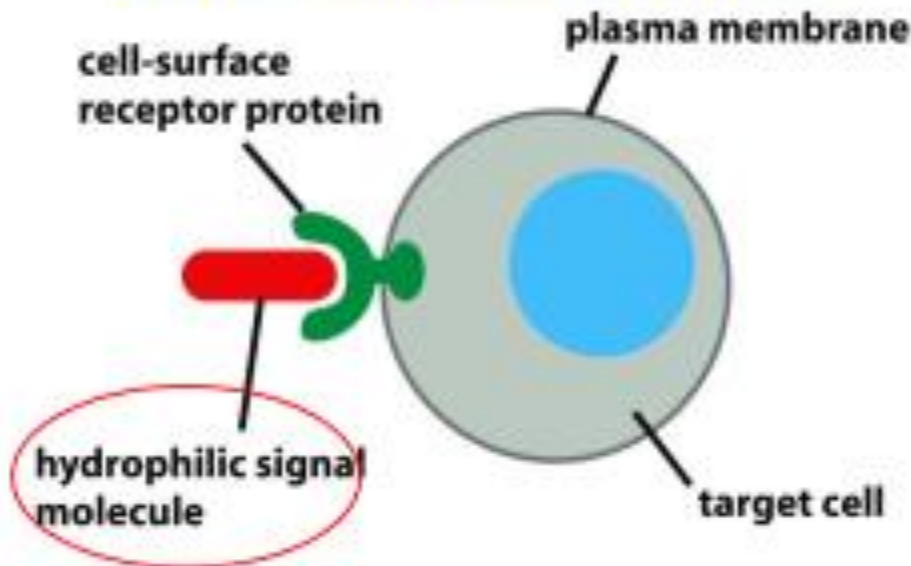
1. **Malé lipofilní molekuly**, které difundují přes plasmatickou membránu a **interagují s intracelulárními receptory**
2. **Hydrofilní molekuly**, které se **váží na receptory na buněčném povrchu**
3. **Lipofilní molekuly**, které se **váží na receptory na buněčném povrchu**

Chemická povaha signálů

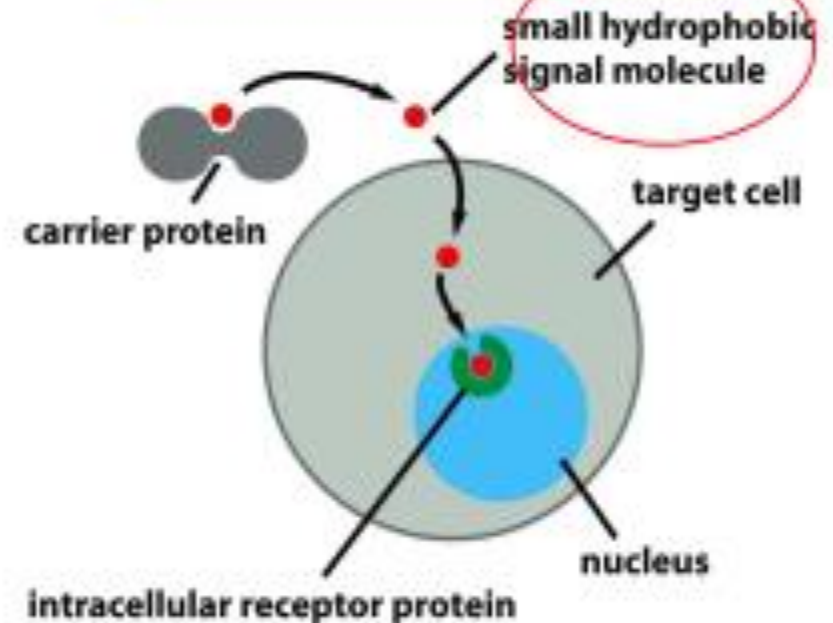
proteiny
krátké peptidy
aminokyseliny
nukleotidy
steroidy
retinoidy
mastné kyseliny a jejich deriváty
plyny

O vstupu signální molekuly do buňky rozhoduje její rozpustnost

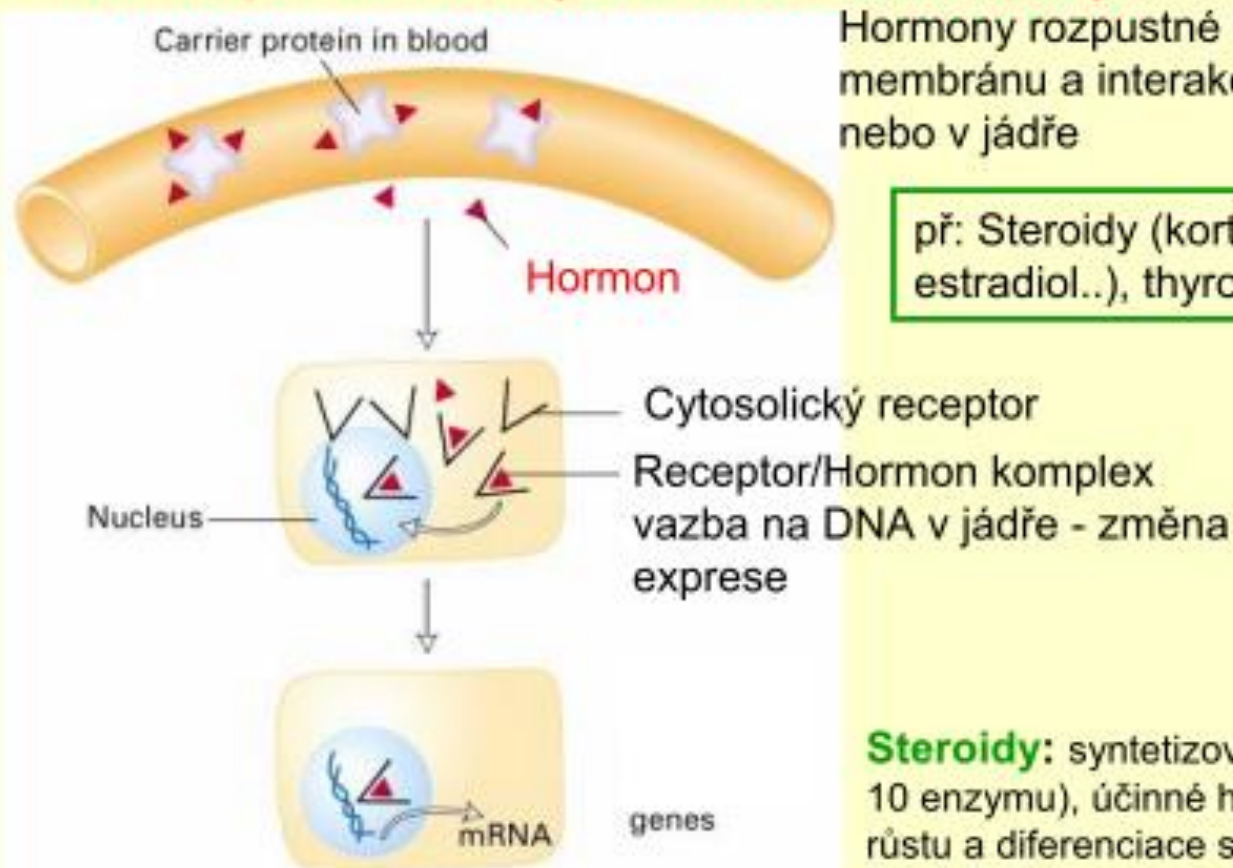
CELL-SURFACE RECEPTORS



INTRACELLULAR RECEPTORS



1. Malé lipofilní molekuly a intracelulární receptory



Hormony rozpustné v lipidech - difuze přes membránu a interakce s receptory v cytosolu nebo v jádře

př: Steroidy (kortisol, progesteron, estradiol..), thyroxine a k. retinová.

Steroidy: syntetizovány z cholesterolu (asi 10 enzymu), účinné hodiny - dny, ovlivnění růstu a diferenciacie specifických tkání,

- buňky produkující steroidní hormony - skladují malou zásobu prekursoru hormonu, ale nikoli maturovaný aktivní hormon.
- **po stimulaci konvertují prekursor na aktivní hormon**, který difunduje přes plasmatickou membránu do krve - **stimulace a uvolnění trvá hodiny ⇒ dny**
- tyto hormony špatně rozpustné ve vodě - jsou transportovány krví spolu s nosičovými proteiny, **nejsou rychle degradovány**
- **steroid / receptor komplexy** - regulace transkripce, efekt na stabilitu specifické mRNA

2,3 Hormony vážící se na povrchové receptory

2. Ve vodě rozpustné hormony

- nedifundují přes membrány,
vazba na povrchový receptor

a) peptidové hormony (př.
Insulin, růstové faktory, glucagon)
velikost od několika AK až proteiny

b) malé nabitě molekuly (př.
epinephrine, histamine)

- odvozené z aminokyselin;
- fungují jako hormony a
neurotransmitery,

- často indukují modifikaci aktivity jednoho či více enzymů, které v cílových buňkách už jsou,

- účinek hormonu je téměř okamžitý a obvykle netrvá dlouho,

- mohou navodit i změny genové exprese (trvají hodiny - dny), mohou vyvolat i ireversibilní změny

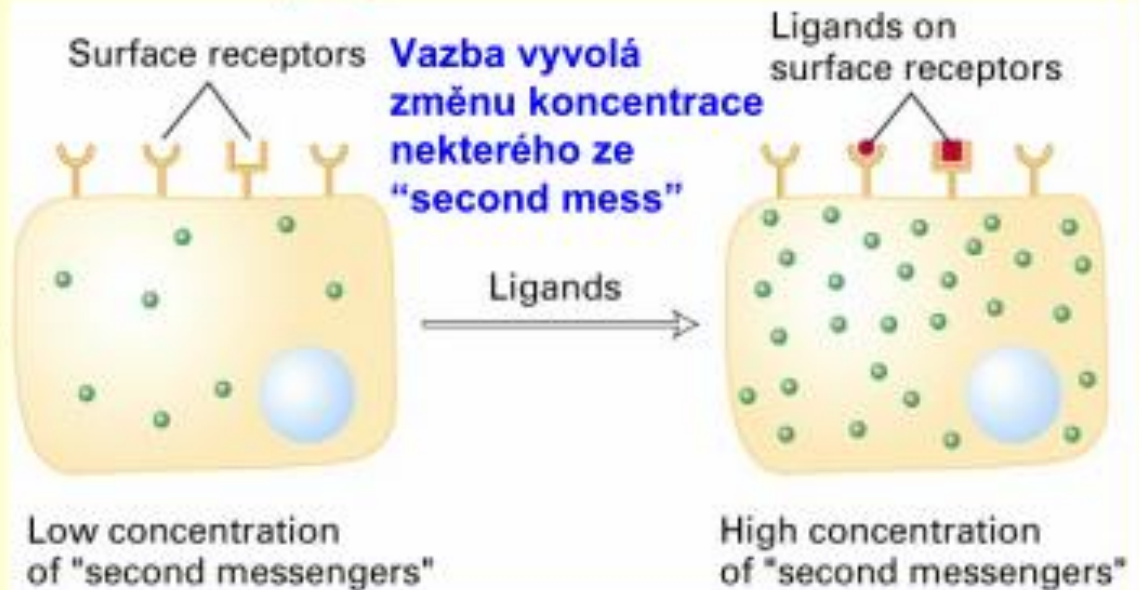
- buněčná diferenciace

- buňky, které produkují peptidové hormony - uskladnění v **sekretorických vesiklech pod plasmatickou membránou**

- stimulace buňky indukuje **exocytosu** peptidových hormonů do okolí buňky

- uvolněné **peptidové hormony** persistují v krvi jen sekundy - minuty, pak jsou degradovány proteasami.

- **katecholaminy** (epinephrine, norepinephrine, dopamine) - rychle inaktivovány různými enzymy nebo "přijaty" specifickými buňkami



3. Lipofilní hormony

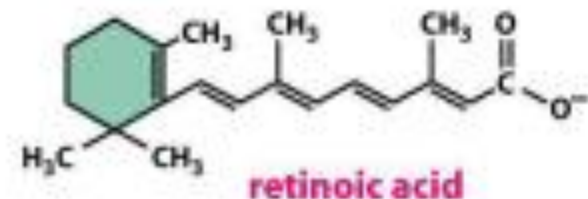
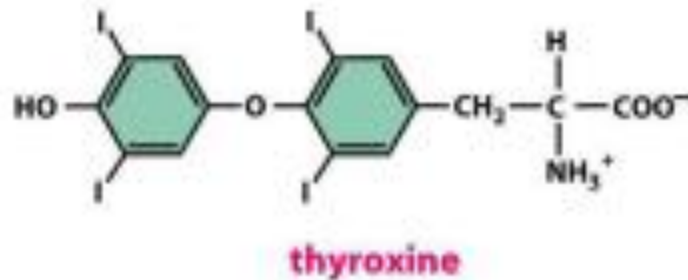
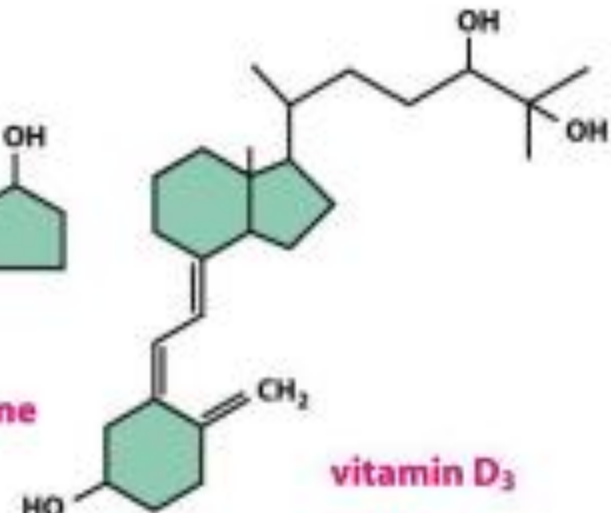
- **prostaglandiny** (~ 16 různých typu v 9 chemických skupinách - PGA - PGI)
- patří do skupiny tzv. **eicosanoidních** hormonů (20 C) syntetizovaných z prekursoru **arachidonátu** (arachidonic acid), vzniká z fosfolipidu a diacyl glycerolu
- parakrinní i autokrinní signalizace, modulace řady odpovědí

“Feedback” kontrola hladiny hormonu

- pozitivní nebo negativní “feedback”
- změna hladiny jednoho hormonu ovlivní hladinu jiných hormonů

Signalizace zprostředkovaná nitrobuněčnými receptory - ligandy

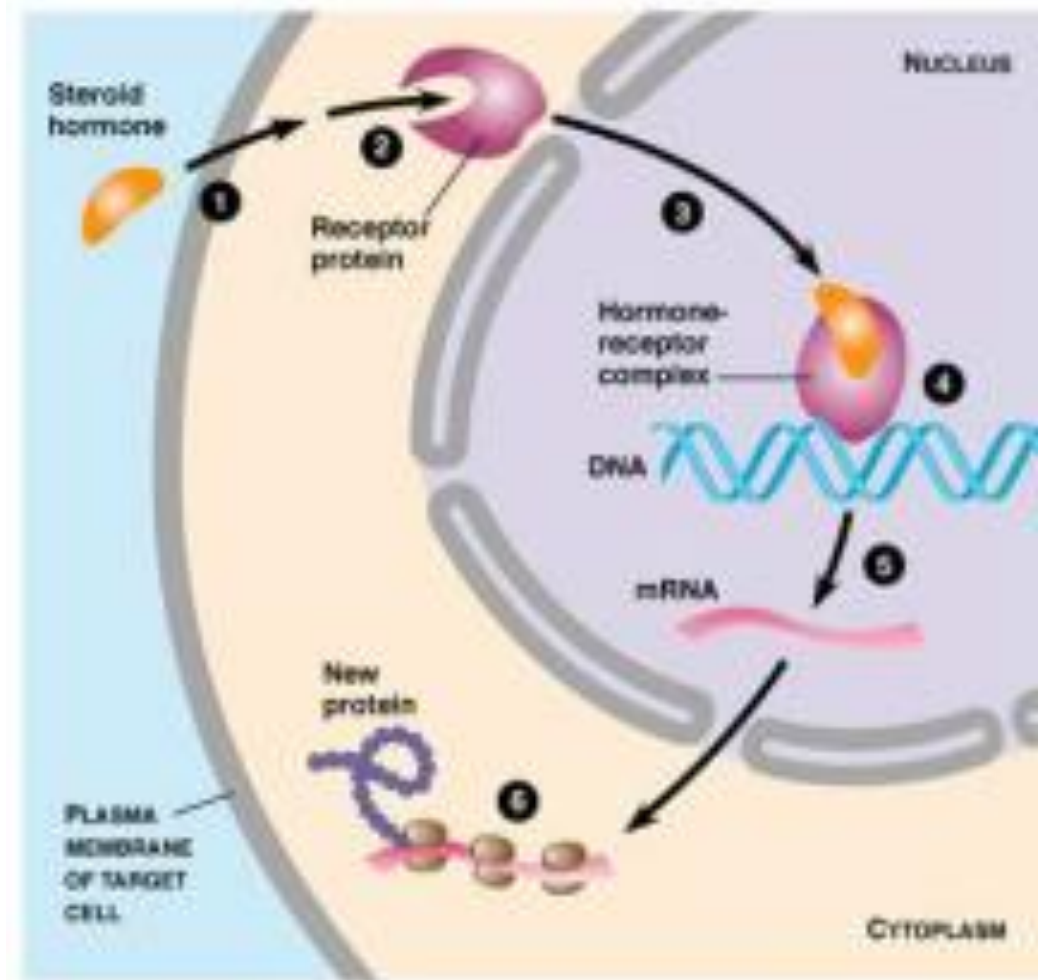
- typickými ligandy jsou **steroidní / tyroidní hormony**
- nízká molekulová hmotnost
- hydrofobní



Signalizace zprostředkovaná nitrobuněčnými receptory

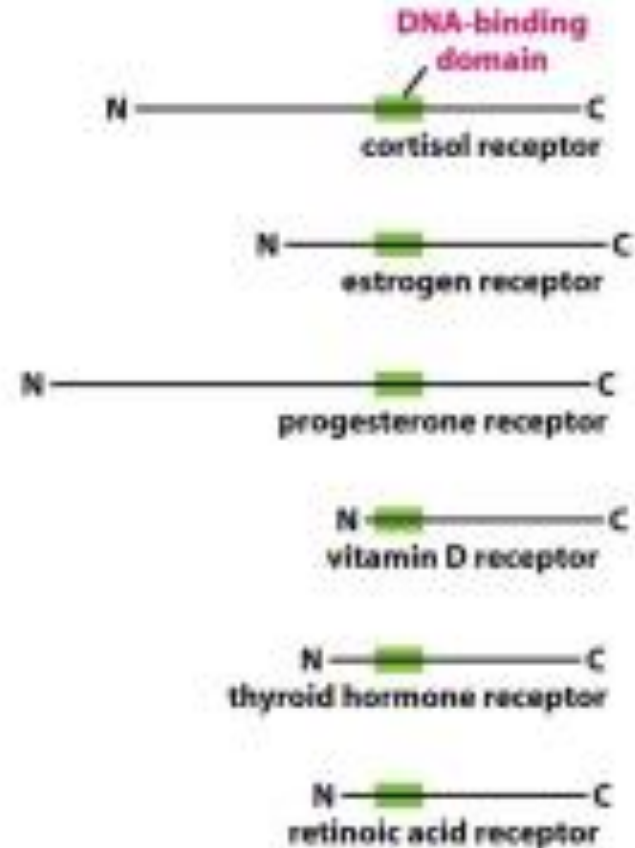
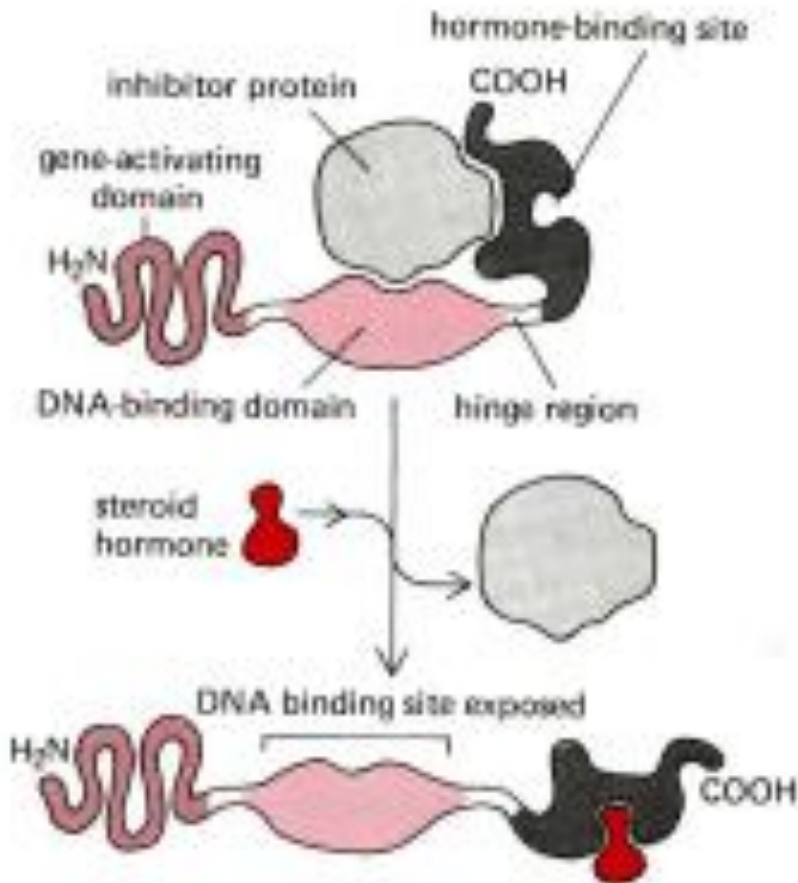
Mechanismus účinku:

Malá velikost/lipofilní povaha hormonů - difúze membránou - pevná vazba na nitrobuněčné receptory - konformační změna receptorů - zvýšená afinita ke specifickým sekvencím DNA - regulace transkripce cílových genů



Struktura nitrobuněčných receptorů

C-konec: doména pro vazbu hormonu
N-konec: doména pro řízení transkripce
Střed molekuly: doména pro vazbu DNA



Intracelulární receptory

pro steroidní hormony, kalcitriol, jodované tyroniny a retinoáty

Receptory se nachází se v **cytoplasmě nebo v jádře**

Hormon-receptorové komplexy se vážou na specifická místa DNA a slouží jako transkripční faktory

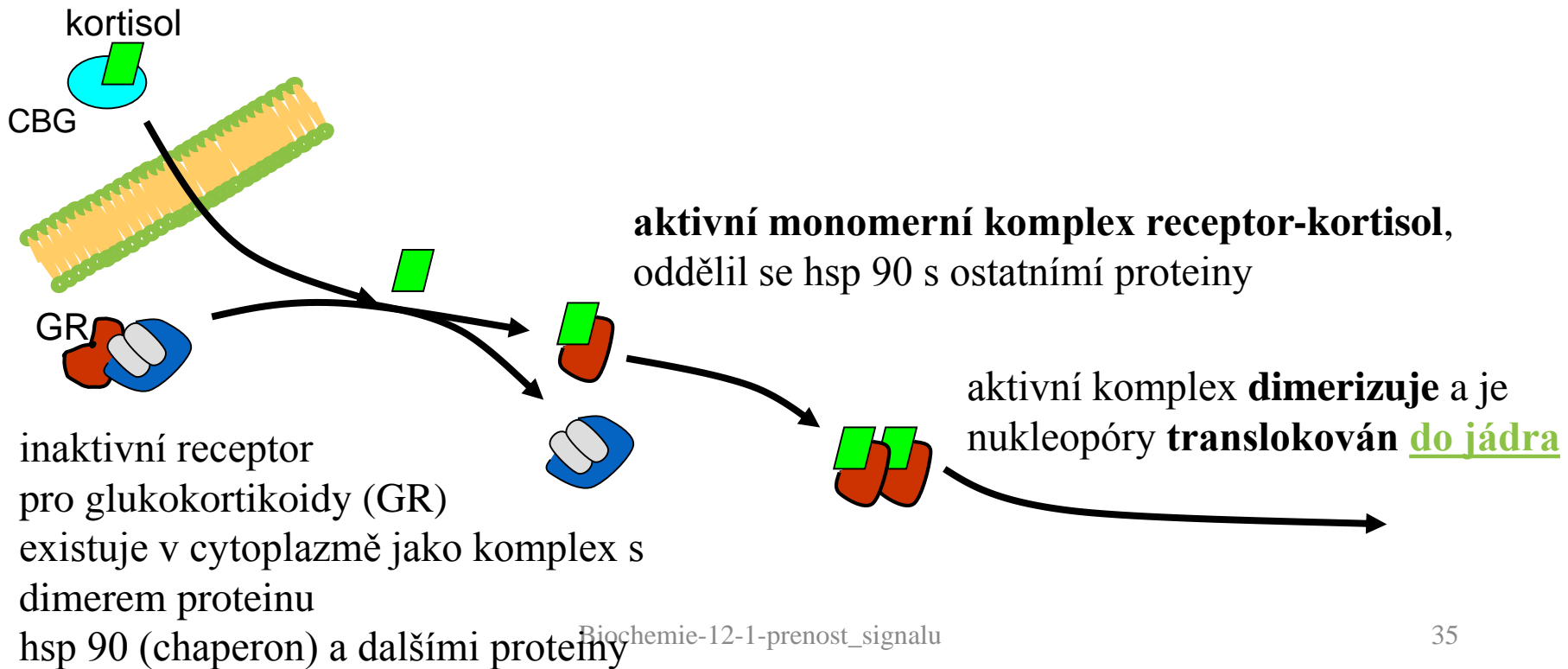
Komplex hormon-receptor se na DNA váže v místě HRE
(**hormon response element**)

Superrodina steroidních a thyroïdních receptorů – rodina strukturně podobných proteinů.

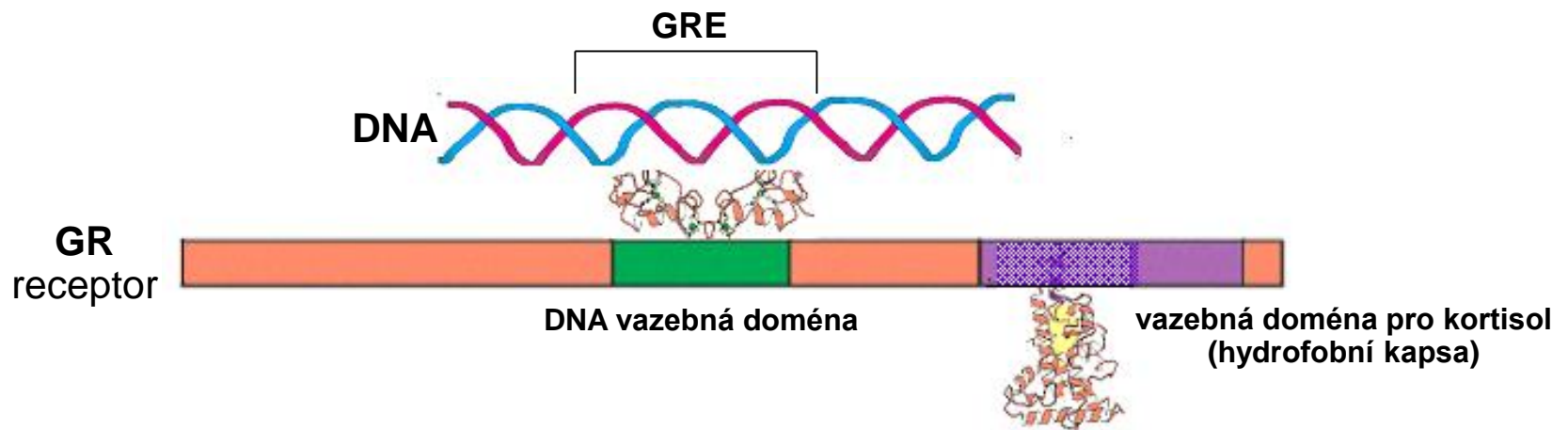
Aktivace transkripce je pomalejší proces, odezva má prodlevu

Příklad kortisolu (glukokortikoidy GK, jejich receptory GR):

kortisol v extracelulárním prostoru přenášen CBG (corticosteroid-binding globulin)
hydrofobní molekula hormonu proniká do buňky

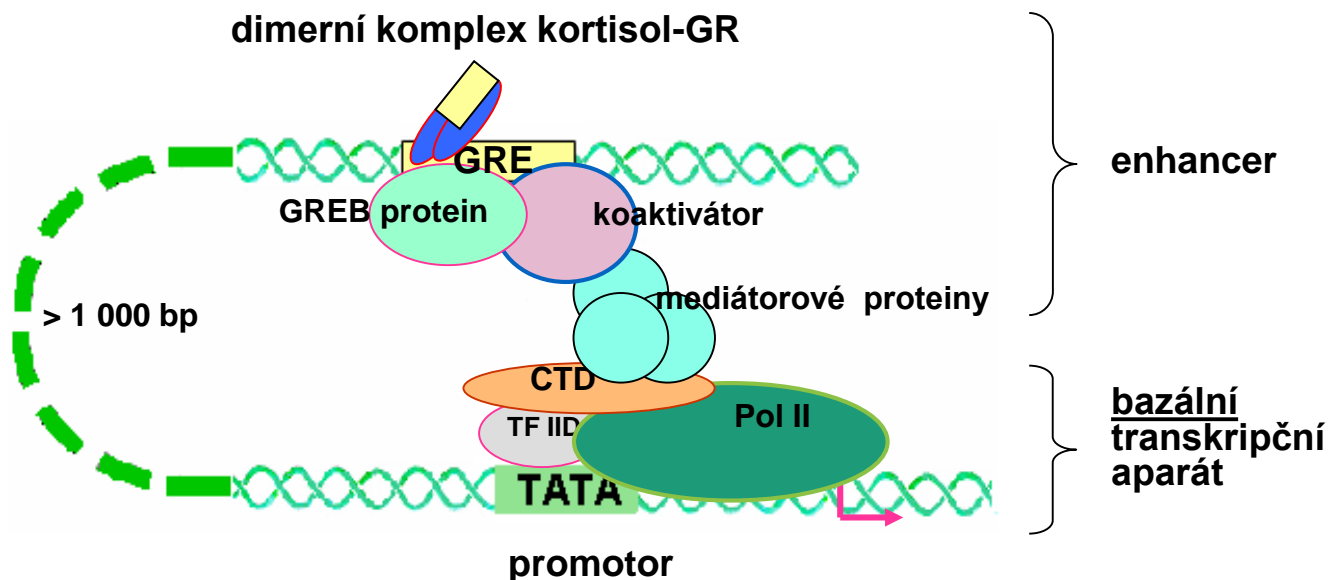


Dimerní komplex kortisol-receptor se v jádře navazuje na dsDNA v místě specifické sekvence GRE (glucocorticoid response element), tj. na HRE (hormone response element) specifické pro glukokortikoidy.



Iniciace transkripce kortisolem

Aktivní komplex kortisol-receptor se **váže na DNA** v místě specifické sekvence **GRE** (glucocorticoid response element, jedné z mnoha HRE – hormone response elements). Samotný komplex hormon-receptor však vazby na DNA a ovlivnění transkripce není schopen. Připojuje se **koaktivátor** a specifické **GREB-proteiny** (glucocorticoid response element-binding proteins). Tento komplex se prostřednictvím **mediátorových proteinů** navazuje na bazální transkripční aparát na promotoru a iniciuje transkripci.



GR dimer – intracelulární receptor pro glukokortikoidy (dimer)

GRE – glucocorticoid response element

GREB protein – GRE binding protein (specifický transkripční faktor)

II. Signalizace zprostředkovaná povrchovými membránovými receptory

TEST

1. Hydrofilní mimobuněčný signál (ligand, „primary messenger“):

růstový faktor, cytokin, hormon, atd.

2. Povrchový receptor:

převod mimobuněčného ligandu do podoby nitrobuněčného signálu

3. Sekundární přenašeč („secondary messenger“):

nízkomolekulární struktury (cAMP, Ca²⁺, diacylglycerol, zbytek kyseliny fosforečné, atd.)

produkt enzymově katalyzované reakce
přenos signálu od povrchových receptorů k efektorům

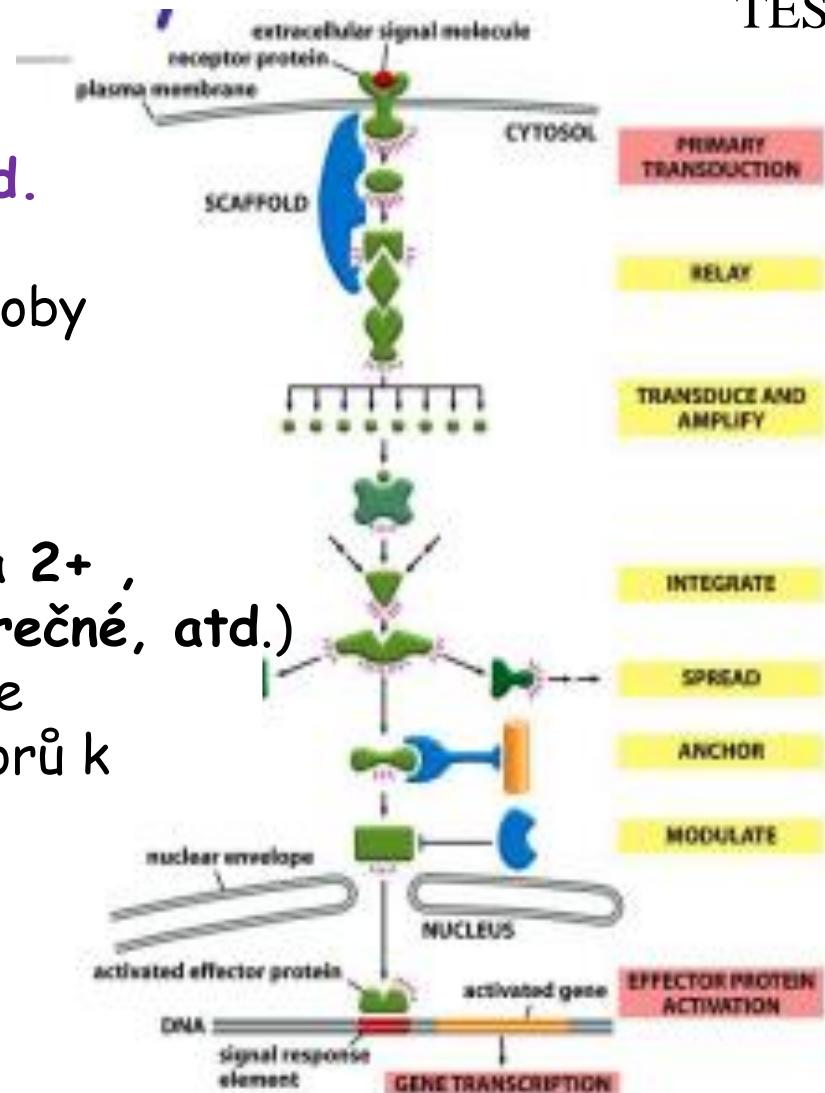
4. Cílová molekula (efektor):

enzym

ložka replikačního aparátu

ložka aparátu pro genovou expresi

ložka cytoskeletu



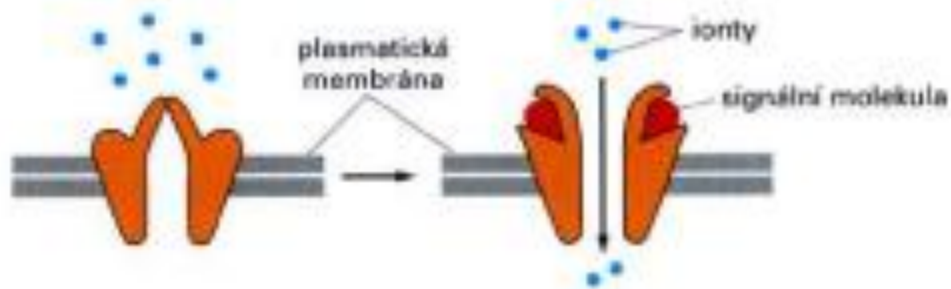
Hlavní třídy povrchových membránových receptorů

a) spojené s iontových kanálem

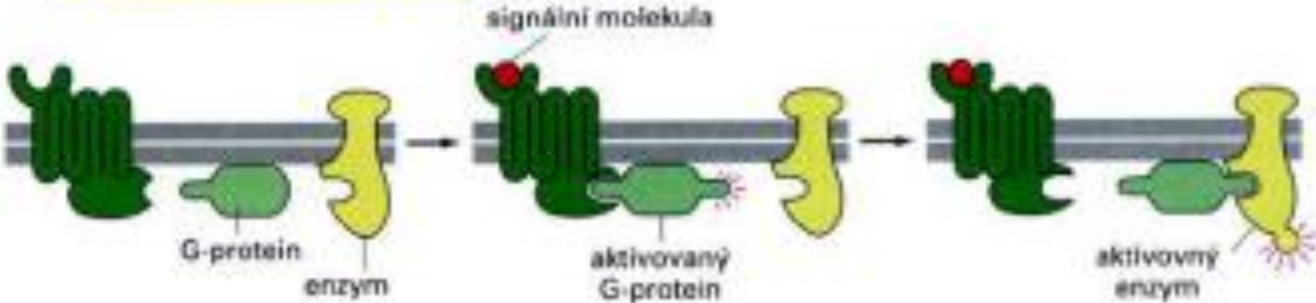
b) vázané s G-proteiny

c) vázané na enzym

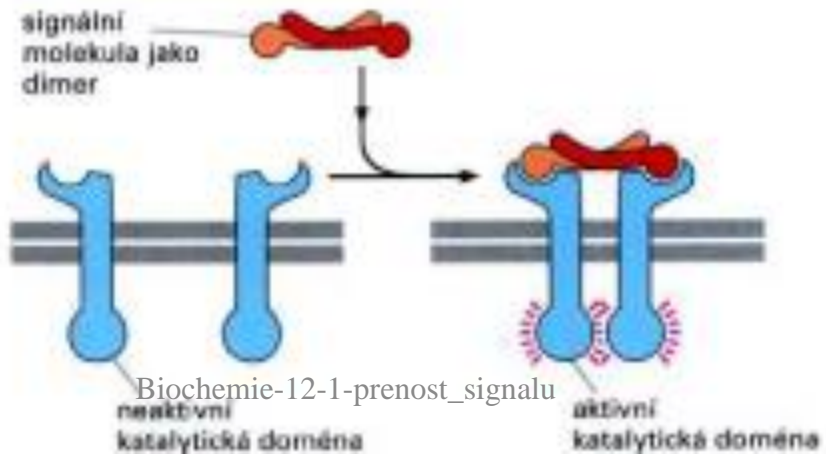
(A) receptory spojené s iontovým kanálem



(B) receptory vázané na G-protein



(C) receptory vázané na enzym



Hlavní typy membránových/povrchových receptorů

I. Receptory - iontové kanály (ROC, ligand-gated channels) jsou pouze receptory pro některé neurotransmitery (iontové kanály ovládané neurotransmitery)

II. Receptory interagující s G-proteiny (heterotrimerními)

III. Receptory vázané na enzym

IIIa. Receptory kooperující s nereceptorovými tyrosinkinázami

(např. JAK) – receptory pro somatotropin (GrH), prolaktin, erythropoetin,

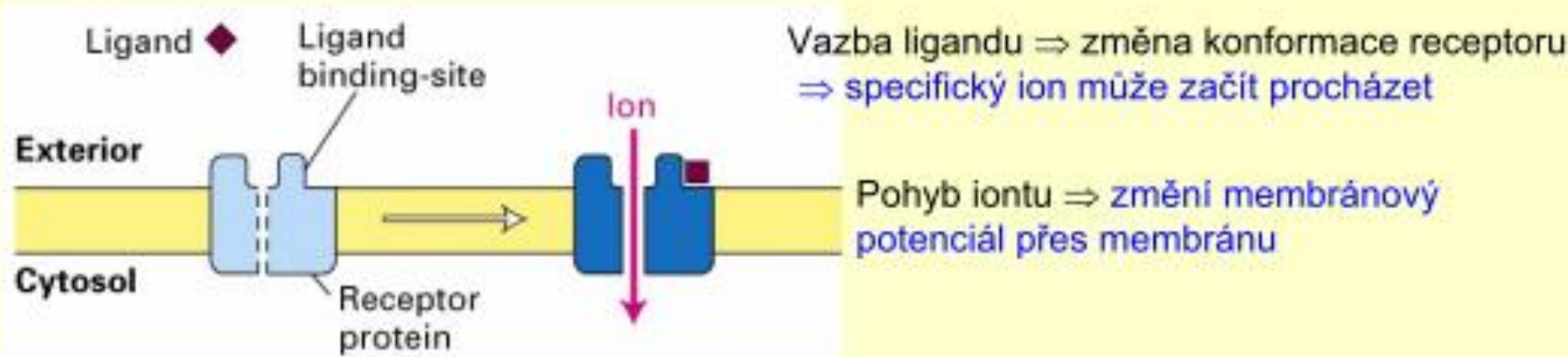
interferony, interleukiny a jiné cytokiny.

IIIb. Receptory s vlastní katalytickou aktivitou

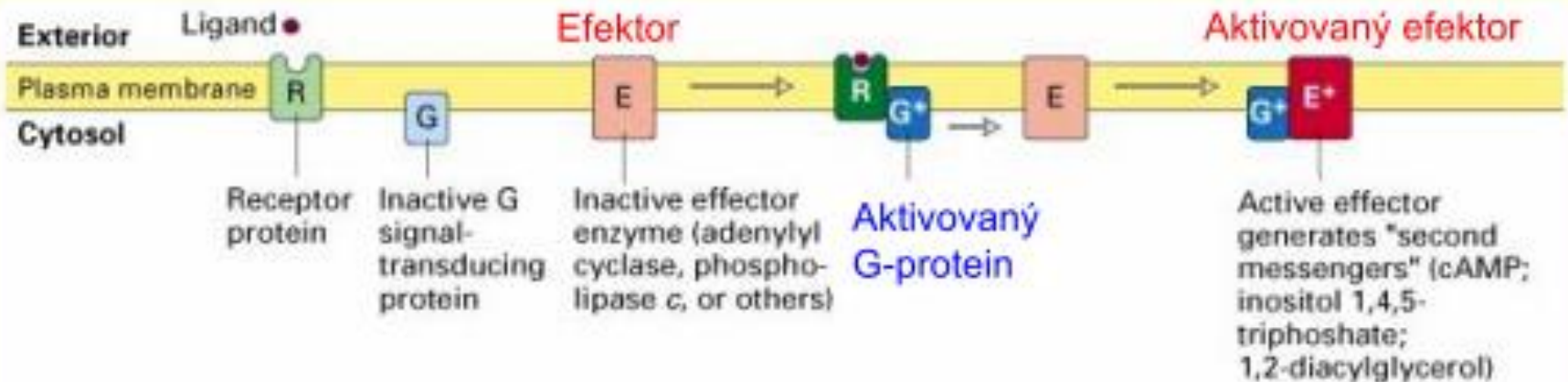
a) **guanylátcyklázovou**

b) **proteinkinázovou**

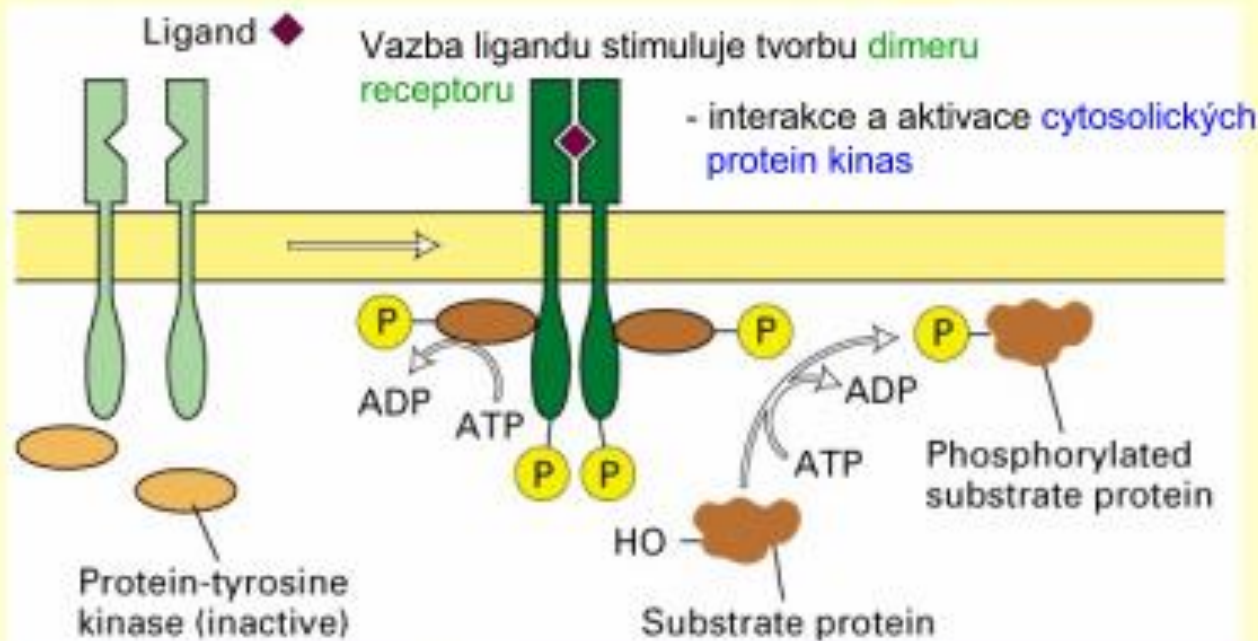
I. Receptory - iontové kanály (acetylcholin) jsou pouze receptory pro některé neurotransmitery (iontové kanály ovládané neurotransmitery)



II. Receptory interagující s G-proteiny (epinefrin, glukagon, serotonin)



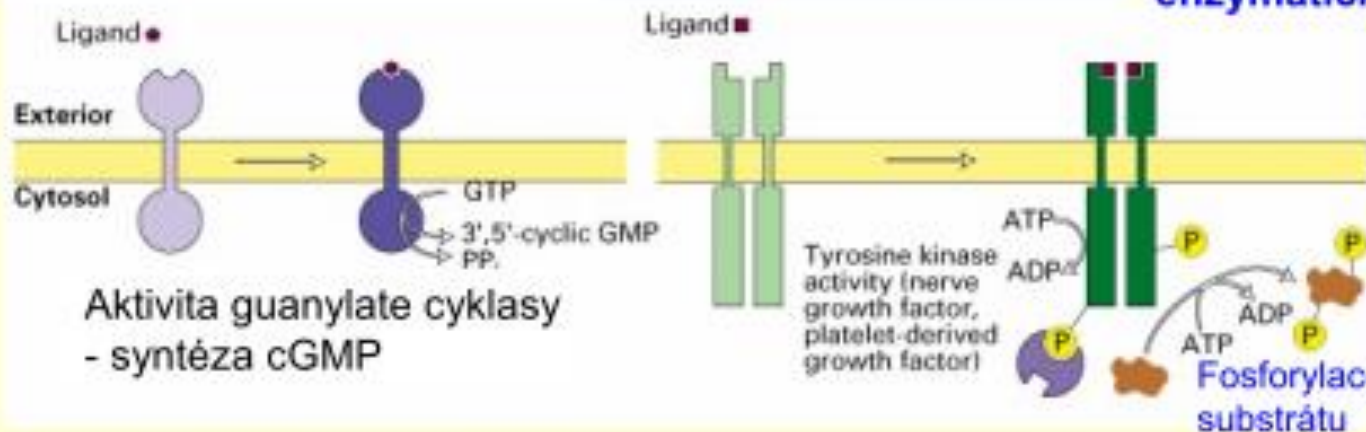
3. Tyrosine-kinase linked receptors (erythropoietin, interferons) - cytokine-receptor superfamily



Receptor nemá enzymatickou aktivitu

4. Receptory s vnitřní enzymatickou aktivitou

Vazba ligandu - stimuluje enzymatickou aktivitu receptoru



Protein kinasová aktivita (př. receptory pro insulin, růstové faktory) po dimerisaci vyvolané vazbou ligandu:

- Protein-fosfatasová aktivita

Receptor-tyrosine kinases (RTKs)

Neurotransmitery (mediátory)

Komunikace mezi:

- nervovou buňkou a nervovou buňkou
- nervovou buňkou a svalem
- nervovou buňkou a tkání

se uskutečňuje na **synaptických spojích** (synapsích)
pomocí neurotransmiterů

Příklady neurotransmiterů

Působení v:	Název	typ	Chemický typ
CNS	glutamát	excitační	aminokyselina
	acetylcholin		Derivát AK
	dopamin		Derivát AK
	serotonin		Derivát AK
	histamin		Derivát AK
	aspartát		aminokyselina
	noradrenalin		Derivát AK
	GABA	inhibiční	Derivát AK
	glycin		aminokyselina
Periferní NS	acetylcholin	excitační	Derivát AK
	noradrenalin		Derivát AK

Neurotransmitery

Známo více než 30 různých neurotransmiterů (**aminokyseliny**, **biogenní aminy** vzniklé jejich přeměnou, nebo nepříliš velké **peptidy**).

Příklady:

v centrálním nervovém systému

inhibiční **GABA** (minim. 50 % všech synapsí)

glycin (převažuje v míše)

excitační **glutamát** (více než 10 %)

acetylcholin (kolem 10 %)

dopamin (kolem 1 %, ve striatu 15 %)

serotonin

histamin

aspartát

noradrenalin

(méně než 1 %, v hypotalamu 5 %)

adenosin

neuromodulační **endorfiny** a **enkefaliny**,

endozepiny, delta-spánek navozující peptid

ad.

v periferní části systému

– eferentní neurony

excitační **acetylcholin**

noradrenalin

– aferentní primární senzorické

excitační glutamát

(A β vlákna, hmatová)

substance P (peptid)

(C a A δ vlákna, nociceptivní)

Nervový systém – přenos signálu pomocí neurotransmiterů

Integrace a přenos nervových podnětů prostřednictvím neuronů



Dráždění nervové buňky - elektricky, chemicky, mechanicky



nervový podnět (akční potenciál)



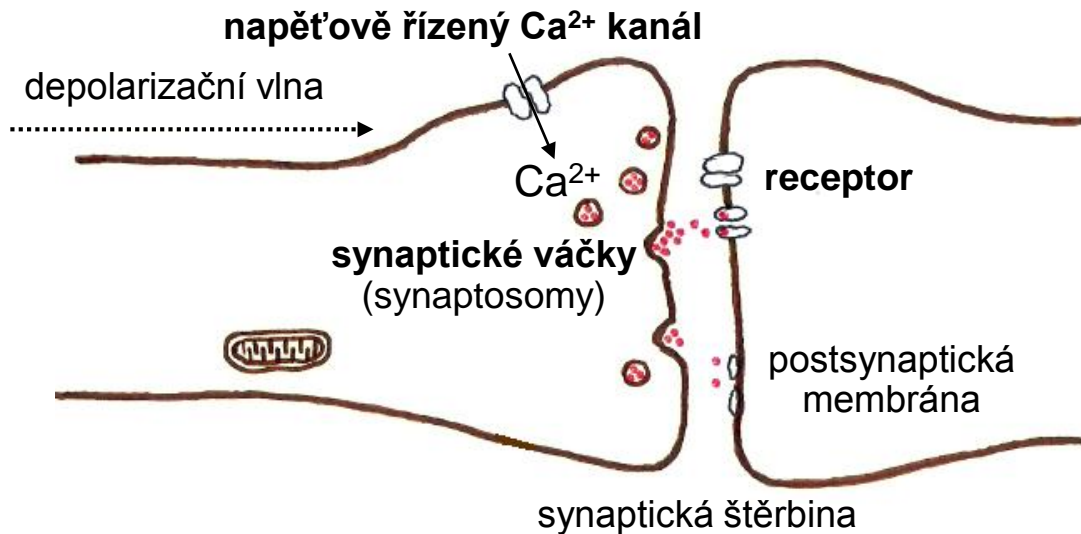
vedení signálu do nervového zakončení



uvolnění synaptického neurotransmiteru

Synapse – obecné schéma

Neurotransmitery - **chemické signály**, umožňují převod nervového vzruchu mezi neurony nebo mezi neuronem a cílovou buňkou

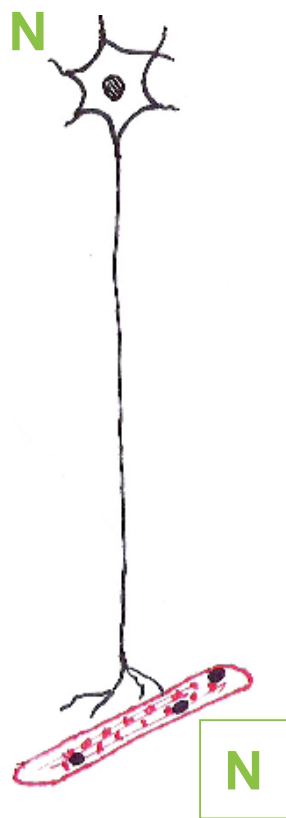


Neurotransmitery se vážou na **membránové receptory**:

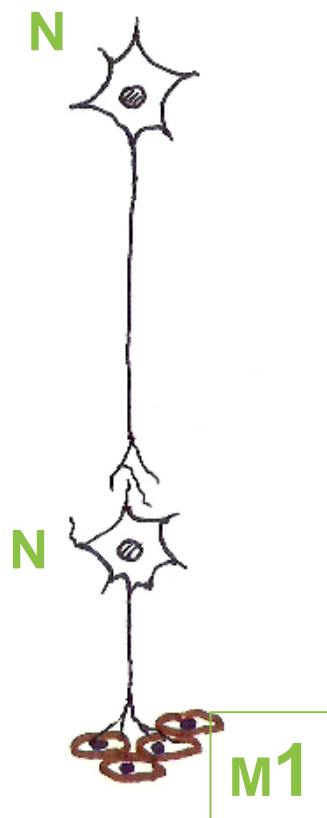
Dva typy receptorů:

- Neurotransmitter se váže k **iontovému kanálu (ionotropní receptor)** → elektrický signál (neuron – neuron, neuron – kosterní sval)
- Neurotransmitter se váže k **membránovému receptoru, který generuje druhého posla (metabotropní receptor)** → chemický signál (např. hladký sval)

Acetylcholinové (cholinergní) receptory v periferních eferentních neuronech



Rhabdomyocyty
(**kosterní svaly**)



Parasympatikem **Sympatikem**
inervované buňky cílových tkání



N-nikotinový
M-muskarinový

Postgangliové neurony
sympatické dráhy jsou
téměř vždy **adrenergní**

**Adrenergní
receptory**

Sekvence dějů

- Po **navázání acetylcholinu** se receptor stává iontovým kanálem pro Na^+
- Na^+ proudí dovnitř buňky
- buněčná **membrána se depolarizuje** – potenciál se stává kladnějším
- otevírají se **potenciálově závislé iontové kanály pro Na^+**
- Na^+ proudí těmito kanály do buňky
- potenciál se přechodně mění ke kladným hodnotám (depolarizace)
- současně stoupá vodivost pro K^+ v opačném směru (repolarizace)

Membránové receptory neurotransmiterů

Ionotropní receptory - ligandem řízené iontové kanály (ROC), např.

excitační **acetylcholinový nikotinový** - kanál pro Na^+/K^+ ,
glutamátový (CNS, některé aferentní sensorické neurony) - kanál pro $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{Ca}^{2+}$,
inhibiční **receptor GABA A** (CNS) - kanál pro Cl^-

Metabotropní receptory aktivující G-proteiny, např.

protein **G_s** adrenergní $\beta 1$ a $\beta 2$, receptor GABAB, dopaminový D1,
protein **G_i** adrenergní $\alpha 2$, dopaminový D3,
acetylcholinový muskarinový M2 (otvírá též K^+ kanál),
protein **G_q** acetylcholinový muskarinový M1, adrenergní $\alpha 1$.

I. Receptory typu iontových kanálů

Receptory typu iontových kanálů se vyskytují na **synapsích**, jejich ligandy jsou **neurotransmitery**.

Signalizace pomocí těchto receptorů je velmi rychlá (řádově milisekundy), uplatňují se na spojeních nerv-nerv nebo nerv-sval.

Neurotransmitery jsou v klidovém stavu uchovávány ve vezikulách na zakončení axonu a po stimulaci se exocytózou uvolňují. Jejich difuze k receptorům probíhá rychle, protože se jedná o malé molekuly a pohybují se na krátkou vzdálenost. Afinita neurotransmiterů k receptorům je relativně nízká, což umožňuje rychlou disociaci, jakmile jejich koncentrace v synaptické štěrbině poklesne. Toto rychlé ukončení signálu je typické pro systémy vyžadující rychlou odpověď v cílové buňce.

Po navázání neurotransmiteru na receptor dojde k jeho konformační změně, která umožní pronikání iontů kanálkem ve struktuře proteinu. Tok iontů přes kanál mění membránový potenciál. Při influxu kationtů se membrána depolarizuje a dochází k excitaci, při influxu aniontů se membrána hyperpolarizuje, dochází k inhibici přenosu nervového vzruchu.

Typy iontových kanálů

Excitační	Inhibiční
Acetylcholinový, nikotinového typu (Na^+)	GABA _A (Cl^-)
L-Glutamátový a L-aspartátový (Na^+ , K^+ , Ca^{2+})	Glycinový (Cl^-)**
L-Glutamátový NMDA* (Ca^{2+} , vysoce propustný)	

*agonista N-methyl-D-aspartát;

**tetanus toxin inhibuje uvolňování Gly z presynaptických zakončení, strychnin působí jako blokátor glycinového kanálu

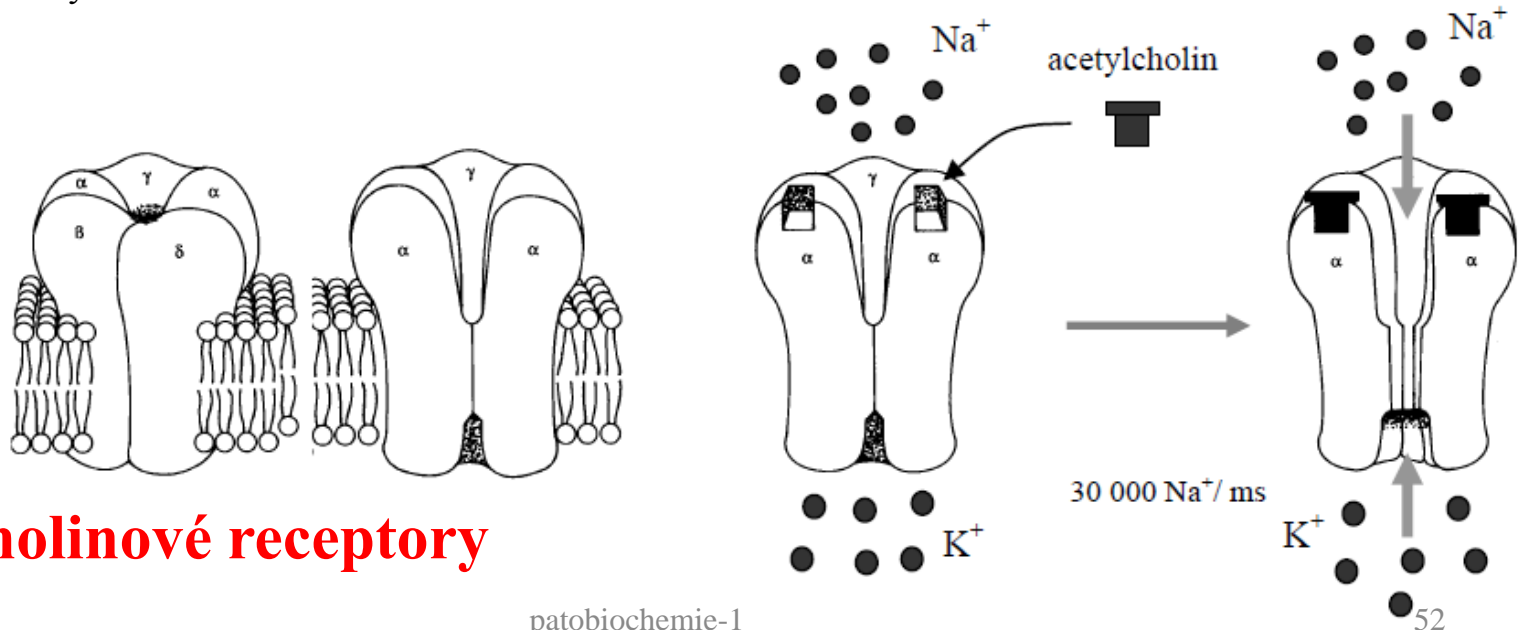
Receptory hlavních neurotransmiterů

Vyskytuje se **na nervosvalovém spojení kosterního svalu a v dendritech téměř všech periferních eferentních neuronů**. Skládá se z pěti podjednotek (2 α , β , γ a δ) penetrujících membránou.

Acetylcholin je syntetizován v presynaptické oblasti neuronu z acetyl-CoA a cholinu a před uvolněním je skladován ve vezikulách uložených v blízkosti aktivní zóny presynaptické membrány. Membrána má rovněž napěťově řízené Ca^{2+} -kanály, které se otevírají, jakmile se na membránu rozšíří akční potenciál. Zvýšená hladina Ca^{2+} v zakončení neuronu aktivuje Ca^{2+} -dependentní proteinkinasu, která fosforyluje synapsin a jiné proteiny, čímž vyvolá fúzi vezikul s plazmatickou presynaptickou membránou a uvolnění acetylcholinu do synaptické štěrbině. **Acetylcholin se váže ke dvěma podjednotkám α , jeho vazba vyvolá změnu konformace a krátkodobý influx sodných iontů do buňky a draselných ven z buňky.**

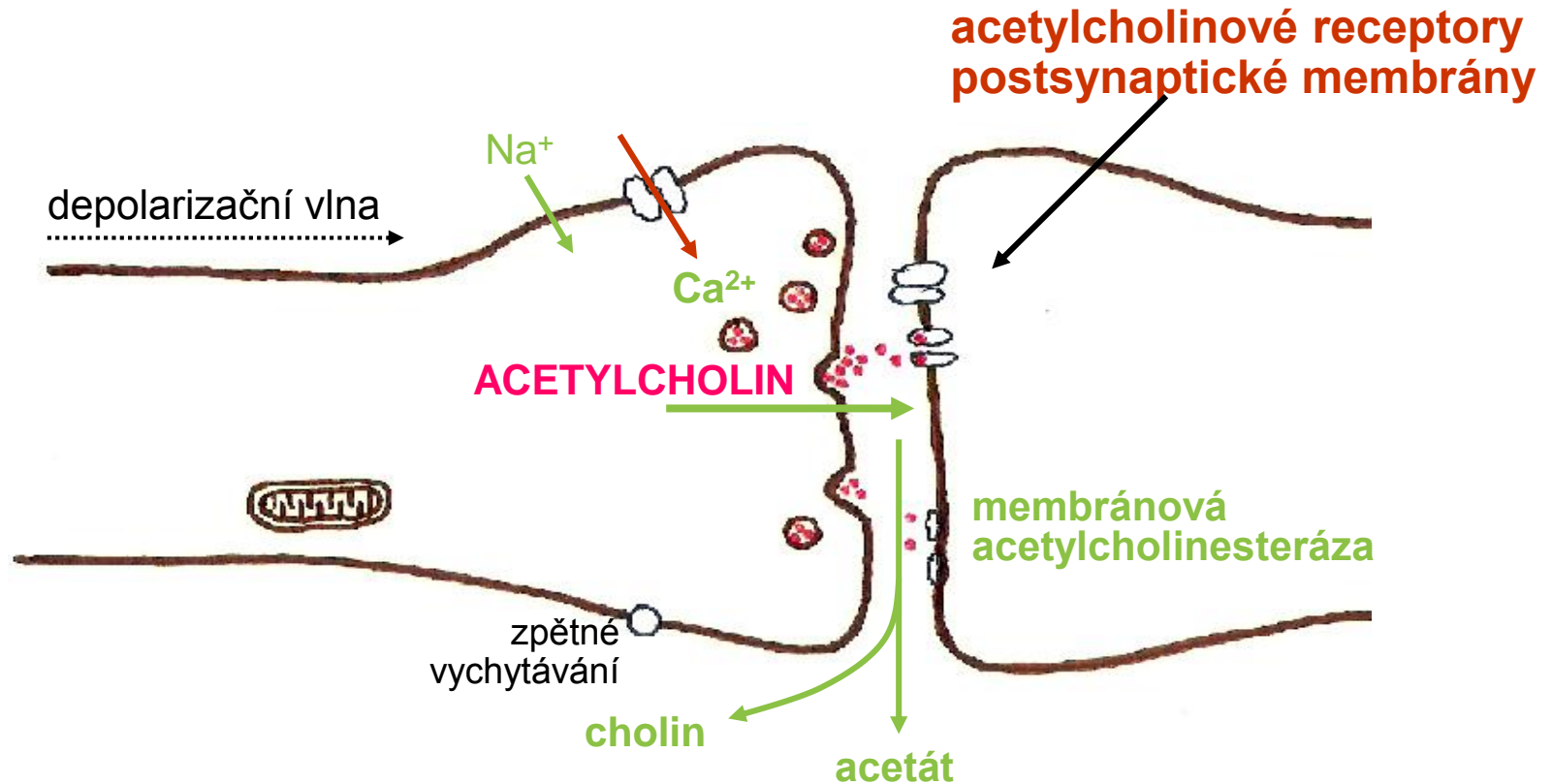
To způsobí depolarizaci postsynaptické membrány a je-li dosaženo prahové hodnoty, otevírají se potenciálově závislé kanály pro Na^{+} a vzniká **akční potenciál**.

Jakmile sekrece acetylcholinu ustane, jeho koncentrace ve štěrbině poklesne a přestane se vázat na receptory. Acetylcholin je rozložen účinkem **acetylcholinesterasy**, která je vázána na povrchu postsynaptické membrány.



Acetylcholinové receptory

Cholinergní synapse (mediátor je acetylcholin)



V nervosvalové ploténce jeden nervový vzruch uvolní přibližně 300 váčků, v jednom je asi 40 000 molekul acetylcholinu; koncentrace acetylcholinu v synaptické šterbině vzrůstá až 10 000x. Mediátor je rychle hydrolyzován acetylcholinesterázou.

Acetylcholinové receptory

nikotinové a muskarinové.

Nikotinové cholinergní receptory

jsou **acetylcholinem** řízené **kanály pro Na^+/K^+** :

v periferní části nervového systému se nacházejí

- v dendritech téměř všech periferních eferentních neuronů (včetně adrenergních), a
- v sarkolemmě buněk kosterních svalů, v nervosvalové ploténce.

Muskarinové cholinergní receptory

M1-M5

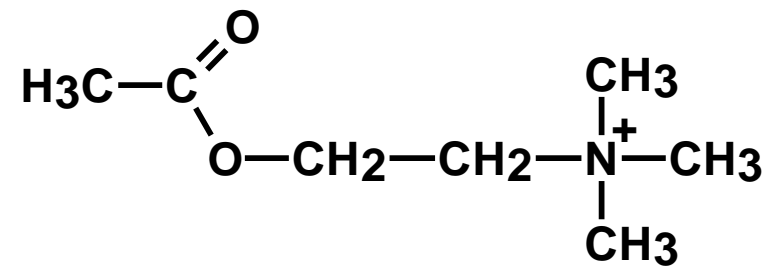
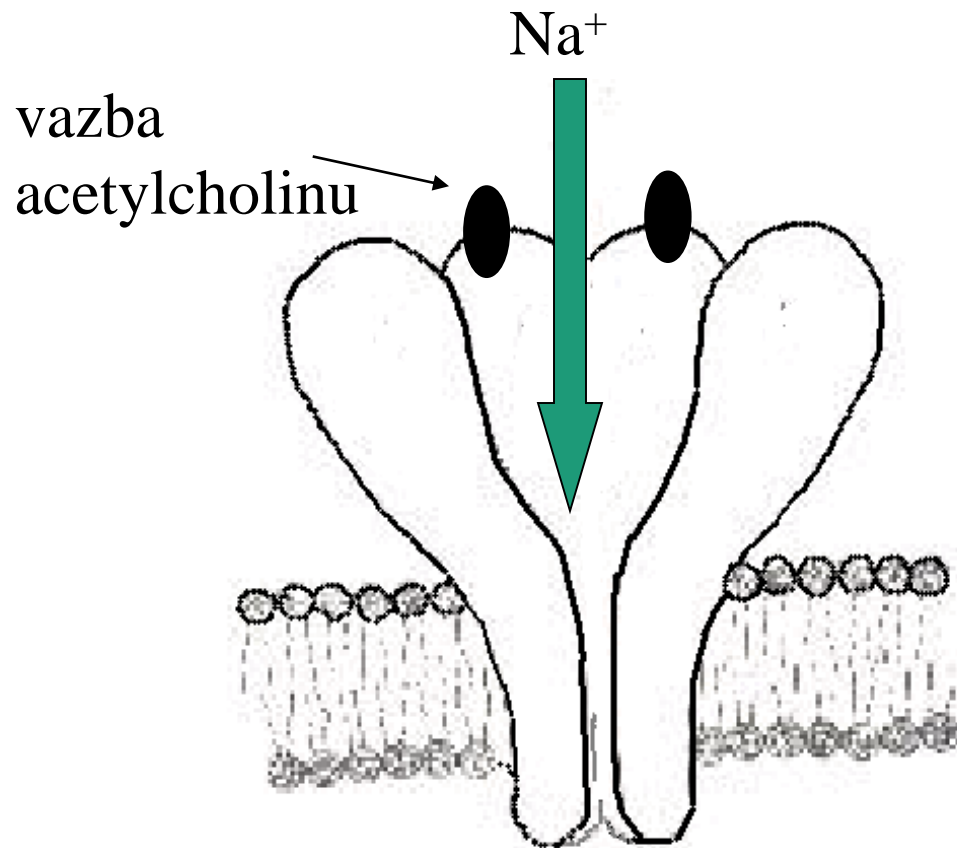
Metabotropní, působí přes G-proteiny (viz dále)

Receptory hlavních neurotransmiterů

Acetylcholinové receptory

Receptor	Nikotinový	Muskarinové
		M ₁ , M ₃ M ₂
Mechanismus účinku	Iontový kanál	G _q G _i
Druhý posel		DG + IP ₃ cAMP
Výskyt	<ul style="list-style-type: none"> • neurony autonomních ganglií, • nervosvalová ploténka, • chromafinní buňky dřeně nadledvin 	<ul style="list-style-type: none"> • mozek, • hladký sval, • žlazové buňky • myokard, • mozek
Blok receptoru	tubokurarin	atropin

Acetylcholinový receptor nikotinového typu – ionotropní receptor

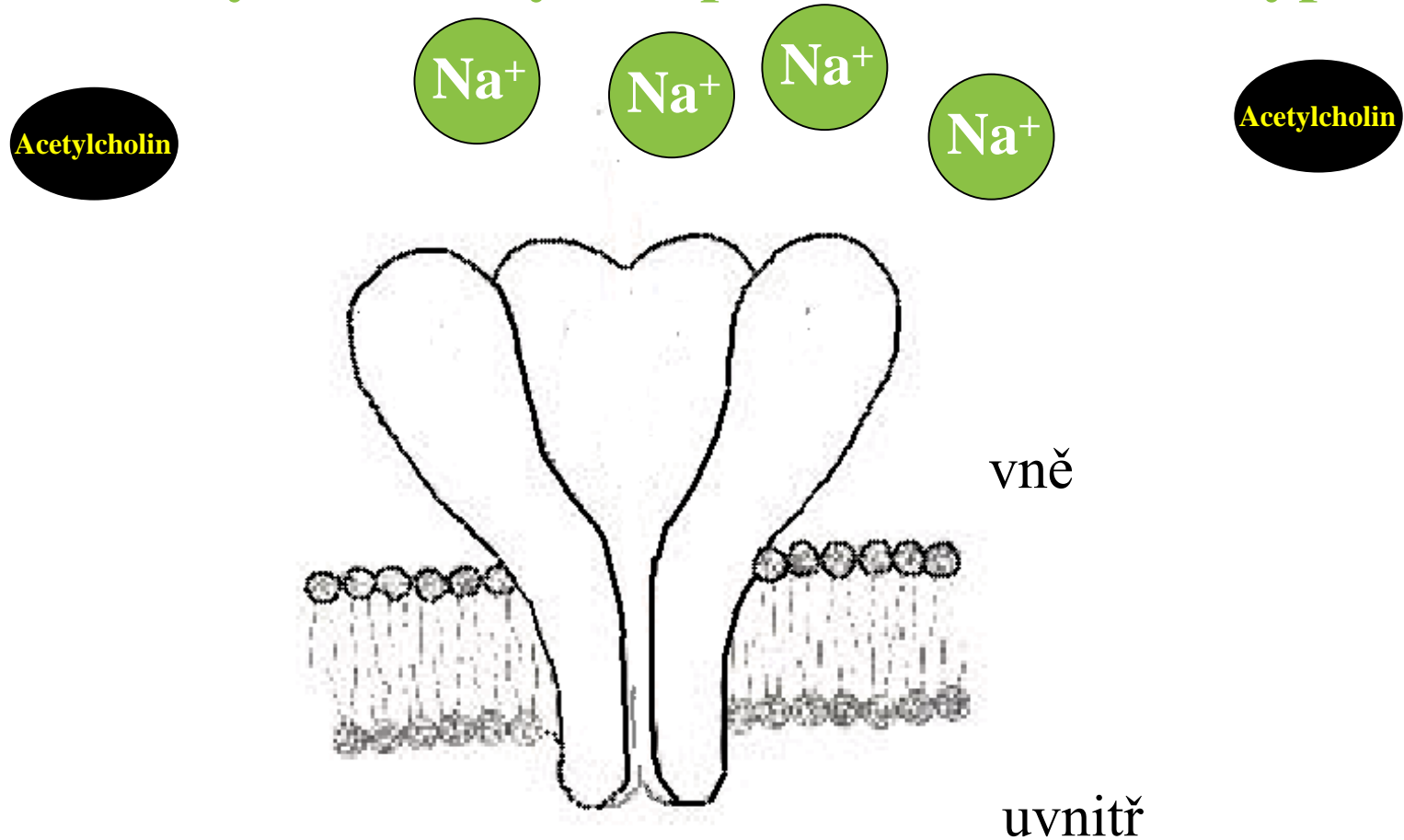


acetylcholin

TEST

Výskyt: např. neuromotorická ploténka v buňkách kosterního svalu, zakončení pregangliových neuronů.

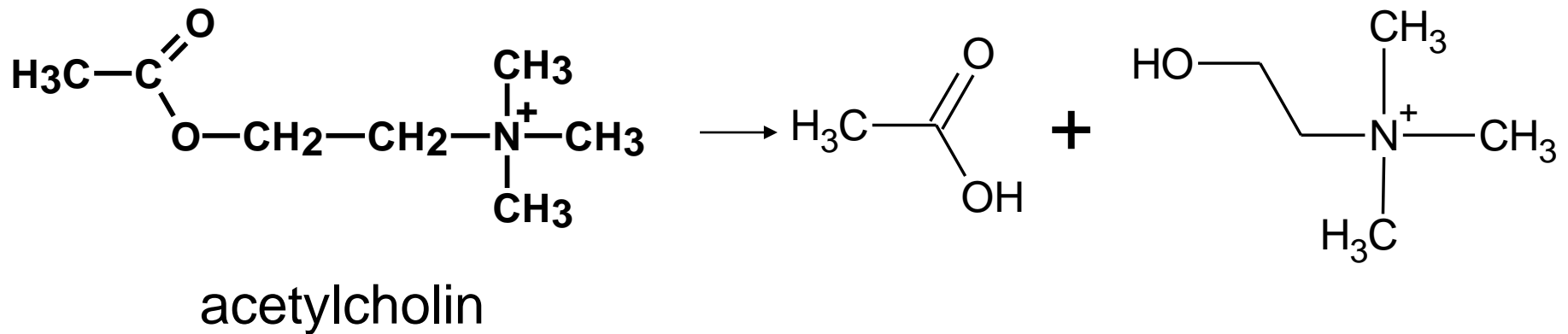
Acetylcholinový receptor nikotinového typu



- navázání ligandu na receptor otevře kanál pro Na⁺ ionty
- Na⁺ proudí kanálem po koncentračním spádu

Degradace acetylcholinu

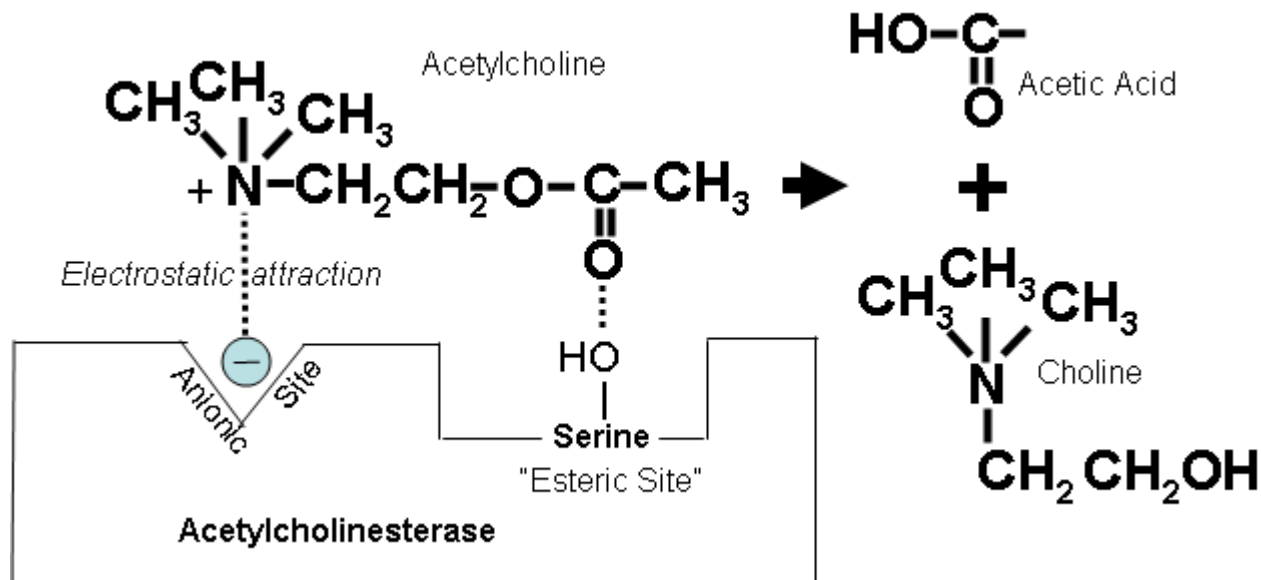
- krátce po navázání na receptor je acetylcholin odbourán
- enzym *acetylcholinesterasa* jej štěpí na cholin a kyselinu octovou



TEST

Acetylcholinesterasa

- Hydrolýza acetylcholinu na acetát a cholin
- Je serinovou hydrolázou



Inhibitory acetylcholinesterasy

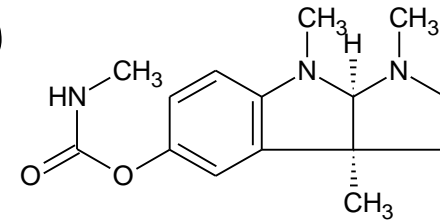
- prodlužují účinek acetylcholinu

irreversibilní (nevratné) inhibitory - organofosfáty -
insekticidy, herbicidy, bojové chemické látky
organofosfáty (diisopropylfluorofosfát, soman, sarin)

reversibilní (vratné) inhibitory

používají se jako léčiva- např. při *myastenia gravis*
(*autoimunitní onemocnění - protilátky*)

karbamáty - (*fyzostigmin, rivastigmin, neostigmin*)



fyzostigmin

botulotoxin (*Clostridium botulinum*) inhibuje uvolnění
acetylcholinu

Myastenia gravis

Při chorobě *myastenia gravis* produkují T- a B-lymfocyty protilátky proti acetylcholinovým receptorům v kosterním svalu. Protilátky se váží na receptor za vzniku komplexů receptor-protilátka.

Komplexy jsou endocytózou odstraněny z membrány a degradovány v lysosomech. V důsledku toho je funkčnost receptorů reagovat s acetylcholinem snížena. Podávání inhibitorů acetylcholinesterasy napomáhá zvýšit účinky acetylcholinu na buňky s omezeným počtem receptorů.

- T- a B-lymfocyty produkují protilátky proti acetylcholinovým receptorům v kosterním svalu
- Protilátky se vážou na receptor (komplex receptor-protilátka)
- Následuje endocytóza a degradace v lysosomech



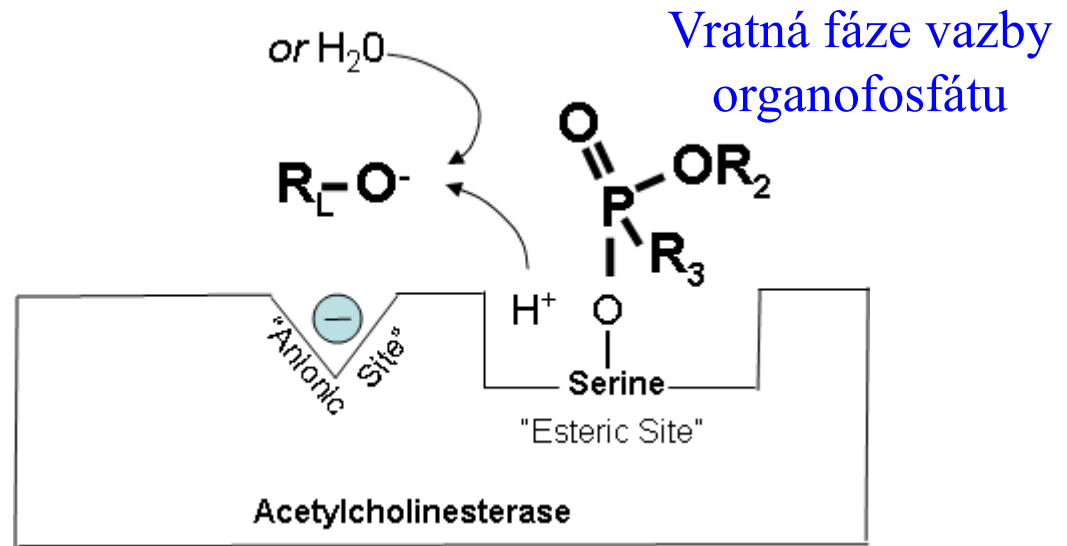
Funkčnost receptorů reagovat s acetylcholinem je snížena → svalová slabost

Podávání inhibitorů acetylcholinesterasy

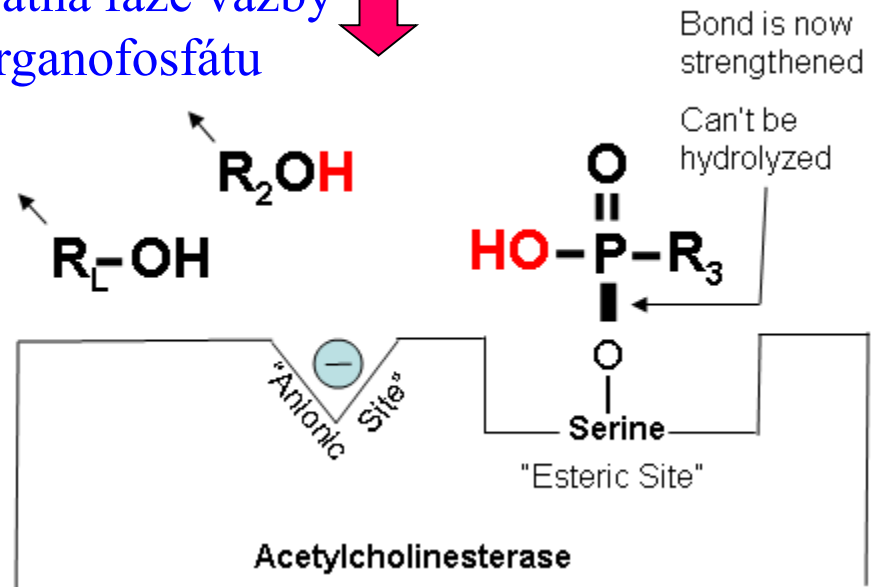
Vazba toxických **organofosfátů** na cholinesterasu probíhá ve dvou fázích:

reversibilní (lze ji ovlivnit reaktivátory)

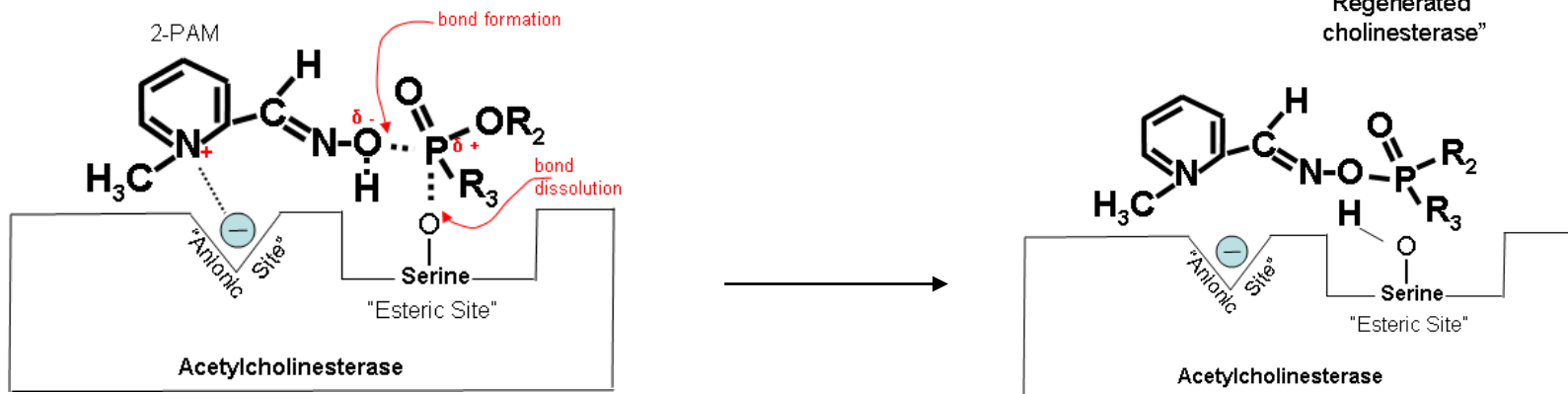
ireversibilní - vznik kovalentní vazby mezi organofosfátem a enzymem



Nevratná fáze vazby organofosfátu



Jak reaktivátory fungují



Regenerace acetylcholinesterasy

Působky reagující s acetylcholinovým receptorem nikotinového typu

D-Tubokurarin - kompetitivní antagonist acetylcholinu, zabraňuje otevření ionoforu (depolarizace nenastává) → paralýza kosterních svalů
pankuronium, vekuronium ad. – myorelaxancia při déle trvajících operacích

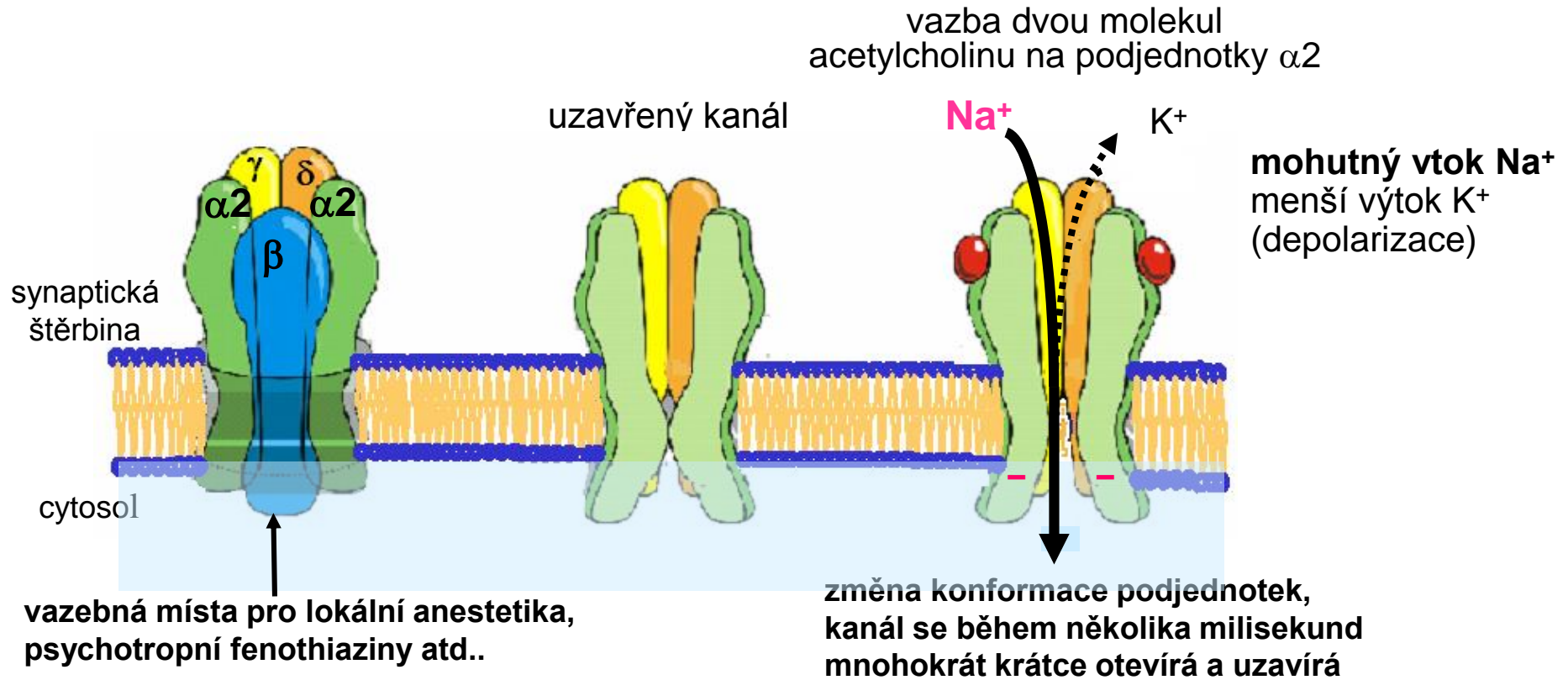
Sukcynylcholin - agonista, váže se déle než acetylcholin a depolarizuje. Přetrvávající depolarizace vede ke ztrátě elektrické dráždivosti membrány. Krátkodobé myorelaxans.

Botulotoxin – proteinový komplex z Clostridium botulinum. Inhibuje uvolnění acetylcholinu z nervového zakončení.

Nikotin - váže se na receptory v periferním, vegetativním nervovém systému, který řídí vnitřní orgány. Zde vyvolává zvýšenou aktivitu trávicího traktu: vzestup produkce slin a trávících šťáv a vzestup aktivity hladké svaloviny. Stoupá také produkce potu a může dojít ke stažení zornice.

Acetylcholinový nikotinový receptor **nikotinového typu**

(např. v nervosvalové ploténce - **Na⁺/K⁺ionofor**: asymetrický pentamer čtyř typů homologních podjednotek penetrujících membránou.



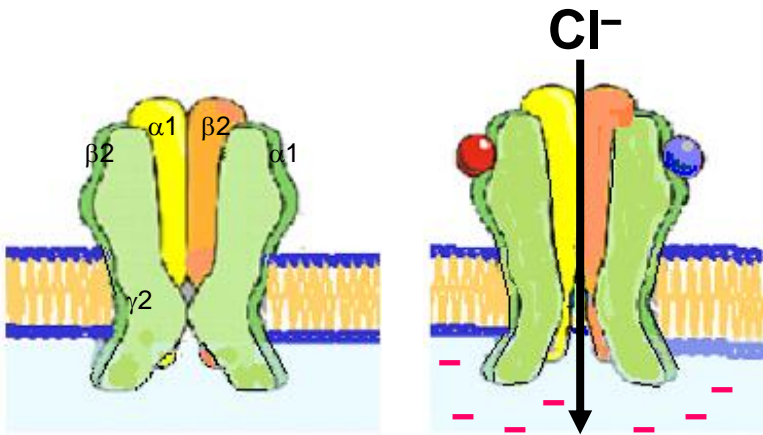
REKAPITULACE

Inhibiční GABA_A receptor

ligandem řízený **chloridový ionofor** (ROC)

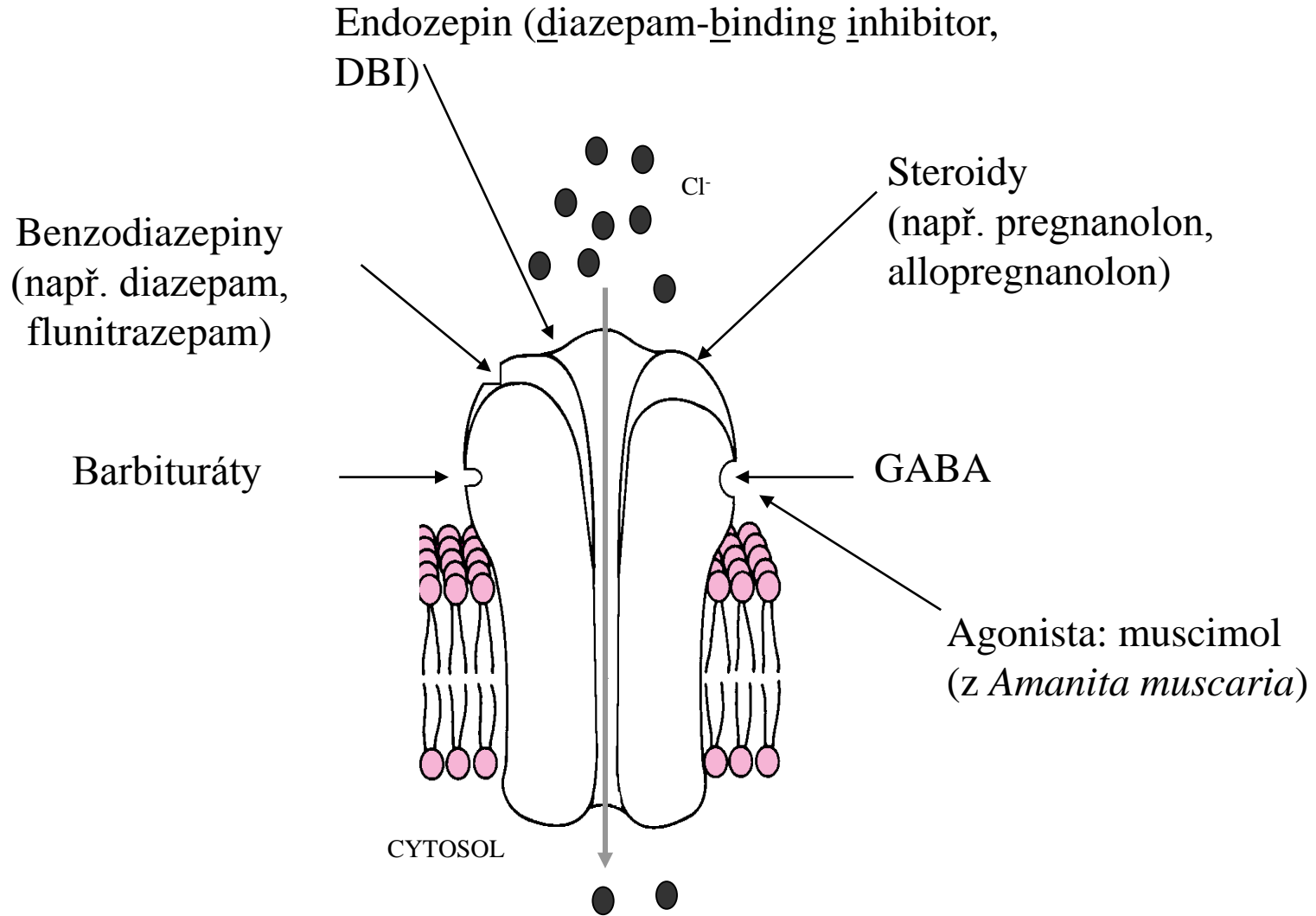
otevřít se interakcí s **γ -aminomáselnou kyselinou (GABA)**.

Vtok iontů Cl^- vyvolá **hyperpolarizaci** postsynaptické membrány, čímž **znesnadní nebo znemožní vznik akčního potenciálu**.



heteropentamer složený ze tří typů podjednotek

Další vazebná místa na GABA receptoru



Další vazebná místa na GABA receptoru

Více než jedenáct **alosterických modulačních míst** pro látky zesilující účín endogenní GABA (zklidnění, omezení úzkosti a myorelaxaci):

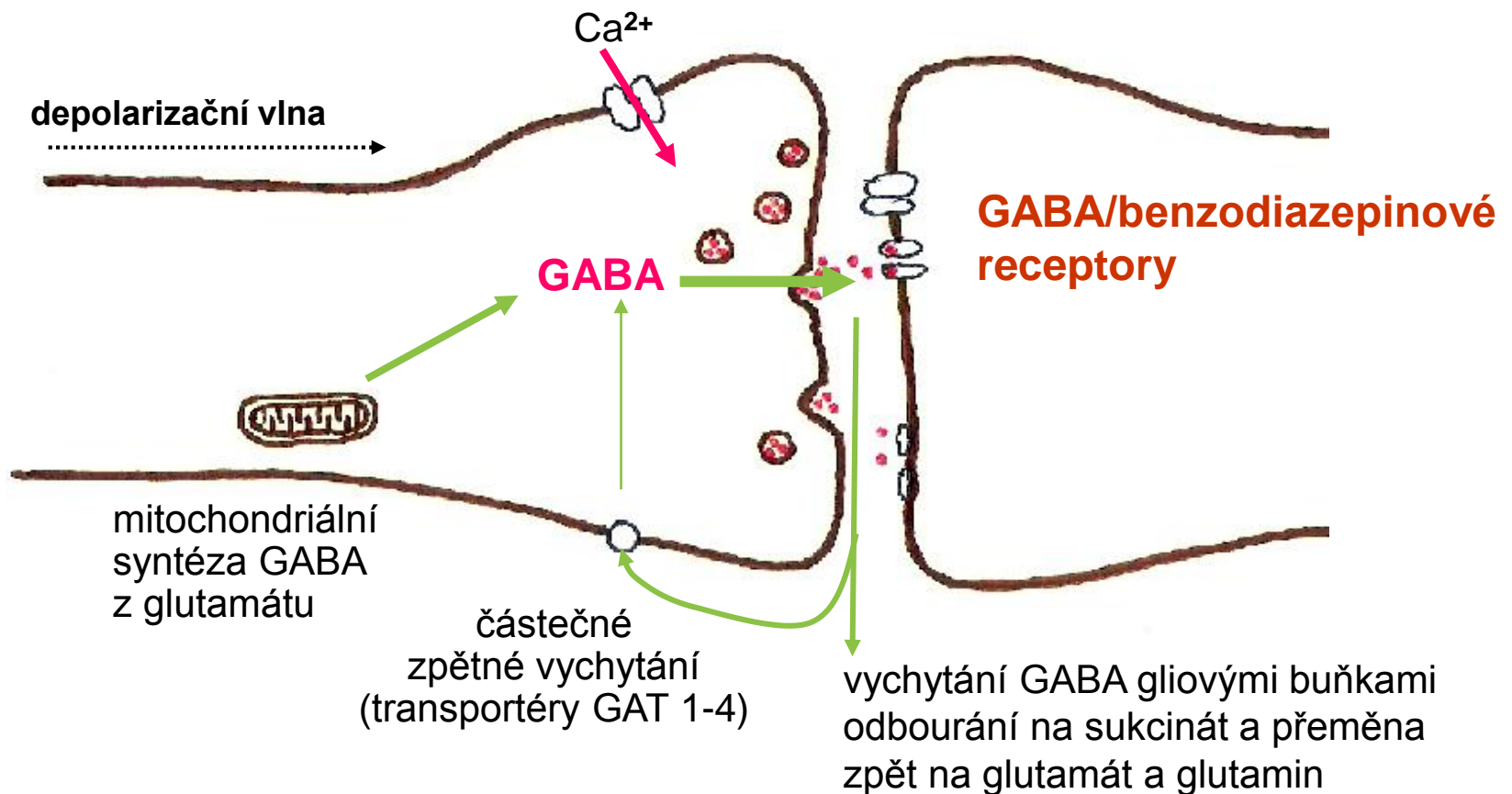
anestetika, ethanol a četná léčiva jako např. benzodiazepiny meprobamat a rovněž různé barbituráty.

Jiné ligandy naopak o benzodiazepinové vazebné místo kompetují nebo účinkují i jako antagonisté GABA (inverzní agonisté), \Rightarrow vyvolávají neklid a úzkost (např. endogenní peptidy zvané endozepiny).

Podobnou funkci jako GABA v mozku má v mozkovém kmenu a míše **glycin**. Inhibiční účinek glycinergních synapsí blokuje alkaloid strychnin, známý křečový jed.

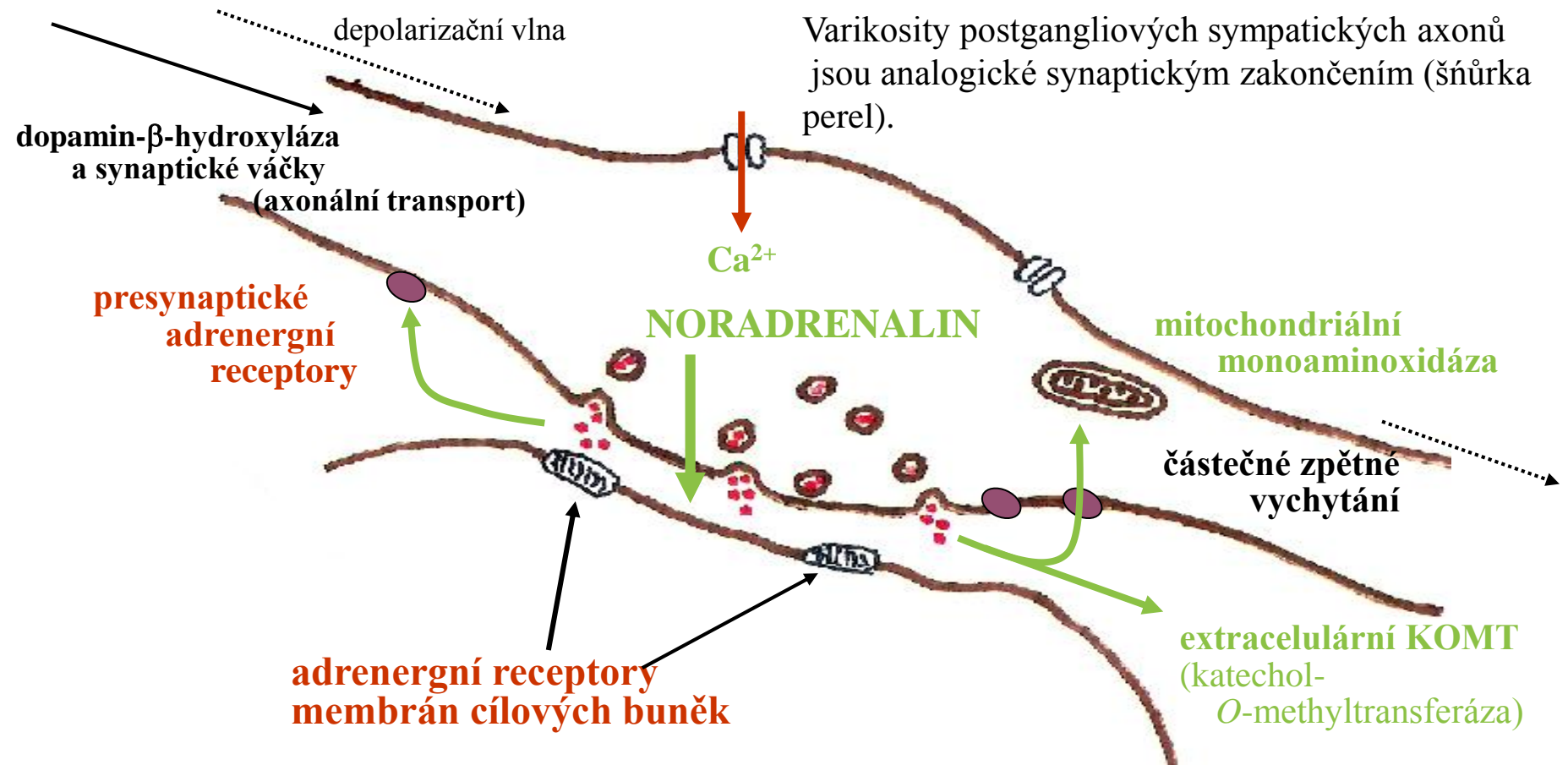
Inhibiční gabaerní synapse

γ -Aminomáselná kyselina (GABA) je hlavním inhibičním neurotransmiterem v CNS. Gabaerní synapse představují kolem 60 % všech synapsí v mozku.



Adrenergní synapse

Neurotransmitterem naprosté většiny postgangliových sympatických neuronů je **noradrenalin**. Na některých nervech může působit i adrenalin.



Adrenergí receptory jsou metabotropní, spolupracují s G-proteiny a produkují druhé posly (viz dále)

Muskarinové cholinergní receptory (jsou metabotropní)

Typ	Princip účinku	Výskyt
M ₁	G _q	ve vegetativních gangliích, CNS, b.exokrinních žláz
M ₂	G _i	v srdci, otevírá K ⁺ -kanály
M ₃	G _q	v hladkém svalu
M ₄	G _i	CNS
M ₅	G _q	CNS

Alkaloid **atropin** je na muskarinových receptorech antagonistou, brání vazbě acetylcholinu.

II. Receptory interagující s heterotrimerními G-proteiny

Společné strukturní rysy RECEPTORU:

Všechny mají **sedm α -helikálních úseků**, které jsou hydrofobní, pronikají membránou a spojují extra- a intracelulární klíčky.

Několik minut

Neurotransmitery

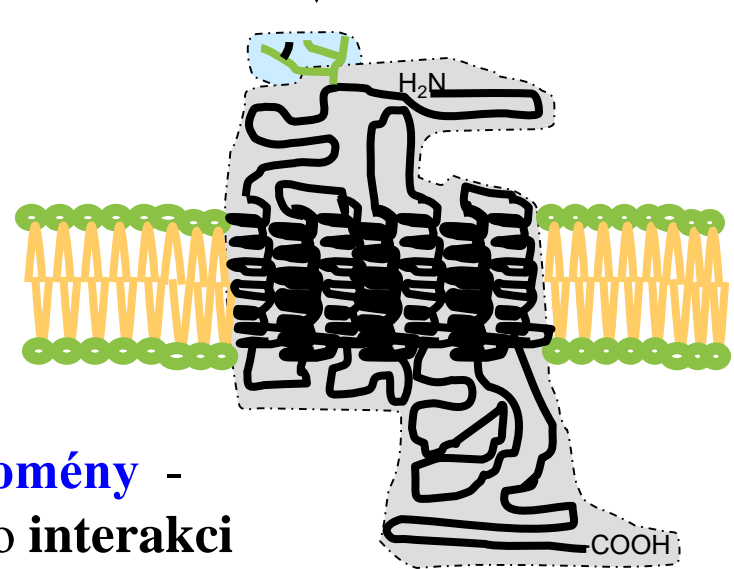
Hormony

Agonista-ligand vyvola transdukcii signálu

Antagonista- zabrání

Intracelulární domény - vazebné místo pro interakci s G-proteinem **jediného určitého typu.**

Vazebné místo pro agonistu (přítomna i vazebná místa pro antagonisty)



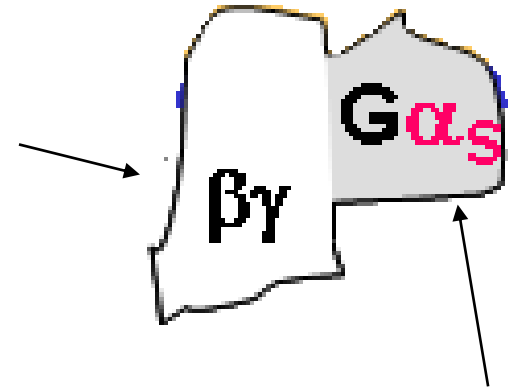
Heterotrimerní G-proteiny

Proteiny vázající GDP nebo GTP

většinou volně navázané na cytoplazmatickou membránu – mohou se pohybovat podél jejího vnitřního povrchu.

Podjednotky α , β a γ .

Podjednotky $G\beta$ a $G\gamma$ jsou hydrofobní a nespecifické.

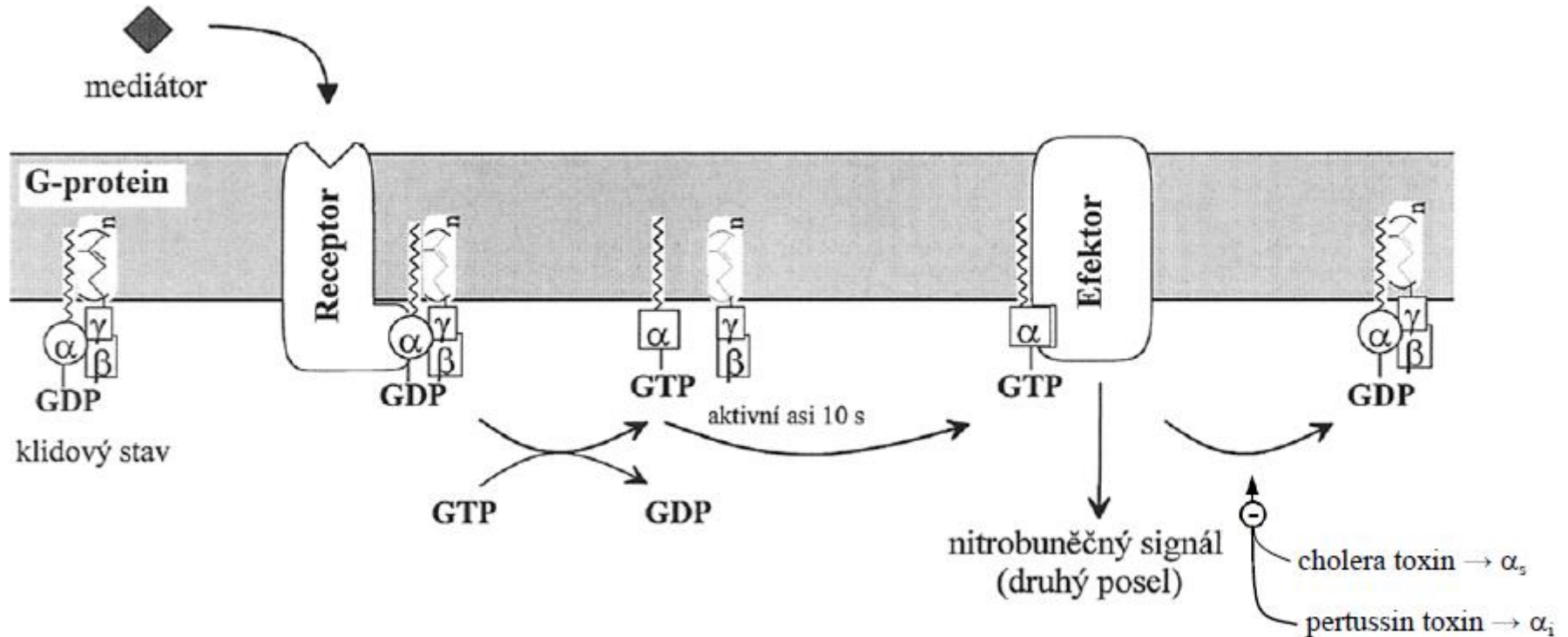


Podjednotky $G\alpha$ jsou největší, vážou GDP nebo GTP a jsou specifické pro každý typ mechanismu transdukce.

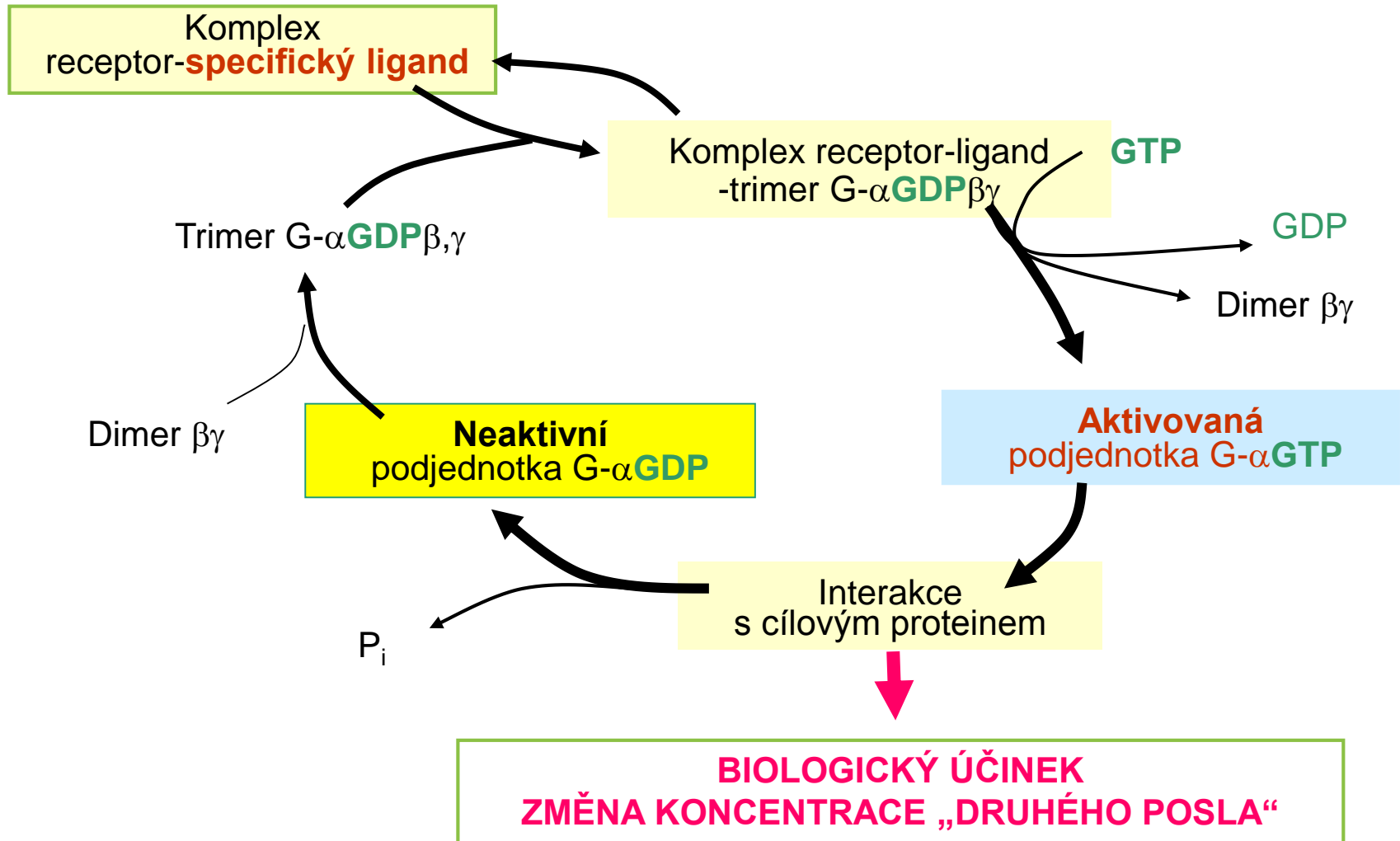
Identifikováno více než 20 druhů různých $G\alpha$ podjednotek.

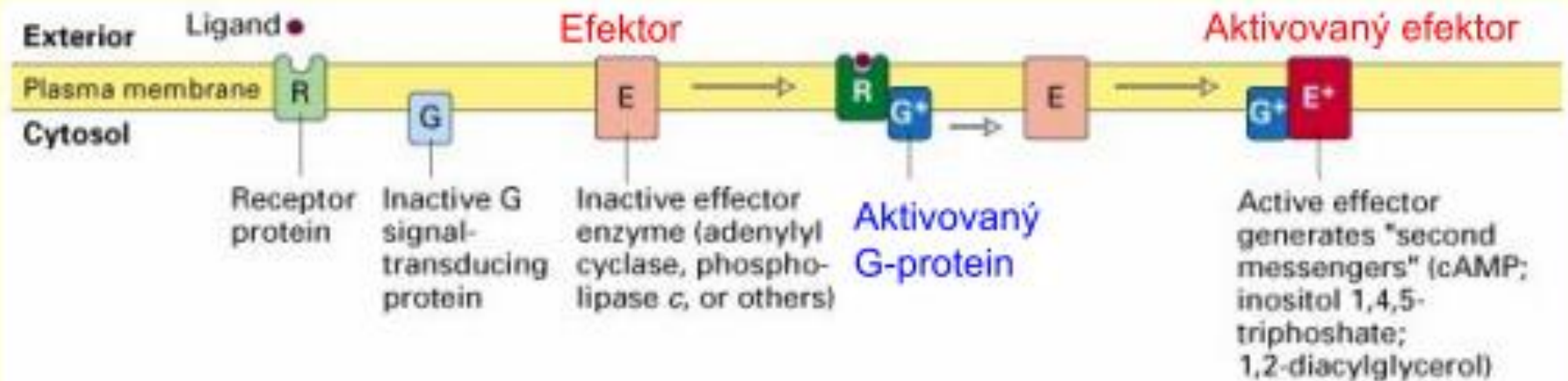
Receptor působící prostřednictvím G-proteinů

(odezva – několik minut, neurotransmitery i hormony)



Cyklus aktivace heterotrimerních G-proteinů interakcí s komplexem receptor-specifický ligand





TEST

Efektor

druhý posel

1. Stimulace adenylátcyklázy (cAMP, Ca²⁺)
2. Inhibice adenylátcyklázy (cAMP, K⁺)
3. Stimulace fosfolipázy C (DG+IP3, Ca²⁺)
4. stimulace fosfodiesterázy štěpící cGMP

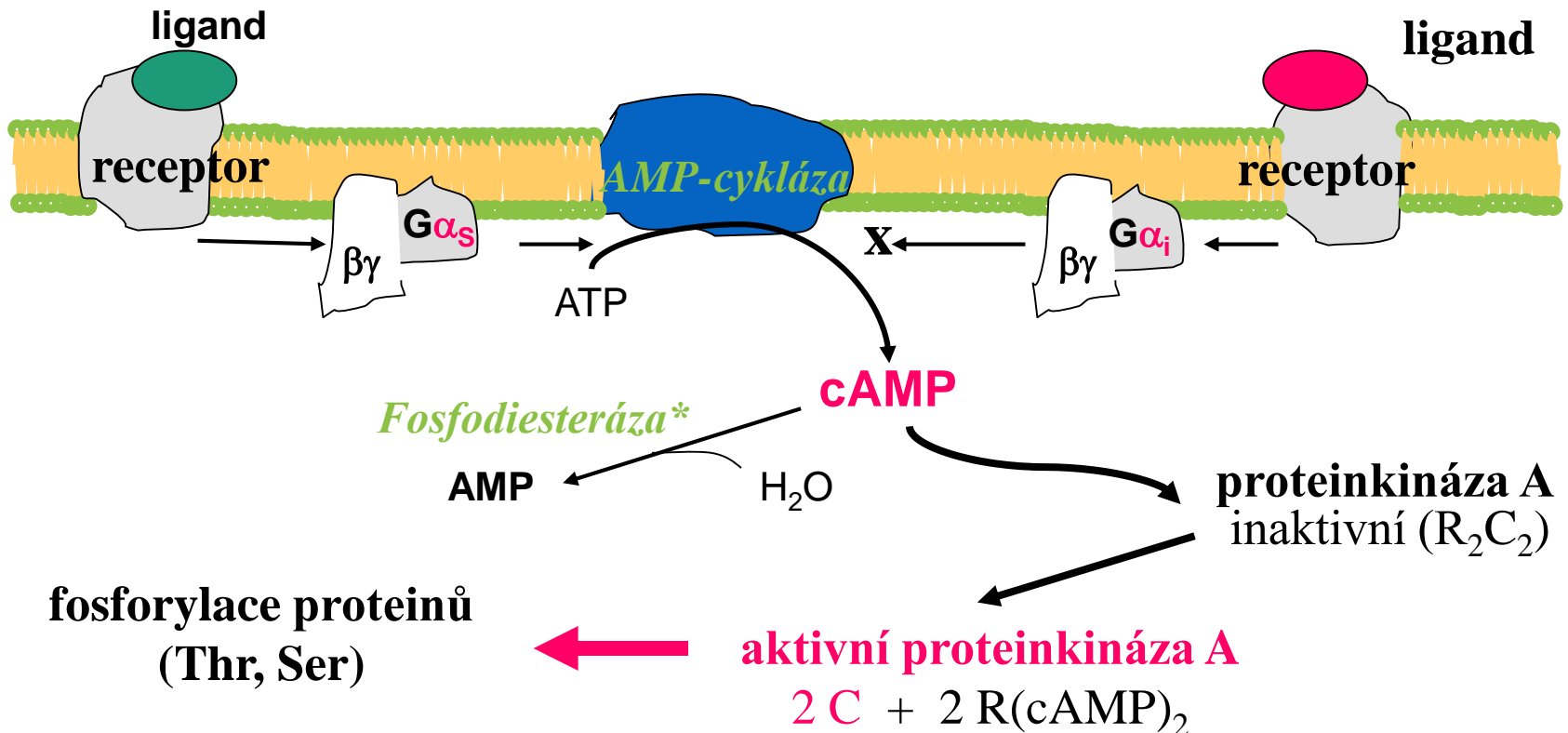
Vybrané typy G-proteinů

Typ podjednotky $G\alpha$	Příklady aktivujícího receptoru	Účinek aktivovaného $G\alpha$ na cílový protein (nitrobuněčný signál)
$G\alpha_s$ (stimulační)	glukagon parathyrin β -adrenergní	stimulace Adenylátcyklázy (cAMP, Ca ²⁺)
$G\alpha_i$ (inhibiční)	somatostatin α_2 -adrenergní	inhibice adenylátcyklázy (cAMP, K ⁺)
$G\alpha_q$ (aktivující PI kaskádu)	vazopresinový V1 endotelinové ETA,B acetylcholinový M1 α_1 -adrenergní	stimulace fosfolipázy C (DG+IP3, Ca ²⁺)
$G\alpha_t$ (inhibiční) (transducin)	rodopsin <small>patobiochemie-1</small>	stimulace fosfodiesterázy štěpící cGMP

Receptory aktivující G_s a G_i stimulují nebo inhibují adenylátcyklázu

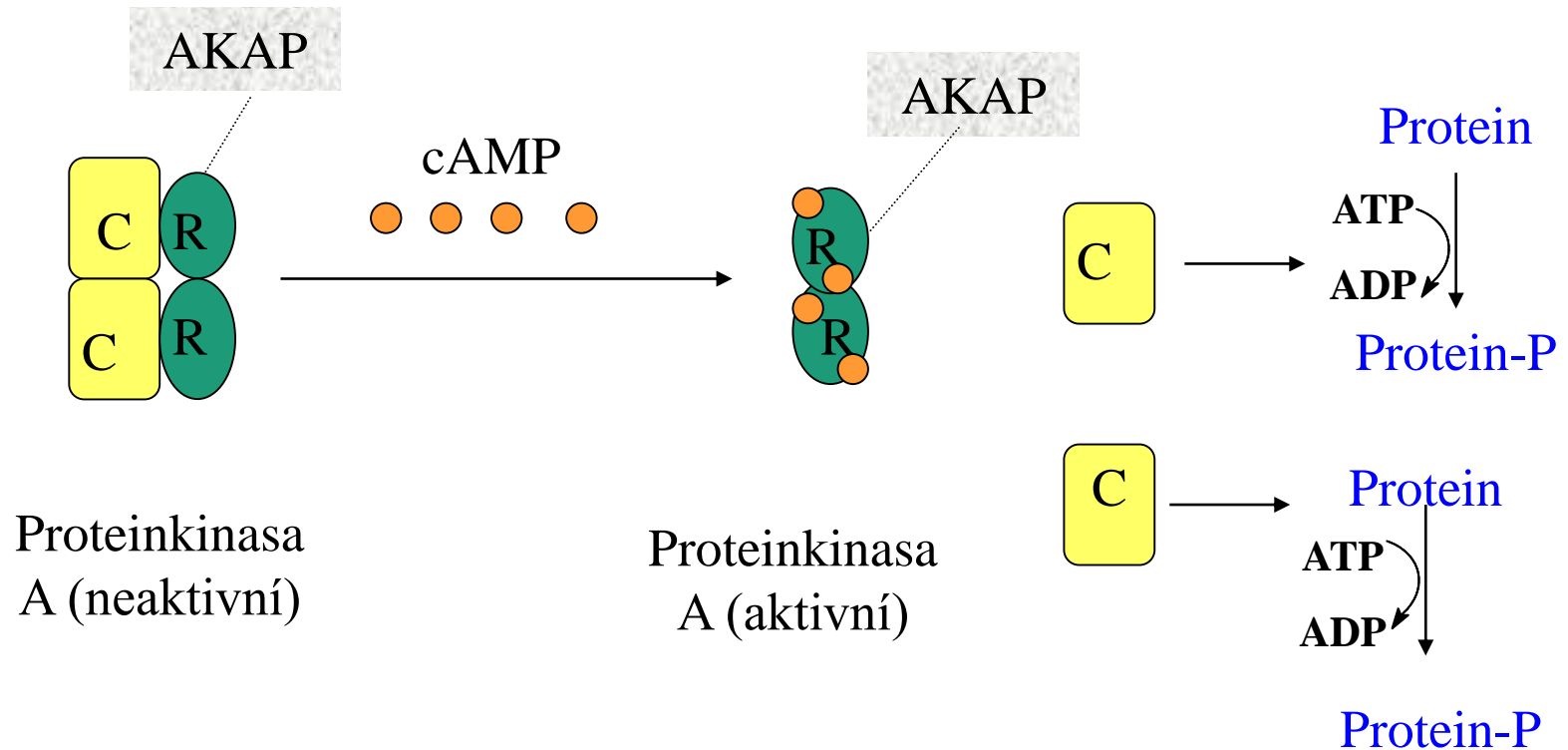
Adenylátcykláza - membránový enzym katalyzující reakci
 $ATP \rightarrow cAMP + PP_i$;

cAMP je druhým poslem.



* Inhibice např. kofeinem,
 theofylinem METHYLXANTINY)

Účinky cAMP v buňkách



Fosforylace proteinů.

V cytoplasmě - nejčastěji metabolické enzymy (rychlá odpověď)

V jádře – fosforylace genově specifického **transkripčního faktoru CREB (cAMP response element-binding protein)** (pomalejší odpověď)

cAMP vykazuje v buňce řadu rozdílných účinků.

Jedním z nejvýznamnějších účinků je **aktivace proteinkinasy A**, která následně fosforyluje řadu metabolických enzymů. Účinky kináz mohou být směřovány k fosforylaci právě určitých proteinů. K tomu slouží specifické proteiny vážící se ke kinázám. V případě proteinkinasy A se jedná o tzv. AKAPs (A kinase anchoring proteins), které slouží jako podpůrná struktura a lokalizují pozici proteinkinasy A poblíž určitého substrátu, který má být fosforylován a zároveň je tak omezena jejich samovolná aktivita.

Proteinkinasa A je heterotetramerní molekula, která se skládá ze dvou regulačních podjednotek a dvou katalytických podjednotek. V inaktivním stavu jsou podjednotky k sobě vázány. cAMP se váže na regulační podjednotky a vyvolává jejich oddělení od katalytických podjednotek, které se tak stávají aktivní a katalyzují přenos fosfátu z ATP na serinové nebo threoninové zbytky cílových proteinů. Katalytická podjednotka proteinkinasy A také vstupuje do jádra a fosforyluje genově specifické transkripční faktory nazývané CREB (cyclic AMP response element-binding protein). CREB se váže na cAMP-responsivní element v nefosforylovaném stavu a je slabým aktivátorem transkripce. Po fosforylaci proteinkinásou A se na CREB váže koaktivátor CBP (CREB-binding protein) a je vyvoláno zesílení transkripce.

Některé **bakteriální toxiny** modifikují účinek G-proteinů. Cholera je infekční střevní onemocnění projevující se těžkými, život ohrožujícími průjmy. Průjem je vyvolán enterotoxinem, který produkují bakterie *Vibrio cholera*. Choleratoxin je bílkovina, která svým účinkem inhibuje GTPasovou aktivitu α s podjednotky Gs proteinu. Modifikovaná α s podjednotka je tak „zmrazena“ v aktivním stavu a produkuje kontinuálně cAMP. Účinkem cAMP je aktivní kanál pro Cl⁻ v membráně střevní buňky a jeho účinkem jsou secernovány chloridové ionty a voda do lumen střeva. Inhibiční G-protein je cílem působení pertusis toxinu produkovaného při černém kašli bakterií *Bordetella pertusis*. Výsledkem je inaktivace Gi proteinu a nadprodukce cAMP.

Kromě aktivace proteinkinasy A a fosforylace proteinů se cAMP nebo cGMP mohou navazovat na iontové kanály a ovlivňovat jejich propustnost. Tyto pochody se uplatňují zejména při aktivaci čichových a vizuálních vjemů.

Lokalizace účinku cAMP do specifické části buňky

Proteiny AKAPs (A kinase anchoring proteins)

Proteiny vážící se k proteinkinase A, směřují její účinek k určitému substrátu z mnoha možných.

Podobné proteiny ovlivňují také specifické účinky fosfatáz, fosfodiesteráz ad.

Příklady hormonů působících prostřednictvím aktivace PKA

Hormon	Místo účinku
CRH	Adenohypofýza
TSH	Thyroidní folikuly
LH	Leydigovy b. varlete, žluté tělísko
FSH	Folikulární b. ovaria, sertoliho b. varlete
ACTH	Kůra nadledvin
ADH	B. distálního tubulu ledvin
PGI ₂	Trombocyty
Adrenalin, noradrenalin	β - receptory v mnoha buňkách
glukagon	játra

Adrenergní receptor čili adrenoreceptor je označení pro skupinu receptorů spřažených s **G-proteinem**. Na tyto receptory se vážou různé katecholaminy, jako je zejména **noradrenalin a adrenalin**

Funkce adrenergních receptorů jsou velmi různé a liší se podle konkrétního typu adrenergního receptoru.

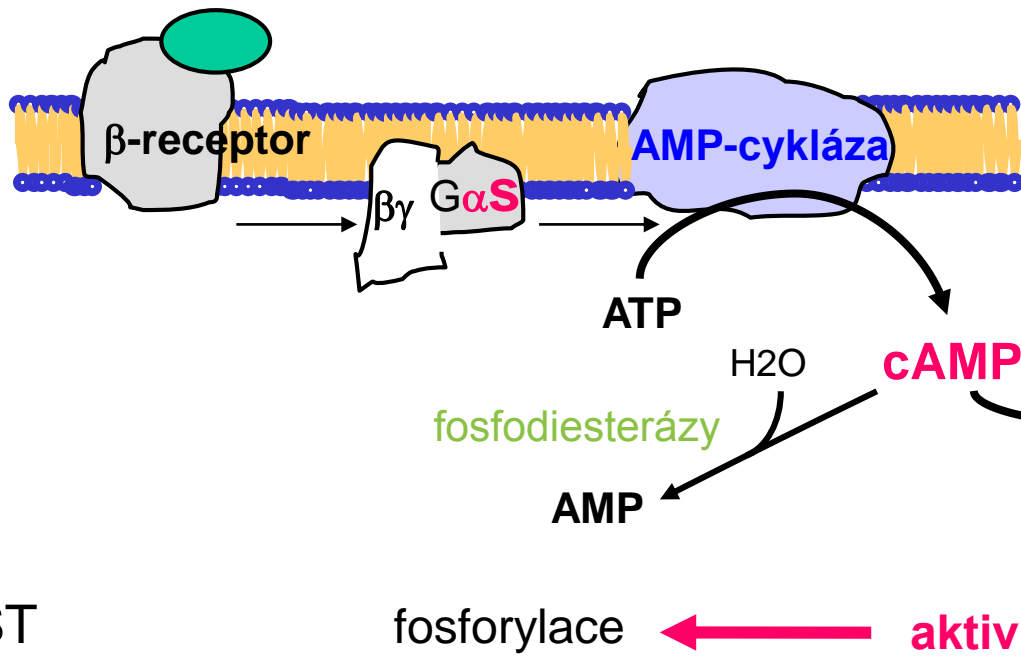
- Alfa-adrenoreceptory: obecně zvýšená glykogenolýza v játrech, zvýšená glukoneogeneze, relaxace hladkého svalstva ve střevech;^[2]
 - α_1 receptory – po přijetí signálu dochází v cílové buňce k IP3/DAG signalizační kaskádě;^[3]
 - α_2 receptory – po přijetí signálu dochází v cílové buňce k inhibici syntézy cAMP;^[3]
- beta-adrenoreceptory: obecně zvýšená svalová glykogenolýza a jaterní glukoneogeneze a glykogenolýza, mobilizace zásobního tuku, zrychlení srdeční frekvence a prohloubení stahu;^[2]
 - $\beta_1, \beta_2, \beta_3$ adrenoreceptory – po přijetí signálu dochází v cílové buňce k zvýšené produkci cAMP.¹

Adrenergní receptory

Receptor	α_1	α_2	β_1	β_2
G-protein	Gq	Gi	Gs	
Druhý posel	DG + IP ₃	cAMP ↓	cAMP ↑	
Příklady výskytu	<ul style="list-style-type: none"> • hladké svalstvo GIT (sfinktery) a cév kůže (kontrakce) 	<ul style="list-style-type: none"> • adrenergní a cholinergní nervové zakončení (inhibice uvolnění přenašeče) • pankreas (inhibice exokrinní sekrece) • trombocyty (agregace) 	<ul style="list-style-type: none"> • myokard (zvýšení síly a frekvence stahů) 	<ul style="list-style-type: none"> • hladké svalstvo dělohy, bronchů (relaxace) • hladké svalstvo GIT (peristaltika) • pankreas (aktivace exokrinní sekrece)

β-Adrenergní receptory

noradrenalin / adrenalin



β ₁	β ₂
G_s	
cAMP ↑	
<ul style="list-style-type: none"> • myokard (zvýšení síly a frekvence stahů) 	<ul style="list-style-type: none"> • hladké svalstvo dělohy, bronchů (relaxace) • hladké svalstvo GIT (peristaltika) • pankreas (aktivace exokrinní sekrece)

TEST

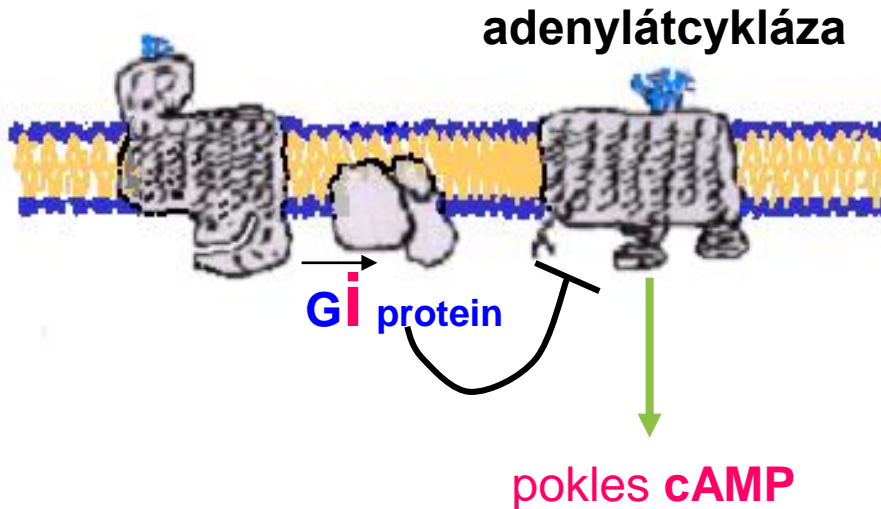
fosforylace ← **aktivní proteinkináza A**

Typické projevy stimulace receptorů

- β₁** – tachykardie, inotropní účinek na myokard,
- β₂** – bronchodilatace, vazodilatace v oblasti bronchiálního kmene,
- β₃** – termogeneze, mobilizace tukových rezerv.

Adrenergní receptory α_2 a α_1

α_2 -receptory



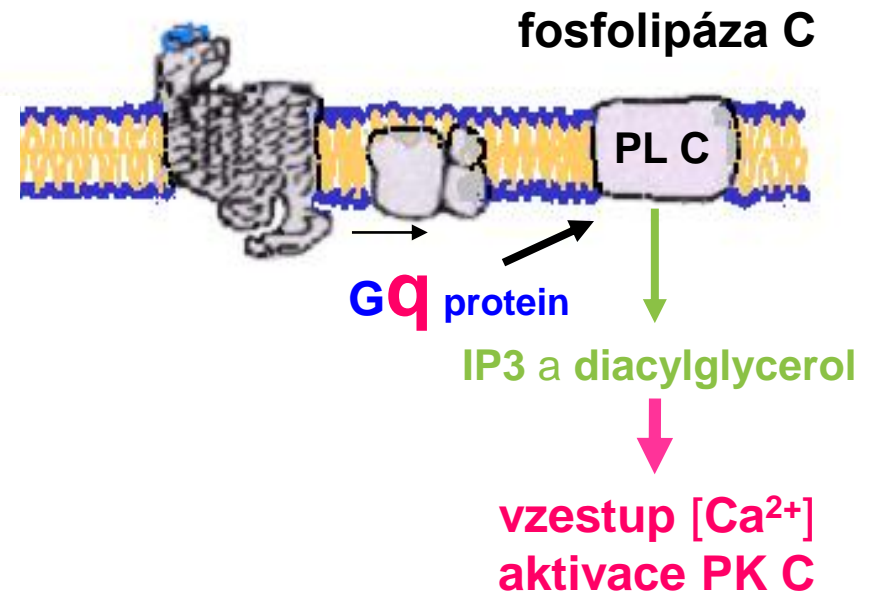
Typické projevy adrenergní

α_2 -stimulace:

snížení exokrinní sekrece

α_1	α_2
Gq	Gi
DG + IP ₃	cAMP ↓

α_1 -receptory



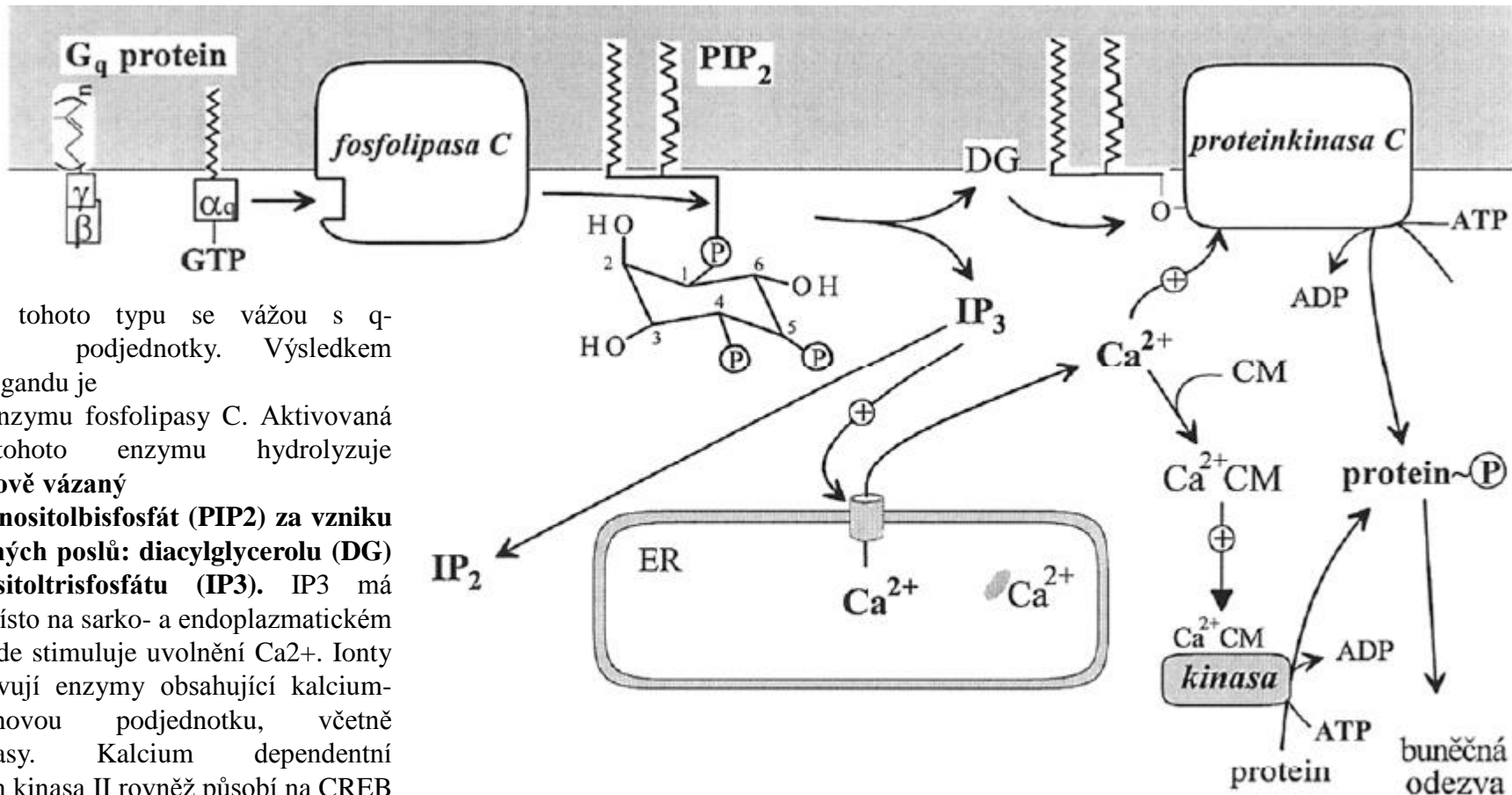
α_1 -stimulace:

vazokonstrikce

bronchokonstrikce

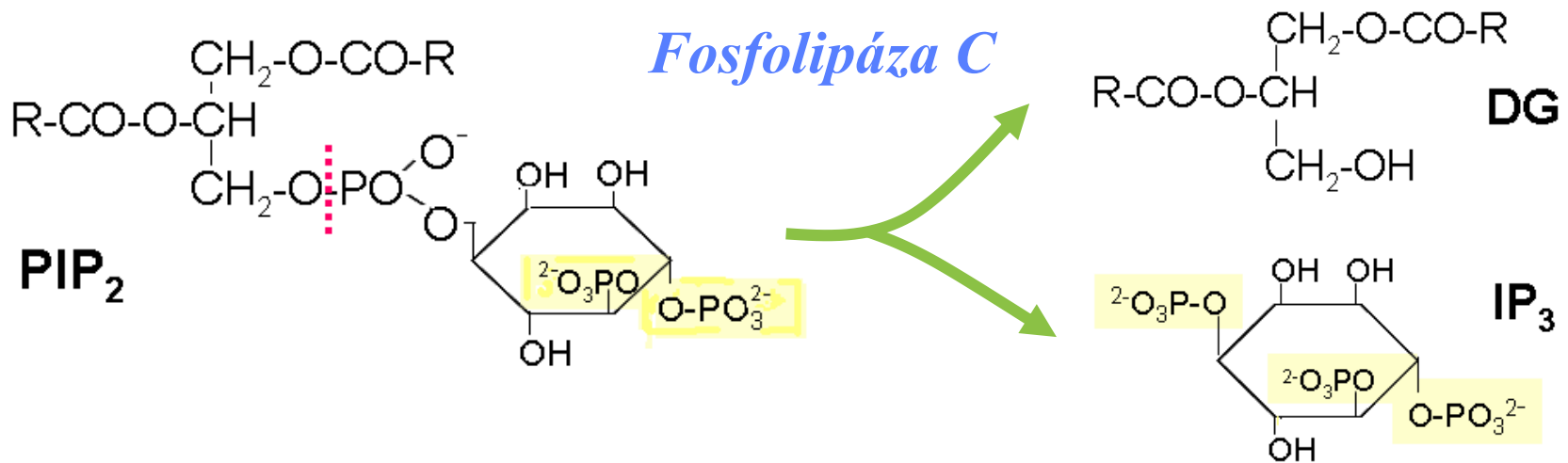
snížená motilita GIT

Receptory aktivující G_q protein stimuluji fosfolipázu C a spouštějí fosfatidylinositolovou kaskádu



Receptory tohoto typu se vážou s q -isoformou podjednotky. Výsledkem navázání ligandu je aktivace enzymu fosfolipasy C. Aktivovaná forma tohoto enzymu hydrolyzuje membránově vázaný fosfatidylinositolbisfosfát (PIP_2) za vzniku dvou druhých posílů: diacylglycerolu (DG) a 1,4,5-inositoltrisfosfátu (IP_3). IP_3 má vazebné místo na sarko- a endoplazmatickém retikulu, kde stimuluje uvolnění Ca^{2+} . Ionty Ca^{2+} aktivují enzymy obsahující kalcium-kalmodulinovou podjednotku, včetně proteinkinasy. Kalcium dependentní kalmodulin kinasa II rovněž působí na CREB v jádře. DG, který zůstává v membráně, aktivuje proteinkinasa C, která rozšiřuje odpověď fosforylací cílových proteinů.

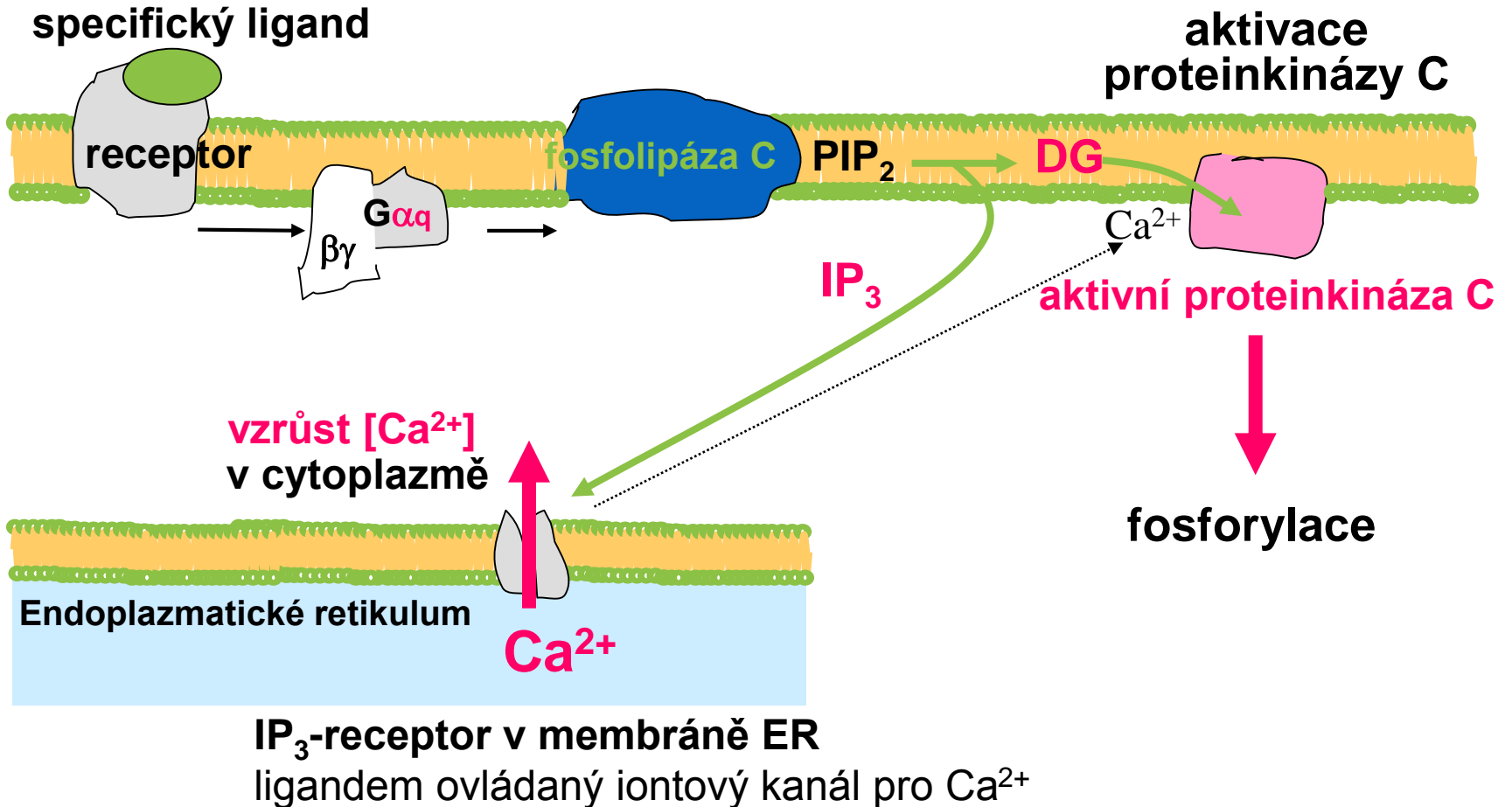
Receptory aktivující G_q protein stimuluji fosfolipázu C a spouštějí fosfatidylinositolovou kaskádu



Oba produkty jsou sekundární „poslové“:

Inositol-1,4,5-trisfosfát otevírá kanál pro Ca^{2+} v membráně ER, diacylglycerol aktivuje membránovou proteinkinázu C.

Fosfatidylinositolová kaskáda



Regulace metabolismu změnami cytoplasmatické koncentrace Ca^{2+}

- Bazální koncentrace Ca^{2+} v cytoplasmě $\sim 1 \cdot 10^{-7}$ mol/l
- Zvýšení koncentrace na $\sim 1 \cdot 10^{-6}$ rychle a účinně aktivuje různé buněčné pochody
- zvýšení Ca^{2+} může nastat

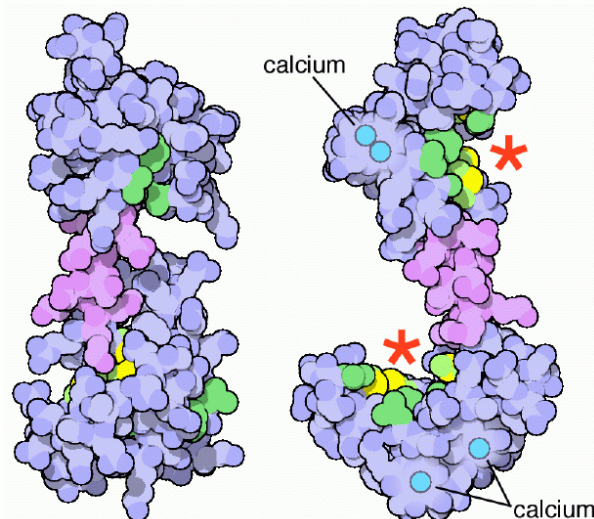
bud' influxem Ca^{2+} přes cytoplasmatickou membránu (viz např. kontrakce hladkého svalu)

nebo uvolněním z intracelulárních zásob (ER, mitochondrie) např. IP_3 závislý kanál pro Ca^{2+} v ER, nebo ryanodinové kanály v kosterním a srdečním svalu

Regulační bílkovina kalmodulin

Zvýšení hladiny Ca^{2+} aktivuje řadu na Ca^{2+} -závislých proteinů, které tvoří rodinu malých na kalcium závislých proteinů.

Nejvýznamější je **kalmodulin**. Je přítomen téměř ve všech buňkách.



Vazba Ca^{2+} na kalmodulin (4 vazebná místa) mění jeho konformaci a aktivuje jeho interakci s dalšími proteiny, např. kinasami, fosfatasami ad.

Některé Ca-kalmodulin-dependentní kinasy jsou vysoce specifické, jiné mají širokou substrátovou specifitu.

Příklady hormonů působících prostřednictvím aktivace fosfatidylinositolového systému a PKC

Hormon	Místo účinku
TRH	Adenohypofýza
GnRH	Adenohypofýza
TSH	Thyroidní folikuly
Angiotensin II/III	Kůra nadledvin (zona glomerulosa)
Adrenalin	α_1 - receptory

III. Receptory s enzymovou aktivitou

III. A) Receptory s guanylátcyklasovou aktivitou

Po navázání ligandu přeměňují GTP na cGMP

cGMP je druhým poslem

Aktivuje proteinkinasu G

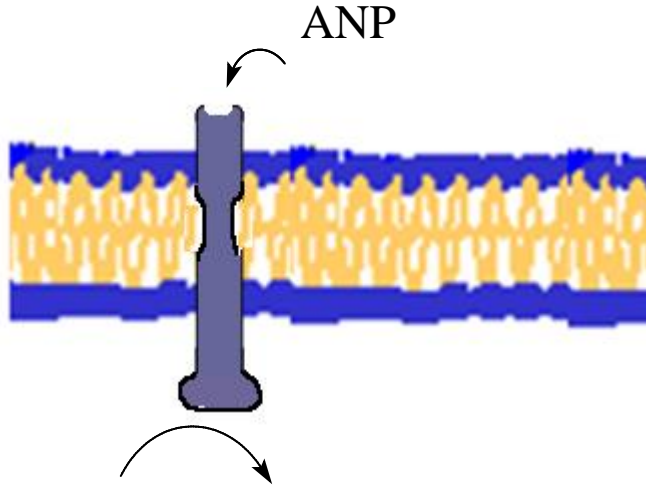
Dva druhy receptorů:

- membránový
- cytoplazmatický

cGMP může být rovněž druhým poslem. Na rozdíl od adenylátcyklasy, guanylátcyklasa není aktivována G-proteiny.

Rozlišují se dva typy guanylátcyklasy: membránově vázané enzymy, které jsou aktivovány přímo extracelulárními ligandy a rozpustné enzymy v cytoplazmě, které reagují na malé difuzibilní molekuly. Oba typy guanylátcyklasy se nacházejí v buňkách hladkého svalu cév.

Membránové receptory s guanylátcyklasovou aktivitou



Receptory pro ANP

Přítomny hlavně v hladkém svalu cév a v ledvinách

ANP je secernováno myocyty atria v reakci na zvýšení objemu nebo tlaku krve



fosfodiesteráza

GMP

H₂O

proteinkináza G
inaktivní

aktivní proteinkináza G (PKG)

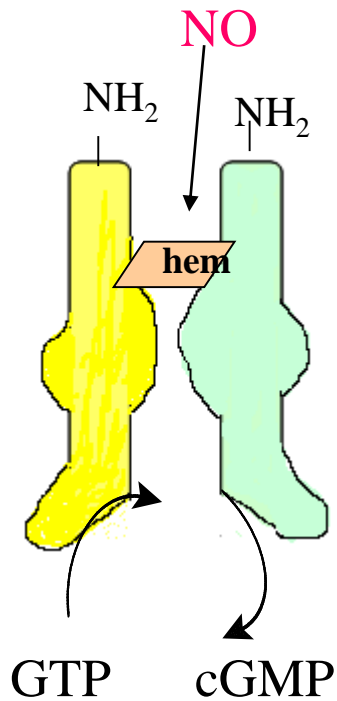
fosforylace proteinů

Membránově vázaný enzym je receptorem pro natriuretické peptidy (ANP, BNP, urodilatin). Receptor má extracelulární doménu pro vazbu ligandu, jednoduchý transmembránový helix a intracelulární guanylátcyklasovou doménu. Guanylátcyklasová aktivita je zahájena navázáním ANP na extracelulární doménu. Podobně jako cAMP i cGMP působí prostřednictvím aktivace proteinkinasy.

Tato kinasa se dle konvence označuje proteinkinasa G. Receptory natriuretických peptidů jsou přítomny v hladkém svalu cév, v ledvinách a dalších tkáních. ANP je secernováno myocyty atria v reakci na zvýšení objemu nebo tlaku krve v pravé síni a vyvolá relaxaci vaskulatury, čímž se sníží celkový periferní odpor a zlepší lokální průtok krve. V ledvinách dilataje aferentní a zužuje eferentní glomerulární arteriolu a relaxuje mesangiální buňky. Tak zvyšuje tlak v kapilárách glomerulů, zvyšuje glomerulární filtraci a zvyšuje tak exkreci sodíku a vody.

TEST

Cytoplazmatické receptory s guanylátcyklasovou aktivitou



Receptor je dimerní a váže hem

NO se váže na hem, jeho vazba zvyšuje katalytickou aktivitu guanylátcyklasy

NO je generováno účinkem nitroxidsyntasy (NOS)

NO snadno prochází membránami , může být generováno i jinými buňkami a do cílové buňky proniknout difuzí

fosfodiesterasa

GMP

Aktivace proteinkinasy G

Rozpustná guanylátcyklasa

Rozpustná guanylátcyklasa se nachází v cytoplasmě mnoha buněk. Je to dimerní molekula, obsahující hem. Váže NO, který vyvolává v její struktuře konformační změny a zvyšuje její enzymovou aktivitu. NO je syntetizován nitroxidsynthasou (NOS) z argininu. Vzniká v organismu také z některých exogenních sloučenin, tzv. donorů NO, např. nitroglycerinu, nitroprusidu. cGMP je degradováno několika typy rozpustných nebo membránově vázaných cGMP fosfodiesteras. Inhibitory cGMP fosfodiesteras vedou též ke zvýšení cGMP a prodloužení relaxace hladké svaloviny

Proteinkinasa G

cGMP sensitivní proteinkinasa G

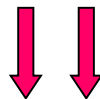
Rozšířena v mnoha tkáních

Fosforyluje různé proteiny (enzymy, transportní proteiny ad.)

Účinek PKG v hladkém svalu

Fosforylace proteinů:

- inaktivace proteinů podporujících uvolnění Ca^{2+} z ER $\Rightarrow \downarrow \text{Ca}^{2+}$
- aktivace MLC fosfatasy \Rightarrow potlačení interakce aktin-myosin
- snížení aktivity K^+ -kanálů, které podporují hyperpolarizaci \Rightarrow snížení influxu Ca^{2+} do buňky



Relaxace hladkého svalu

Význam NO/cGMP signalizace v hladkém svalu cév

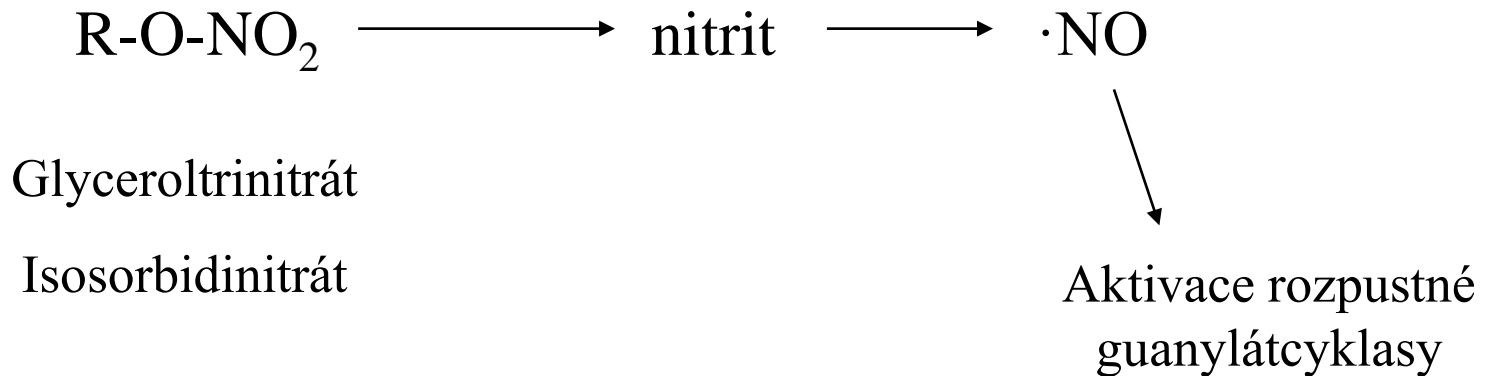
cGMP je klíčový druhý posel pro indukci relaxace hladkých svalů cév

⇒ vasodilatace a zvýšený průtok krve

NO je produkován v endotelových buňkách nitroxidsyntasou z argininu (aktivace např. acetylcholinem) a difunduje do přilehlých buněk hladkého svalu



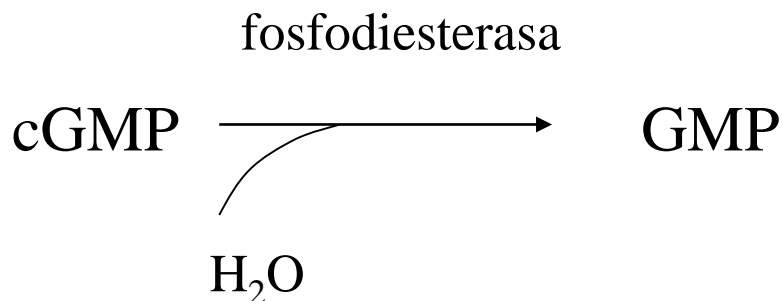
Léky typu organických nitrátů jsou zdrojem exogenního NO



Terapie anginy pectoris

Vasodilatační účinek na arterie uvolní koronární spasmus a normalizuje prokrvení

Inhibice fosfodiesterasy potencuje účinek NO



Existuje více typů fosfodiesteras, v závislosti na typu buněk.

Lék sildenafil (Viagra) působí jako selektivní inhibitor fosfodiesterasy 5 (PDE5), která je vysoce exprimována v hladkém svalstvu cév. Viagra podporuje účinek NO \cdot , uvolňující se během sexuální stimulace tím, že inhibuje PDE5 a zvyšuje hladinu cGMP v *corpora cavernosa*.

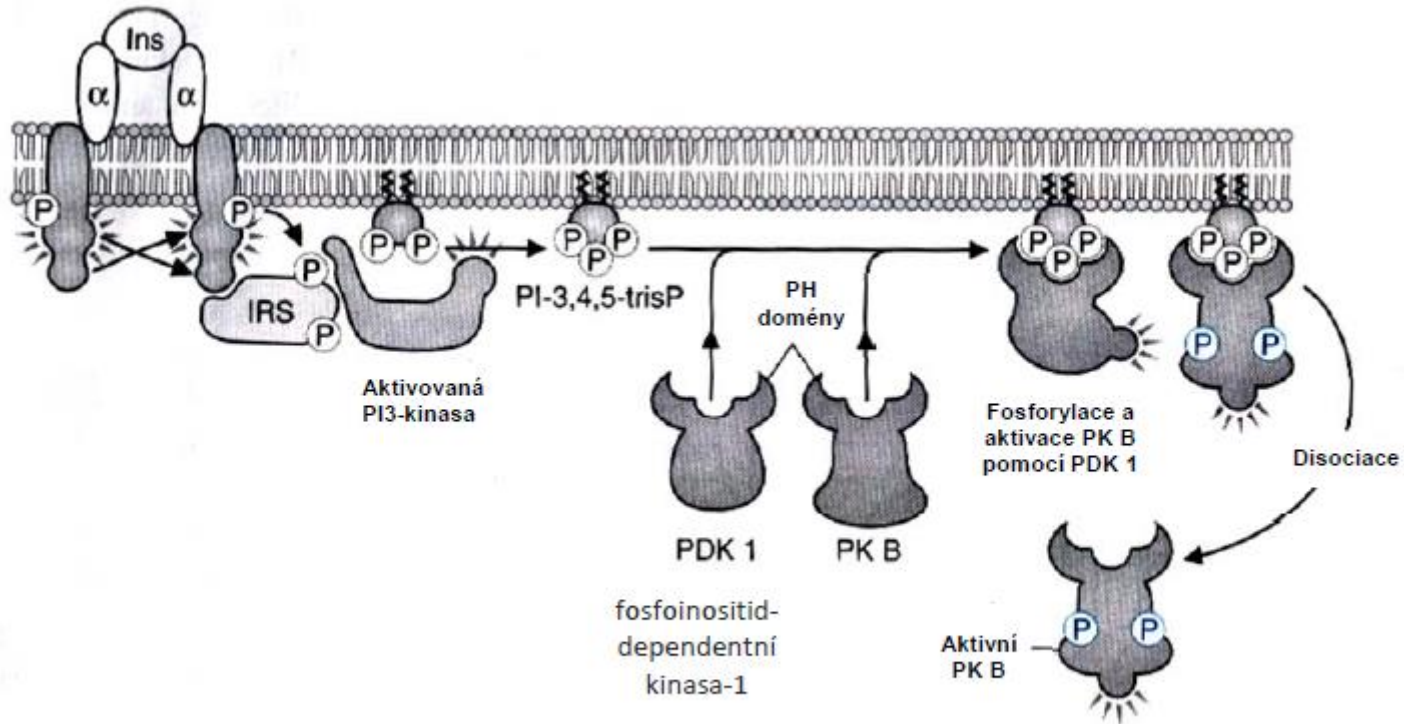
Výsledkem je relaxace hladké cévní svaloviny a přívod krve do *corpora cavernosa*.

III. B) Receptory s tyrosinkinázovou aktivitou

Společné rysy

- Po navázání působku na receptor dochází ke konformační změně
- aktivuje se tyrosinkinázová aktivita receptoru
- dochází k autofosforylaci tyrosinů receptoru, případně dalších proteinů (IRS)
- na fosforylovaný receptor a substráty fosforylované receptorem se váží další proteiny, tzv. adaptorové molekuly
- adaptorové proteiny se vážou k fosfotyrosinovým zbytkům pomocí SH2 domén (Src homology 2 domain).
- adaptorové proteiny reagují s dalšími molekulami a signál je dále přenášen kaskádou fosforylačních/defosforylačních reakcí, výměnou guaninových nukleotidů, změnami konformací atd.

Rodina membránových receptorů s tyroxinkinasovou aktivitou je tvořena receptory **pro růstové faktory a inzulin**. Růstové faktory stimulují mitosu, buněčnou diferenciaci, migraci buněk a apoptózu. Inzulin stimuluje využití živin. Společným znakem receptorů je intracelulární tyrosinkinasová doména.



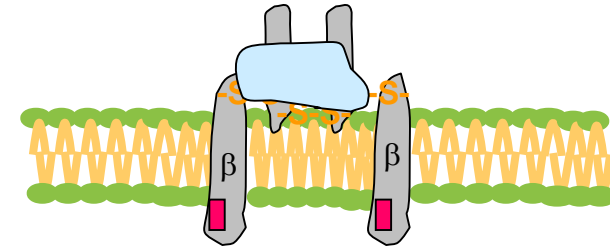
Do podrodiny receptorů s tyrosinkinasovou aktivitou patří dále např. IGF-1 (insulin-like growth factor-1) receptor; EGF (epidermal growth factor) receptor; PDGF (platelet-derived growth factor) receptor.

Insulinový receptor

Dimerní struktura

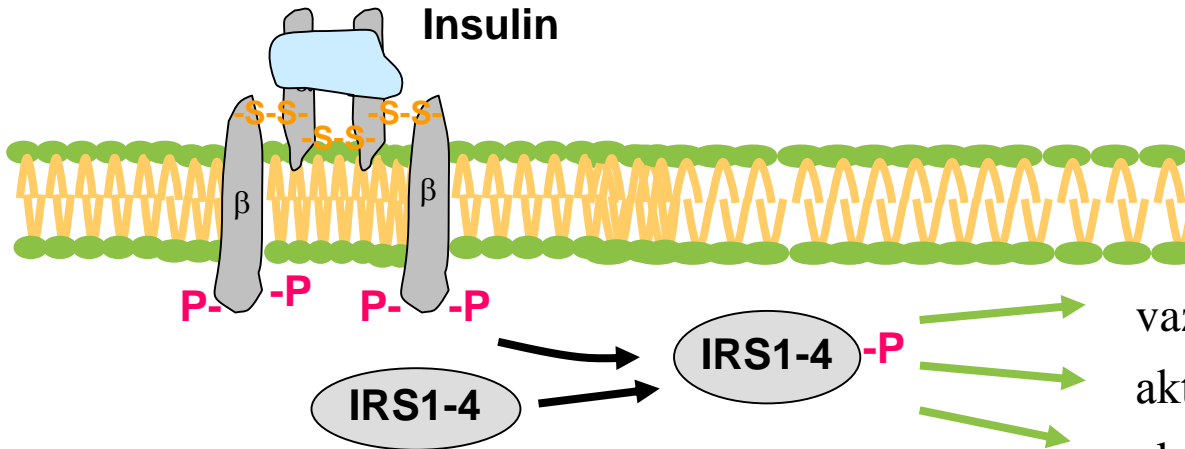
Vazebné místo pro insulin na α -podjednotkách

Tyrosinkinázová aktivita na β -podjednotkách

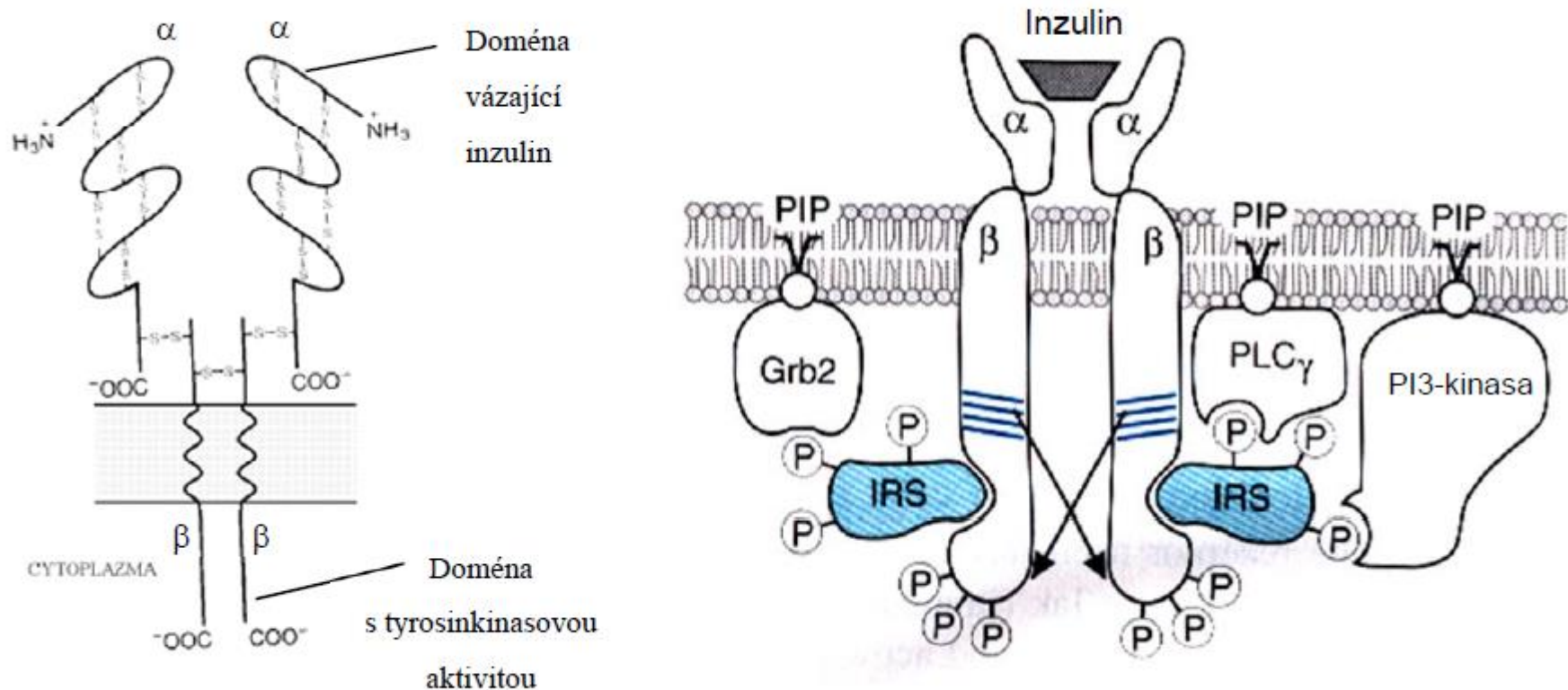


Po vazbě
insulinu na
receptor
dochází k
internalizaci
komplexu
hormon
receptor,
receptory jsou
částečně
recyklovány

Navázání insulinu na receptor → tyrosinkinázová aktivita
autofosforylace β -podjednotek a **fosforylace proteinů IRS 1-4**
(insulin receptor substrates 1-4)



vazba PI-3-kinázy na membránu
aktivace fosfoproteinfosfatázy-1
aktivace Ras – exprese genů



Inzulinový receptor

Inzulinový receptor je přítomen v membránách ve formě dimeru. Každý monomer se skládá z extracelulární podjednotky α a podjednotky β , která je integrována membránovou bílkovinou. Podjednotky α a β jsou spojeny disulfidovou vazbou a disulfidová vazba je i mezi oběma monomery. Vazebná místa pro inzulin jsou na α podjednotkách. Podjednotky β obsahují domény s vlastní tyrosinkinasovou aktivitou. Po navázání inzulinu se β podjednotky vzájemně fosforylují.

Aktivovaný fosforylovaný receptor váže proteiny nazývané **IRS** (inzulin receptor substrate, označují se též jako adapterové proteiny) a fosforyluje je na několika místech (fosforylace na cca 20 tyrosinových zbytcích).

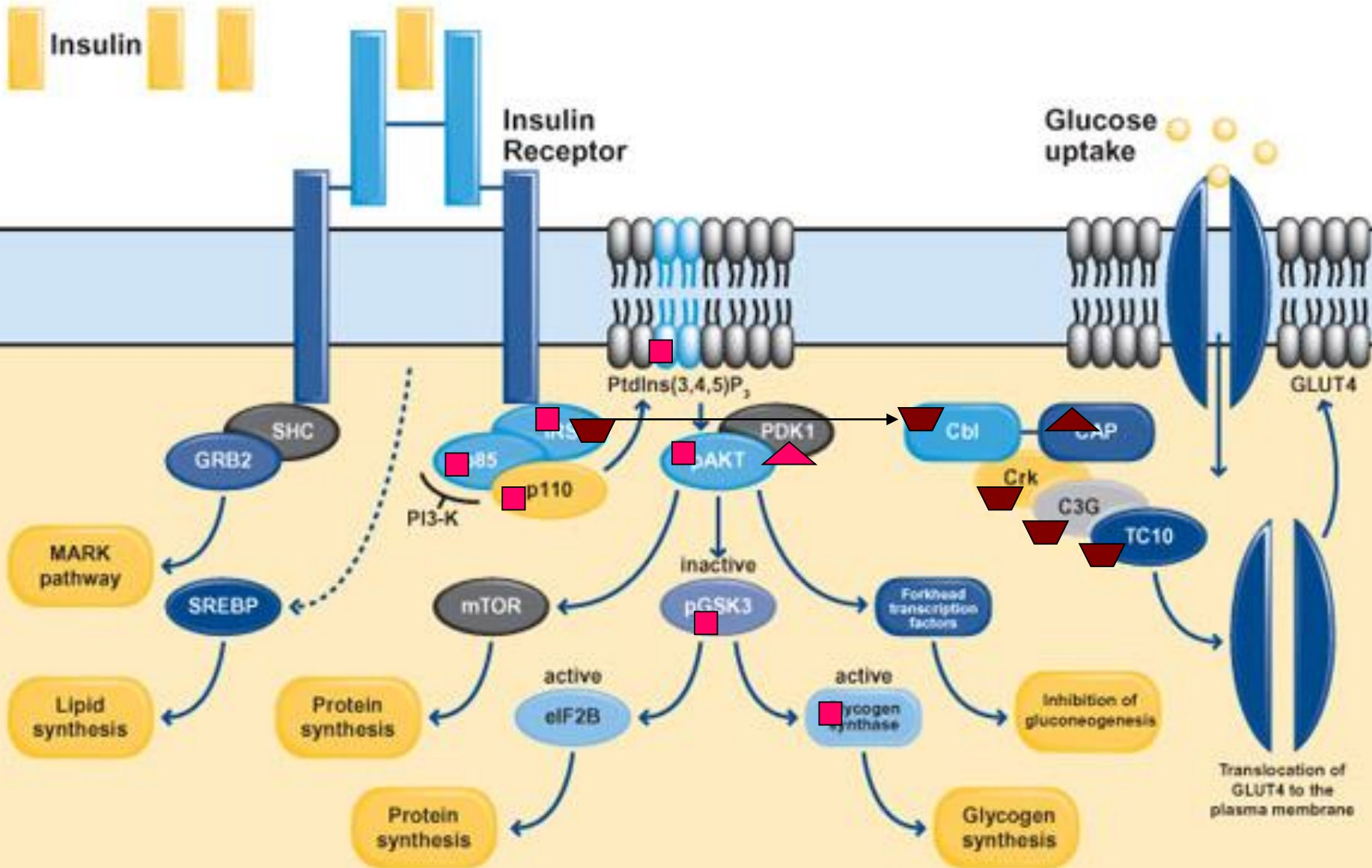
Tím se na IRS aktivují vazebná místa pro různé proteiny, které jsou zapojeny do zprostředkování různých účinků inzulínu. Proteiny se napojují na vazebná místa na IRS a tím se aktivují. Většina proteinů se váže na tato místa pomocí specializovaných SH2 domén (src homology). Na jedno z míst se **váže protein Grb2 (growth factor receptor-bound protein)**, který je připojen k membráně pomocí fosfolipidové kotvy. Prostřednictvím Grb2 je aktivován membránově vázaný G-protein Ras. Ras na rozdíl od heterotrimerních G-proteinů je monomerním.

Podobně jako alfa podjednotka

heterotrimerního G-proteinu existuje v neaktivní GDP a aktivní GTP formě. Aktivací prostřednictvím Grb2 se zvýší počet aktivních Ras-GTP molekul, které aktivují proteinkinasy a vyvolají Ras a MAP (mitogen activated protein) signální kaskády. Výsledkem je fosforylace proteinů v cytoplazmě a jádře, kde jsou tak regulovány transkripční faktory.

V jiném fosfotyrosinovém místě IRS se váže PI-3 kinasa, čímž je aktivována. Fosforyluje inositolové fosfolipidy v membráně v pozici 3. Např. konvertuje fosfatidylinositol-4,5-bisfosfát na fosfatidylinositol-3,4,5-trisfosfát. Aktivované fosfolipidy pak působí jako druzí poslové a podílí se na aktivaci dalších proteinů. Patří mezi ně proteinkinasy B a C, které zprostředkovávají řadu dalších účinků inzulínu v buňce. Jedním z účinků je expozice transportérů GLUT ve svalech a adipocytech do membrány.

Některé signální dráhy insulínu



Substráty insulinového receptoru IRS1-4 jsou **adaptorové proteiny**. Jsou-li komplexem insulin-receptor fosforylovány, navazují se na další proteiny a aktivují je tak.

Příklady mechanismu účinku insulinového receptoru

Syntéza glykogenu

Fosforylace IRS aktivuje regulační podjednotku PI-3 kinázy

Katalytická podjednotka PI-3 kinázy fosforyluje PIP₂ na PIP₃

**PIP₃ aktivuje proteinkinázu B (AKT)
Aktivaci PKB (AKT) napomáhá PDK**

Aktivovaná AKT difunduje do cytoplazmy a fosforyluje (inaktivuje) glykogensyntáza kinázu

Syntéza glykogenu je aktivována (aktivní je defosforylovaná forma glykogensyntázy)

Translokace glukosových transportérů

Insulinový receptor fosforyluje CbI (IRS)

Komplex CbI-CAP se translokuje do lipidového raftu v membráně

CbI reaguje s adaptorovým proteinem Crk

Crk asociován s C3G

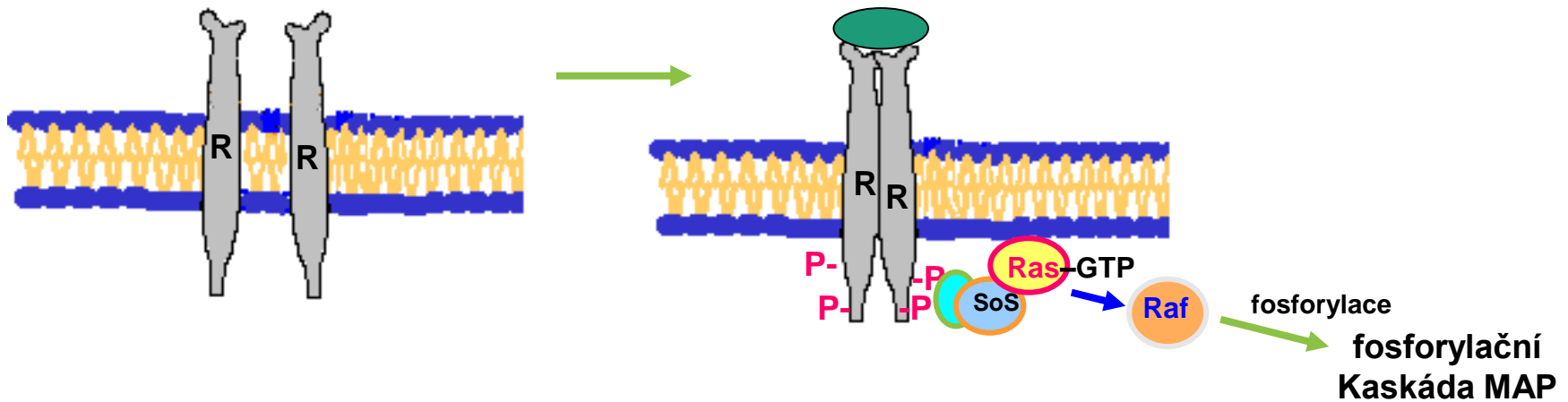
C3G aktivuje TC10 (G-protein)

Aktivuje translokaci transportérů do plasmatické membrány

Receptor pro epidermální růstový faktor EGF

Receptor s tyrosinkinasovou aktivitou

Po navázání ligandu dochází k dimerizaci receptorů



Tím se aktivuje tyrosinkinasová aktivita v cytoplazmatické doméně.

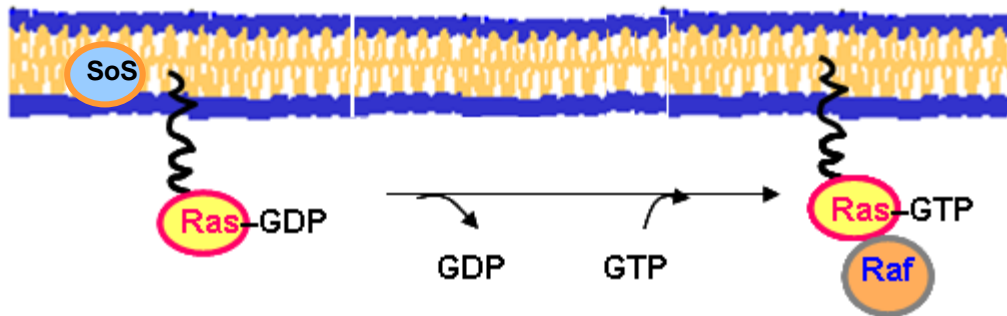
Autofosforylace receptoru

Na fosforylovaná místa se váží adapterové proteiny Grb2 (SH-2 domény).

Prostřednictvím proteinu SOS je aktivován G-protein Ras → aktivace MAP-kinasové kaskády (Ras/MAP-kaskáda)

Ras je monomerní G-protein (strukturní analog α -podjednotky)

Monomerní G-protein - váže GTP a současně má GTPasovou aktivitu. Aktivuje se vazbou GTP místo GDP



Aktivace Ras - klíčový krok při přenosu signálu.

Inaktivní Ras-GDP přechází na aktivní Ras-GTP, který aktivuje další člen dráhy.

Inaktivace Ras - následná hydrolýza GTP pomocí proteinů aktivujících GTPasovou aktivitu G-proteinu

Superrodina Ras proteinů

5 rodin: Ras, Rho, Arf, Rab, Ran

Zakotveny k lipidové membráně pomocí lipidových kotev (myristoyl, farnesyl)

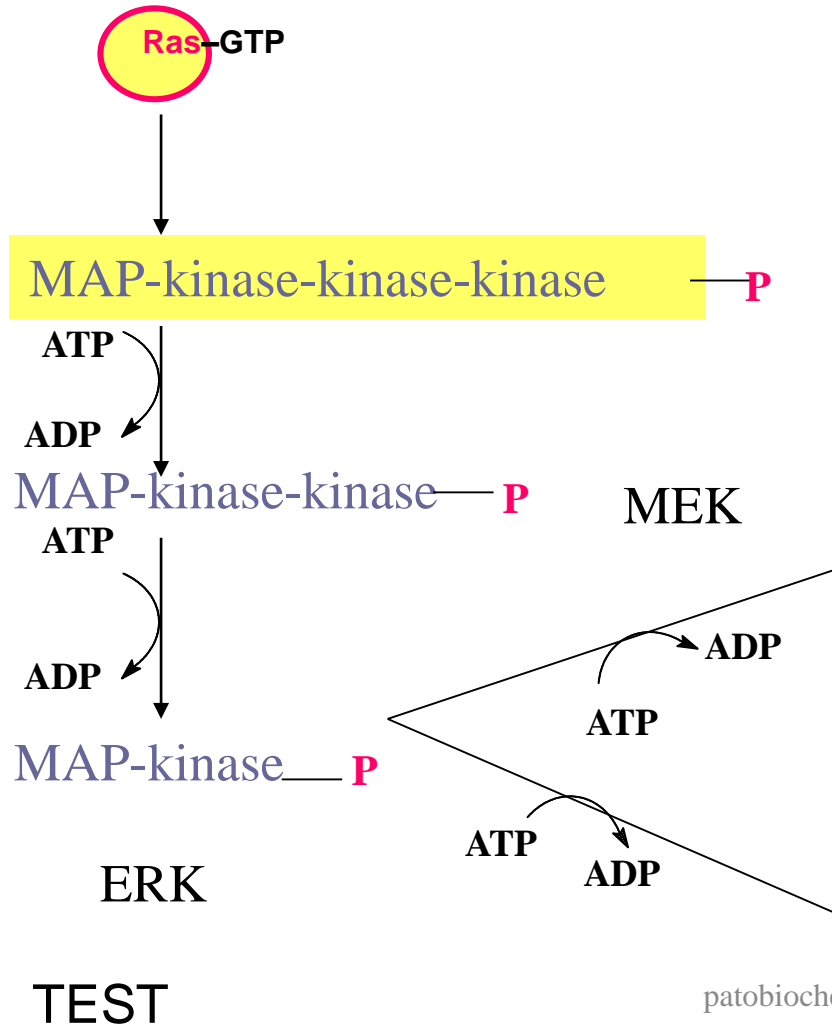
Monomerní G-proteiny, které hrají důležitou roli při regulaci růstu, morfogeneze, buněčné motility, cytokineze apod.

Mutace v genech Ras navozují patologickou proliferaci a antiapoptózu. Mutace Ras se vyskytují asi u 30 % všech lidských karcinomů.

MAP-kinázová signální dráha (Mitogen activated protein kinase)

Popsány 3 systémy, nejznámější ERK.

Map-kinasová kaskáda



Především
reguluje buněčný růst
a diferenciaci.

MAPKKK, Raf

Fosforylace
cytosolových nebo
membránových
proteinů

Fosforylace regulačních proteinů
v jádře, podpora proliferace (např.
aktivace transkripčních faktorů
Jun, Fos)

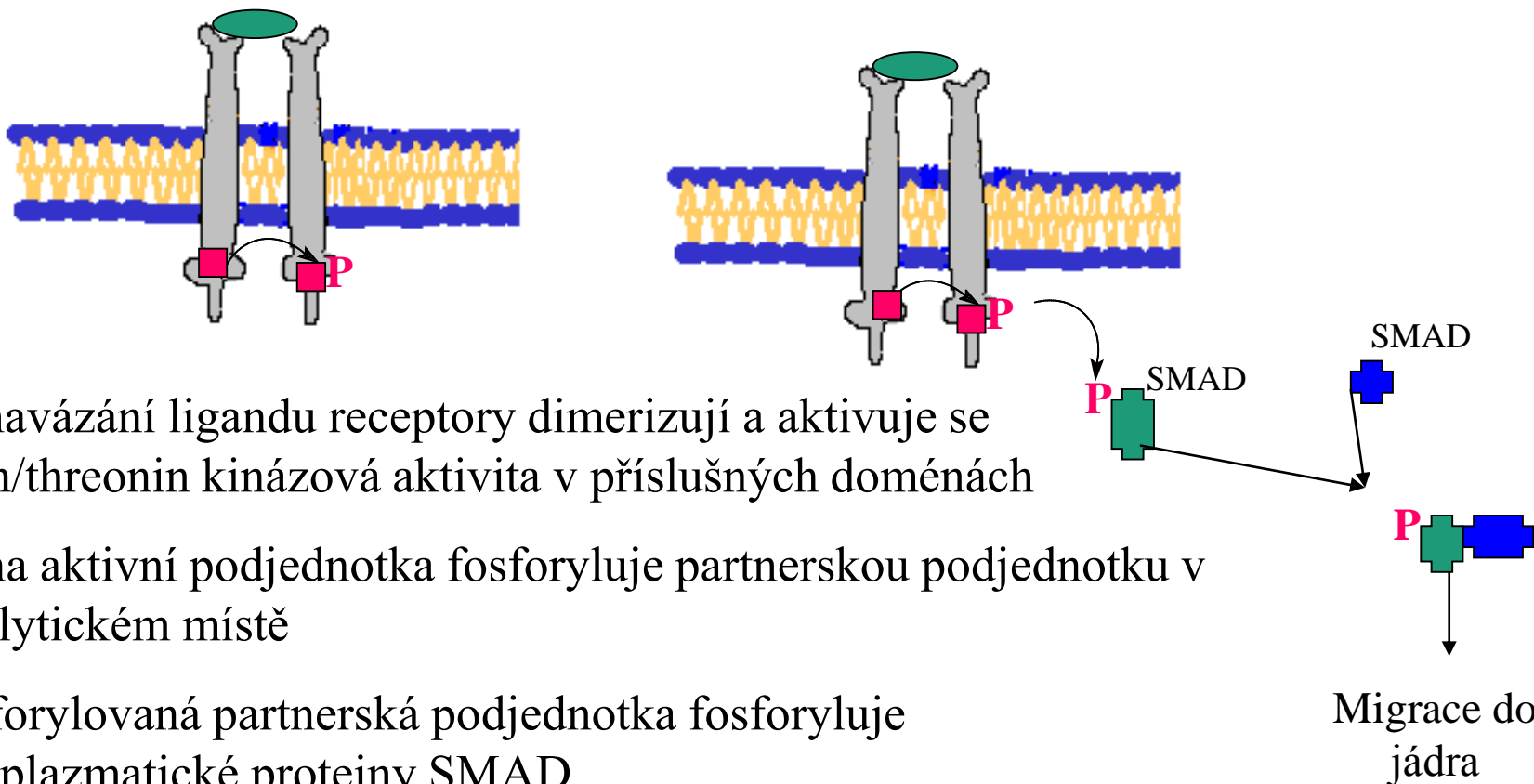
Mitogeny - růstové faktory podporující proliferaci

Příklady mitogenů:

Zkratka	Název	Funkce
PDGF	Růstový faktor odvozený z destiček	mitogen pro buňky pojivové tkáně a nediferencovanou neuroglii
EGF	Epidermální růstový faktor	mitogen řady buněk ektodermálního a mesodermálního původu
FGF-2	Fibroblastový růstový faktor 2	Mitogen pro řadu buněk jako fibroblasty, endotelové buňky, myoblasty; indukuje embryonální mesoderm
IL-2	Interleukin 2	Mitogen pro T-lymfocyty

Receptory se serin/threonin kinázovou aktivitou

Ligandem je např. transformující růstový faktor- β (TGF- β)



Po navázání ligandu receptory dimerizují a aktivuje se serin/threonin kinázová aktivita v příslušných doménách

Jedna aktivní podjednotka fosforyluje partnerskou podjednotku v katalytickém místě

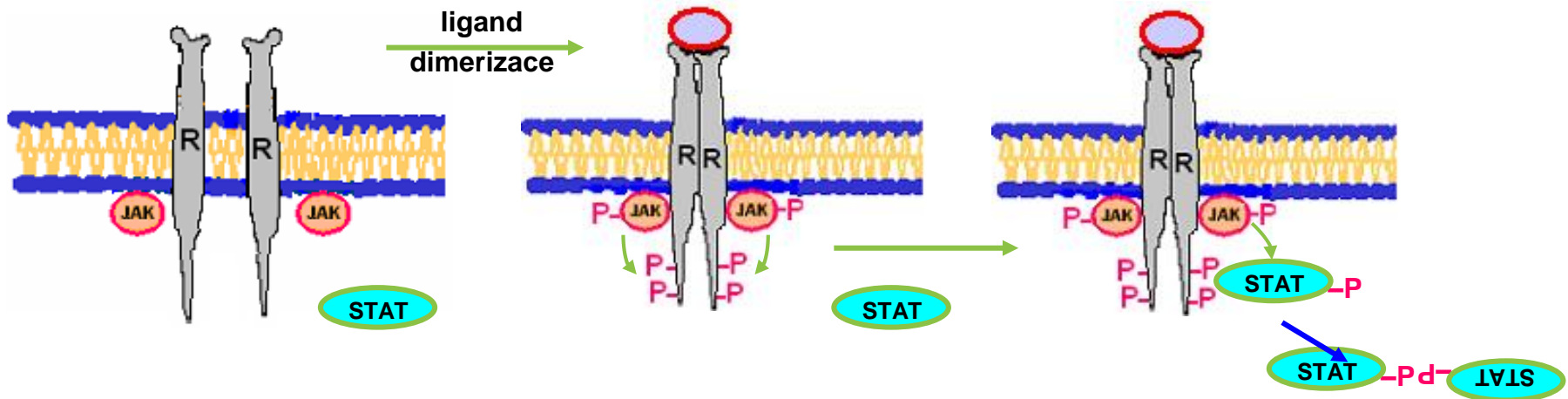
Fosforylovaná partnerská podjednotka fosforyluje cytoplazmatické proteiny SMAD

Proteiny SMAD se fosforylací aktivují a vytváří dimery s dalšími SMAD proteiny

Translokace do jádra, kde interagují s dalšími regulačními proteiny

IV. Receptory aktivující nereceptorové tyrosinkináz

JAK-STAT receptory (Janus Kinase – Signal Transducer and Activator of Transcription)



Receptor nemá kinasovou aktivitu, ale je asociován s tyrosinkinásou JAK.

Po navázání ligandu receptory dimerizují (homodimery nebo heterodimery)

Aktivované JAKs fosforylují tyrosinové zbytky na receptoru.

Na fosforylovaná místa se vážou adaptorové proteiny STAT (pomocí SH2 domény)

STAT jsou fosforylovány a dimerizují.

Dimery STAT translokují do jádra, kde působí jako transkripční faktory

JAK-STAT receptory – rodina receptorů pro *cytokiny (např.interferony, interleukiny)

Různorodé účinky cytokinů jsou způsobeny existencí velkého množství STAT proteinů

Receptory pro různé cytokiny vážou různé STAT, které vytváří heterodimery v různých kombinacích

Tak je umožněno, že různé cytokiny ovlivňují různé geny

Receptory kooperující s JAK-STAT mají také prolaktin, erythropoetin ad.

*Cytokiny – malé signální proteiny, účastníci se významně imunitní odpovědi. Jsou produkovány buňkami imunitního systému (makrofágy, T-lymfocyty atd.) a jsou schopné navodit například rychlé dělení a diferenciaci určitých typů buněk, které se účastní boje proti patogenům a další rysy imunitní obrany

Regulace membránových receptorů

Regulace změnou počtu receptorů
(down regulace, up regulace)

Regulace vlastnosti
receptoru (desenzitizace)

Př.: desenzitizace β - adrenergního receptoru

Po navázání ligandu na receptor se aktivuje BARK (β -adrenergní receptor kinasa)

V cytoplazmatické části receptorové molekuly dochází k fosforylaci

Na fosforylované místo se váže bílkovina arrestin, který inhibuje schopnost aktivovat G-protein

Přehled receptorů nejvýznamnějších neurotransmiterů

Cholinergní synapse

Receptor	Nikotinový	Muskarinové	
Mechanismus účinku	Iontový kanál	M ₁ , M ₃ , M ₅ G _q	M ₂ , M ₄ G _i
Druhý posel	-	DG + IP ₃	cAMP
Výskyt	<ul style="list-style-type: none"> • neurony autonomních ganglií, • nervosvalová ploténka, • chromafinní buňky dřeně nadledvin 	<ul style="list-style-type: none"> • mozek, • hladký sval, • žlazové buňky 	<ul style="list-style-type: none"> • myokard, • mozek
Blok receptoru	tubokurarin	atropin	

Receptory nejvýznamnějších neurotransmiterů

Iontové kanály (ROC)	Receptory kooperující s G-proteiny		
	Gs (vzestup cAMP)	Gi (pokles cAMP)	Gq (vzestup IP3 /DG)
<u>Na⁺/K⁺</u> – acetylcholinový nikotinový	–	acetylcholinové muskarinové M2,4	acetylcholinové muskarinové M1,3,5
–	adrenergní β1,β2,β3	adrenergní α2	adrenergní α1
<u>Na⁺/Ca²⁺/K⁺</u> – glutamátové ionofory	–	glutamátové mGluR skupiny II a III	glutamátové mGluR skupiny I
–	dopaminové D1,5	dopaminové D3,4	dopaminové D2
– serotoninový 5-HT3	serotoninové 5-HT4,6	serotoninový 5-HT1	serotoninové 5-HT2
–	histaminový H2	histaminové H3,4	histaminový H1
–	–	–	tachykininový NK1 pro substanci P
<u>Cl⁻</u> – GABAA – glycinový	GABAB (metabotropní)	–	–