

# Buněčná signalizace

Buněčnou signalizací označujeme **komunikaci mezi buňkami**.

Reguluje:

- vývoj buněk a jejich organizaci do tkání,
- růst a dělení buněk,
- koordinaci buněčných funkcí.

## Typy signalizace

### Endokrinní (hormonální)

Buňky vylučují signální molekuly (především hormony), které se dostanou do krve a oběhovým systémem k cílové buňce, na jejíž receptor se naváží.

- Působení – vzdálené.
- Rychlost – v minutách.

### Parakrinní

Buňky uvolňují do ECT chemické látky (např. růstové faktory), které působí jako lokální mediátory a ovlivní buňky v nejbližším okolí. Tímto způsobem fungují například signální molekuly, které regulují zánět v místě infekce nebo buněčnou proliferaci při hojení ran.

### Autokrinní

Secernovaná signální molekula se váže na receptor buňky, která ji vyprodukovala.

### Synaptická

Tato signalizace je specifická pro nervovou soustavu živočichů. Nervová buňka produkuje chemický signál (neurotransmitter), který se přenáší k jiné nervové buňce synaptickou štěrbinou.

- Rychlost – až 100 m/s<sup>[1]</sup>.

## Způsoby buněčné komunikace

### Přímým kontaktem

1. Spojovací komplexy zajišťují kontinuitu buněk, které spolu sousedí. U živočišných buněk pomocí nexů (gap junctions), u rostlinných buněk pomocí plazmodezmat.
2. Interakce povrchových buněčných molekul.

### Prostřednictvím signálních molekul

Signální molekuly jsou látky, které jsou schopné přenosu signálu. Lze je rozdělit podle chemické povahy do několika skupin:

1. **Lipofilní signální molekuly:**
  - steroidní hormony,
  - thyroidní hormony,
  - deriváty mastných kyselin (eikosanoidy),
  - retinoidy (retinal).
2. **Peptidové a proteinové signální molekuly:**
  - peptidové hormony (např. liberiny, statiny, inzulin, glukagon, vazopresin),
  - růstové faktory a cytokiny.
3. **Deriváty aminokyselin:**
  - hormony (např. adrenalin, noradrenalin),
  - neurotransmitery (např. GABA, glutamát, glycin),
  - mediátory (např. histamin).
4. **Malé anorganické molekuly a ionty:**
  - NO,
  - CO,
  - Ca<sup>2+</sup>.
5. **Nukleotidy:**
  - cAMP,
  - cGMP.

## Mechanismus účinku signálních molekul

Závisí na tom, zda je signální molekula rozpustná ve vodě (hydrofilní) nebo v tucích (hydrofobní). Cytoplazmatická membrána buněk je prostupná pro hydrofobní (= lipofilní) signální molekuly a pro malé anorganické molekuly jako např. NO. Tyto molekuly se vážou na **cytoplazmatické nebo jaderné receptory**, které většinou působí jako transkripční faktory řízené ligandy a po navázání signální molekuly ovlivňují transkripci genů. Pro hydrofilní signální molekuly (peptidy, proteiny) a deriváty aminokyselin je cytoplazmatická membrána nepropustná a proto jejich signalizace musí probíhat přes receptory nacházející se v cytoplazmatické membráně cílových buněk (tzv. **membránové receptory**). Po navázání signální molekuly (ligandu) na membránový receptor dochází k signální transdukcii, tedy k přenosu signálu od receptoru do nitra buňky. Následuje intracelulární signalizace, která často zahrnuje druhé posly nebo specifické proteinkinázy. Ty následně regulují aktivitu efektorových proteinů a dojde ke změně chování buňky. Efektorovými proteiny mohou být enzymy ovlivňující metabolismus, transkripční faktory, složky cytoskeletu nebo iontové kanály.

## Stádia signalizace

1. Produkce signální molekuly signalizující buňkou (na základě nadřazené stimulace – např. hormony řízené hypothalamo-hypofyzární osou, nebo při změně koncentrace určitých molekul – např. glukosy nebo iontů).
2. Přijetí signálu cílovou buňkou  
→ signální molekula se váže na receptor.
3. Přenos signálu (= signální transdukce) – může být jednorukový nebo zahrnuje kaskádu změn molekul (tzv. signalizační dráha).
4. Signál spouští specifickou odpověď.
5. Degradace signální molekuly.

## Typy membránových receptorů

Liší se signálem, který je vytvářen uvnitř buňky po navázání extracelulární signální molekuly na receptor.

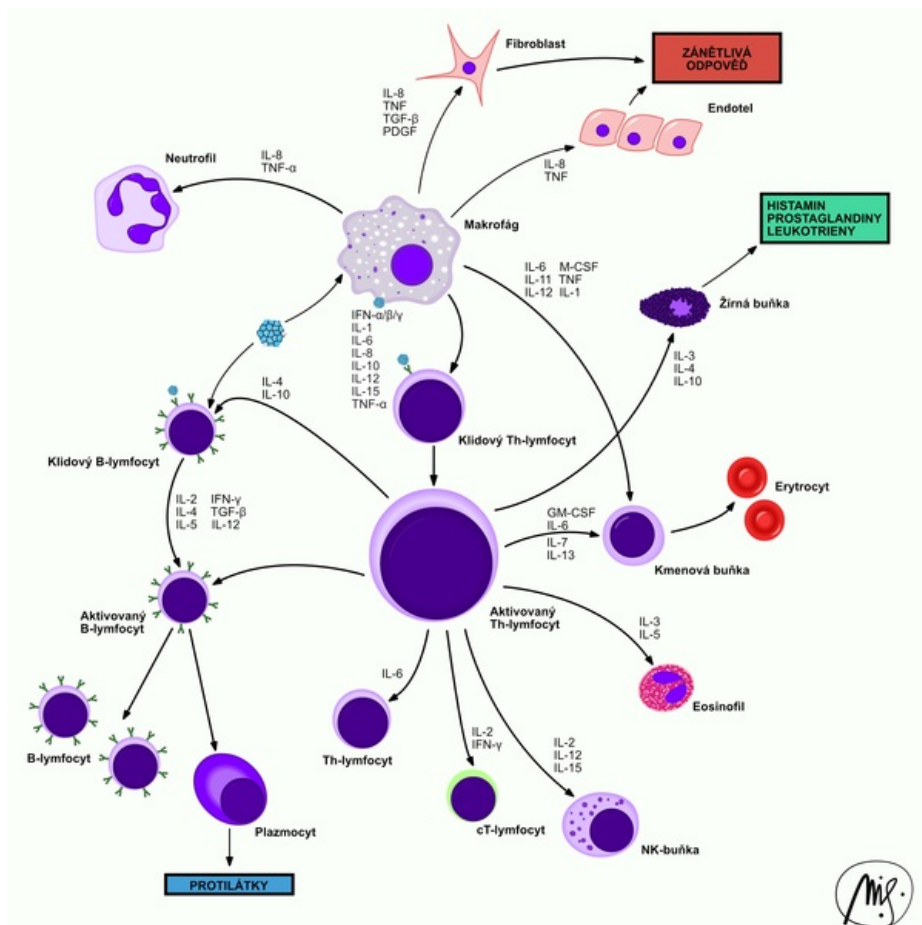
**⚠ Na membránové receptory se vážou pouze hydrofilní látky. Hydrofobní látky procházejí membránou bez specifických přenašečů a vážou se na své receptory až v cytoplasmě nebo v jádře (nejznámější hydrofobní látky jsou steroidy a hormony štítné žlázy).**

**Enzymotropní receptory (katalytické receptory, receptory spojené s enzymy nebo receptory s vlastní enzymatickou aktivitou)**

Jsou to proteiny, které prochází fosfolipidovou dvojvrstvou membrány pouze jednou. Skládají se z extracelulární části proteinu s vazebným místem pro signální molekulu, transmembránového  $\alpha$ -helixu, cytoplazmatické části, která buď obsahuje vlastní enzymatickou aktivitu, nebo je spojena s enzymem. Receptor je buď ligandem řízený enzym, nebo protein, který se spojuje s enzymem. Mnoho receptorů obsahuje cytoplazmatickou část, která funguje jako tyrosinová proteinkináza. Po navázání signální molekuly se spojí 2 receptorové proteiny a vytvoří se dimer. Tím se aktivují tyrosinkinázové části receptoru, které fosforylují tyrosiny (pomocí fosfátových skupin z ATP) vlastního receptoru. Fosforylované tyrosiny slouží jako vazebná místa pro různé proteiny, které se po navázání stávají sami aktivními. Dochází tak například k aktivaci signální molekuly Ras (GTP-vázající protein), která následně aktivuje další proteinkinázy a ve finále nastává změna genové exprese. Ukončení signálu je katalyzováno protein-tyrosin-fosfatázou, nebo mohou být aktivované receptory endocytovány a odbourány v lysosomech. Na receptory s tyrosinkinázovou aktivitou se vážou např. růstové faktory nebo inzulin, podrobněji níže. Do skupiny enzymotropních receptorů patří i receptory s serin/threonin kinasovou, guanylátcyklasovou či tyrosinfosfatovou aktivitou.

## Receptory s tyrosinkinásovou aktivitou

Jsou převážně receptory většiny růstových a diferenciacních faktorů jako je například **EGF** (epidermální růstový faktor), **PDGF** (od destiček odvozený růstový faktor), **IGF-1** (insulinu podobný růstový faktor) a receptor pro inzulin. Po vazbě ligandu k receptoru dochází k jeho aktivaci a k přenosu fosfátové skupiny z **ATP** na specifické



Cytokinové interakce mezi buňkami imunitního systému



**tyrosiny.** Fosforylovány jsou buď tyrosiny samotných receptorových proteinů (autofosforylace) nebo tyrosiny specifických buněčných proteinů (nitrobuněčných proteinkinas). Tím je zahájena kaskáda nitrobuněčného přenosu signálu.

**Ras proteiny** patří mezi významné intracelulární signální proteiny, které se prvořadě podílejí **na přenosu signálu od receptoru s tyrosinkinasovou aktivitou do nitra buňky**, kde se uvádějí v činnost serin/threoninovou fosforylační kaskádu. Ras proteiny jsou ukotveny v cytoplasmatické části plasmatické membrány. Patří do rodiny **monomerických GTPas (na rozdíl od G proteinů - trimerické GTPasy)**. Aktivace a funkce monomerických a trimerických GTPas je však obdobná. Nacházejí se v neustálém přechodu mezi **aktivním stavem**, kdy je na ně vázán **GTP**, a **inaktivním stavem**, kdy je vázán **GDP**. Ras proteiny jsou fosforylovány (aktivovány) receptorovými tyrosinkinasami, inaktivovány fosfatasami a hydrolýzou GTP, kterou samy uskutečňují.

**Fosforylace tyrosinů Ras proteinů**, kterou vykonávají receptorové tyrosinkinasy na cytoplasmatické straně plasmatické membrány, je záhy ukončena defosforylací specifickými **tyrosinfosfatasami**. Aktivované proteiny Ras se také samy inaktivují hydrolýzou navázaného **GTP** na **GDP**. Stimulace buněk k proliferaci a diferenciaci však vyžaduje dlouhodobou signalizaci. Další přenos signálu je zajištěn **fosforylací serinů a threoninů MAP-proteinkinas (mitogen-activated protein kinases)**. Fosforylace serinů a threoninů má delší trvání než fosforylace **tyrosinů proteinů Ras**.

Aktivní komplex Ras/GTP se váže k Raf-kinase (MAP-kinasa 1) a aktivuje ji fosforylací serinů a threoninů.

Do regulace aktivity Raf-kinasy jsou také zapojeny další proteinkinasy:

1. aktivaci Raf-proteinkinasy zvyšuje Src-proteinkinasa fosforylací thyrosinů;
2. proteinkinasa C fosforylací serinů;
3. fosforylace serinů proteinkinasou A má inhibiční účinek

Aktivní **Raf-kinasa** aktivuje fosforylací **MAP-kinasu 2** a ta aktivuje **MAP-kinasu 3**, která vstupuje do jádra. Zde dochází k aktivaci regulačního proteinu, který stimuluje aktivitu genů podílejících se zejména na regulaci buněčné proliferace.

Aktivované **Ras proteiny** fosforylují a tím **aktivují kaskádu tří typů MAP-kinas**. Navázáním první MAP-kinasy (označované Raf) k aktivovanému Ras proteinu dojde k její fosforylaci a tím aktivaci. Ta pak katalyzuje serin/threoninovou fosforylací další MAP-kinasy a tento enzym aktivuje další (třetí) MAP-kinasu. Aktivace poslední MAP-kinasy v kaskádě fosforylací MAP-kinas vyžaduje fosforylací jak **threoninu**, tak **tyrosinu**. Takto aktivovaná **třetí MAP-kinasa po vstupu do jádra fosforyluje nejprve regulační protein**, který je vázán ke krátké sekvenci DNA v regulační oblasti genů časně odpovědi – genu **myc, jun a fos**. Tím dochází k jejich transkripci.

Produkty genů pozdní odpovědi se účastní regulace buněčné proliferace. Patří mezi ně například hlavní složky řídicího systému buněčného cyklu – **cykliny a cyklin-dependentní proteinkinasy**.

### Receptory s tyrosinfosfatasovou aktivitou

Specifická aktivita těchto enzymů zajišťuje, že fosforylace tyrosinů trvá **velmi krátkou dobu**, a že v klidových buňkách je tyrosinů fosforylováno jen **malé množství**. Příkladem receptoru s tyrosinfosfatasovou aktivitou je membránový **glykoprotein CD45**, který se nachází na povrchu bílých krvinek. Účastní se aktivace T a B lymfocytů po setkání s cizími antigeny.

### Receptory s guanylátcyklasovou aktivitou

Jde například o receptor vázající **atriální natriuretické peptidy** (ANPs), což je skupina peptidových hormonů. Nacházejí se v buňkách ledvin a v buňkách **hladké svaloviny krevních cév**. Atriální natriuretické peptidy jsou secernovány svalovými **buňkami srdeční předsíně** při vzestupu krevního tlaku. Stimulují ledviny k exkreci Na<sup>+</sup> a vody a navozují relaxaci svalových buněk ve stěnách krevních cév. Oba tyto účinky vedou ke snížení krevního tlaku.

Receptory mají extracelulární oblast pro vazbu ANPs a intracelulární guanylátcyklasovou katalytickou doménu. Vazba ligandu s receptorem aktivuje cyklus k produkci cyklického 3',5'-GMP (cGMP). cGMP se váže k cGMP-dependentní proteinkinase a tím ji aktivuje k fosforylaci serinů a threoninů specifických proteinů, které se podílejí na dalším přenosu signálu a realizaci konečného projevu.

### Receptory s připojenou tyrosinkinasovou aktivitou

Líší se od receptorů s tyrosinkinasovou aktivitou tím, že tyrosinkinasa je v tomto případě kódována dalším samostatným genem (např. protoonkogenem src) a je nekovalentně připojena k cytoplasmatické části receptorového polypeptidického řetězce. Tyto receptory tvoří velkou heterogenní skupinu. Jsou to například receptory pro většinu **cytokinů**, které regulují proliferaci a diferenciaci buněk hemopoetického systému; antigen-specifické receptory na T a B lymfocytech; receptory hormonů (např. růstový hormon, prolaktin) a další.

Antigen je prezentován molekulami **MHC** a rozeznán receptory T lymfocytů (TCR); TCR je aktivován a předává signál prostřednictvím signálních molekul do jádra. Následně dochází k **expresi cytokinů**.

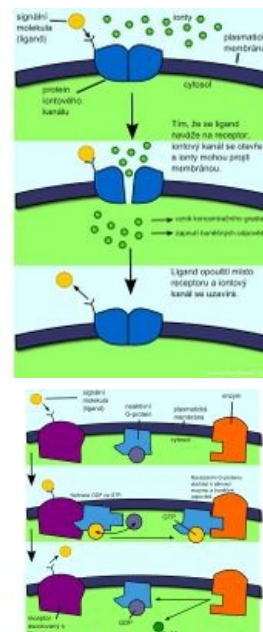
Sekretovaný cytokin se váže a aktivuje membránový receptor B lymfocytu s připojenou **tyrosinkinasovou aktivitou**. Tyrosinkinasa je kódována **protoonkogenem src**.

## Receptory spojené s iontovými kanály (ionotropní receptory)

Některé receptorové proteiny regulují navázáním signální molekuly činnost iontových kanálů. Jejich otevírání a zavírání je vlastní signalizační odpovědí. Po navázání nervového mediátoru se změní konformace receptoru a iontový kanál se uzavře nebo naopak otevře pro specifické ionty, které se pohybují po svém elektrochemickém gradientu a dochází ke změně membránového potenciálu. Tento typ buněčné signalizace se vyskytuje v tzv. vzrušivých tkáních - nervové soustavě a svalech.

## Receptory spojené s G-proteinem (GPCR = G-protein-coupled receptor)

Receptor je polypeptidový řetězec, který sedmkrát prochází membránou. V klidovém stavu se G-protein s receptorem pravděpodobně ani nedotýká. Je tvořen třemi podjednotkami  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ . Na  $\alpha$  podjednotce je v klidu navázán GDP. Po navázání ligandu se receptor spojí s G-proteinem a GDP je nahrazeno GTP. Ukončení signálu je doprovázeno hydrolýzou GTP zpět na GDP ( $\alpha$  podjednotka má *GTPázovou aktivitu*). Cílem působení aktivovaného G-proteinu (jeho disociované  $\alpha$  podjednotky nebo  $\beta\gamma$  komplexu) mohou být iontové kanály nebo enzymy v membráně. Nejčastěji je aktivována **adenylátcykláza** (tvorba cAMP) a **fosfolipáza C** (tvorba  $IP_3$  a DAG).



### Obecné schéma signální dráhy

Hormon  $\rightarrow$  membránový receptor  $\rightarrow$  G-protein  $\rightarrow$  adenylátcykláza  $\rightarrow$  cAMP  $\rightarrow$  proteinkináza A  $\rightarrow$

1. fosforylace enzymů ovlivňujících metabolismus (rychlé účinky);
2. fosforylace genových regulačních proteinů  $\rightarrow$  ovlivnění transkripce genů (pomalé účinky).

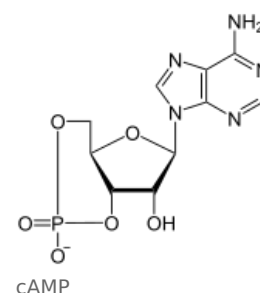
## Druzí poslové a jejich funkce

**Druzí neboli sekundární poslové** (anglicky *second messengers*) jsou malé, neproteinové, ve vodě rozpustné molekuly. Označují se druzí, protože první posel je signální molekula, která se váže na receptorový protein. Jsou součástí přenosu signálu v dráhách zahajovaných jak receptory spojenými s G-proteinem, tak enzymotropními receptory. Vznikají z lehce dosažitelných substrátů a mají krátký biologický poločas. Mezi druhé posly patří **cAMP**, **kalciové kationty**, **cGMP**, **inositol-1,4,5-trisfosfát**, **diacylglycerol**, **fosfatidylinositol-3,4,5-trisfosfát** a další. S výjimkou kalciových kationtů jsou druzí poslové syntetizováni specifickými enzymy po stimulaci membránových receptorů. Následně aktivují proteinkinázy, které fosforylují aminokyseliny serin nebo threonin v různých intracelulárních proteinech. Fosforylace mění aktivitu těchto proteinů ve smyslu aktivace nebo inhibice. Aktivita druhých poslů je omezená a jsou degradovány různými enzymy.

Druhý posel	Substrát	Enzym	Efektor	Degradace
cAMP	ATP	adenylátcykláza (AC)	proteinkináza A (PKA)	fosfodiesterázy (PDE)
cGMP	GTP	guanylátcykláza (GC)	proteinkináza G (PKG)	fosfodiesterázy (PDE)
kalciové kationty ( $Ca^{2+}$ )	-	uvolnění z ER po stimulaci $IP_3$	kalmodulin	zpětná resorpce do ER pomocí $Ca^{2+}$ ATP-ázy
inositol-1,4,5-trisfosfát ( $IP_3$ )	fosfatidylinositol-4,5-bisfosfát ( $PIP_2$ )	fosfolipáza C (PLC)	proteinkináza C (PKC)	fosfatázy - defosforylace na inositol
diacylglycerol (DAG)	fosfatidylinositol-4,5-bisfosfát ( $PIP_2$ )	fosfolipáza C (PLC)	proteinkináza C (PKC)	lipázy - vznik glycerolu a volných mastných kyselin
fosfatidylinositol-3,4,5-trisfosfát ( $PIP_3$ )	fosfatidylinositol-4,5-bisfosfát ( $PIP_2$ )	fosfatidylinositol-3-kináza ( $PI3K$ )	proteinkináza B (PKB)	fosfatáza PTEN - odštěpení fosfátu v poloze 3

## Cyklický adenosinmonofosfát (cAMP)

Cyklický AMP je tvořen z ATP enzymem **adenylátcyklázou**, která je zakotvena v cytoplazmatické membráně a aktivuje se přes G-protein po vazbě signální molekuly na membránový receptor. cAMP pak přenáší signál z cytoplazmatické membrány k metabolickým pochodům v cytoplasmě. Přenosová molekula následující cAMP je obvykle **proteinkináza A (cAMP-dependentní proteinkináza)**, která fosforyluje další proteiny. PKA-regulované proteiny se podílejí například na řízení metabolismu sacharidů a lipidů, transportu vody a iontů v ledvinách atd. cAMP nepřetrvává v buňce dlouho a je přeměněn **fosfodiesterázou** na AMP (adenosinmonofosfát).



## Cyklický guanosinmonofosfát (cGMP)

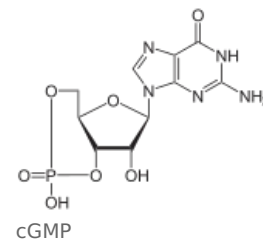
Vzniká obdobně jako cAMP, tj. je tvořen enzymem **guanylátcyklázou** z GTP. Guanylátcyklázová aktivita je aktivována např. atriovým natriuretickým peptidem (ANP)<sup>[2]</sup>. cGMP aktivuje **proteinkinázu G (cGMP-dependentní proteinkinázu)**, která fosforyluje cílové proteiny. Signální transdukcí zahrnující cGMP využívají



např. tyčinky v oční sítnici nebo buňky hladké svaloviny kavernózních těles penisu.

## Druzí poslové odvození z fosfatidylinositol-4,5-bisfosfátu

Fosfatidylinositol-4,5-bisfosfát (PIP<sub>2</sub>, též PtdIns(4,5)P<sub>2</sub>) je fosfolipid nacházející se v cytoplazmatické membráně. Z fosfatidylinositol-4,5-bisfosfátu mohou být syntetizováni druzí poslové, kteří ovlivňují 2 odlišné proteinkinázy.

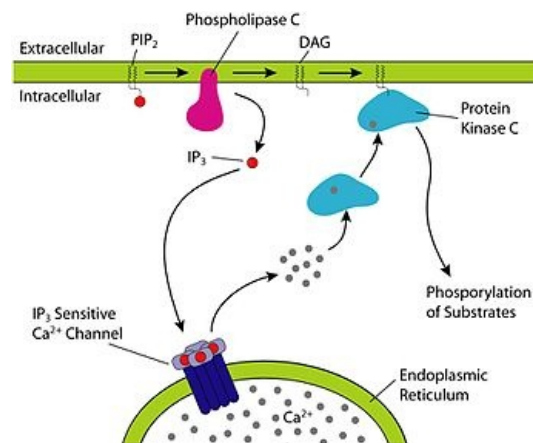


## Fosfatidylinositol-3,4,5-trisfosfát

Fosfatidylinositol-3,4,5-trisfosfát (PIP<sub>3</sub>, též PtdIns(3,4,5)P<sub>3</sub>) je syntetizován fosforylací PIP<sub>2</sub> enzymem **fosfatidylinositol-3-kinasou** (PI3K). Zůstává vázán ve vnitřním listu cytoplazmatické membrány a zde aktivuje *fosfatidylinositol-dependentní kinasu 1* (PDK1), která fosforyluje (a tím aktivuje) **proteinkinázu B**. Proteinkináza B (PKB, též nazývaná AKT) fosforyluje proteiny regulující proliferaci, buněčný cyklus a apoptózu.

## Diacylglycerol a inositol-1,4,5-trisfosfát

Signální molekula se naváže na receptor, a to vede k aktivaci enzymu fosfolipázy C, který štěpí fosfatidylinositol-4,5-bisfosfát na 1,2-diacylglycerol (DAG) a inositol-1,4,5-trisfosfát (IP<sub>3</sub>, též Ins(1,4,5)P<sub>3</sub>). Oba jsou druhými posly. IP<sub>3</sub> difunduje cytolem, naváže se na kalciový kanál v endoplazmatickém retikulu a tím ho otevírá. Kalciové kationty se uvolňují z endoplazmatického retikula a zvyšují hladinu Ca<sup>2+</sup> v cytosolu. DAG zůstává zanořený v cytoplazmatické membráně. DAG a kalciové ionty společně aktivují **proteinkinázu C**, která následně fosforyluje proteiny asociované s cytoskeletem a tím ovlivňuje kontrakci, migraci a sekreci v buňkách.



Fosfatidylinositolová dráha

## Kalciové kationty

Ca<sup>2+</sup> je častější sekundární posel než cAMP. Zvyšování koncentrace Ca<sup>2+</sup> způsobuje kontrakci svalové buňky nebo sekreci určitých látek. Buňky stále obsahují určité množství Ca<sup>2+</sup>, ale extracelulární hladina je daleko vyšší než intracelulární. Intracelulární hladina se zvyšuje otevřením kalciových kanálů v endoplazmatickém retikulu, které je způsobené navázáním IP<sub>3</sub> na tyto kanály. Kalciové kationty by se mohly považovat za třetí posly. Kalciové kationty aktivují další proteiny buď přímo nebo pomocí **kalmodulinu**, proteinu vázajícího Ca<sup>2+</sup>. Kalmodulin s navázanými kalciovými ionty aktivuje CaM-kinázy, které fosforylují další proteiny.

## Odkazy

### Související články

- Hormony
- G-protein
- Inzulin
- Cytokiny
- Růstové faktory
- Druzí poslové

### Reference

1. BRUCE, Alberts, D BRAY a A JOHNSON, et al. *Základy buněčné biologie*. 1. vydání. Ústí nad Labem : Espero Publishing, 1998. 630 s. ISBN 80-902906-0-4.
2. MATOUŠ, Bohuslav, et al. *Základy lékařské chemie a biochemie*. 1. vydání. Praha : Galén, 2010. 540 s. ISBN 978-80-7262-702-8.

### Použitá literatura

- GOETZ, Petr, et al. *Vybrané kapitoly z lékařské biologie, díl 2.* 1. vydání. Praha : Karolinum, 2002. ISBN 80-246-0320-9.
- BRUCE, Alberts, D BRAY a A JOHNSON, et al. *Základy buněčné biologie*. 1. vydání. Ústí nad Labem : Espero Publishing, 1998. 630 s. ISBN 80-902906-0-4.
- MATOUŠ, Bohuslav, et al. *Základy lékařské chemie a biochemie*. 1. vydání. Praha : Galén, 2010. 540 s. ISBN

978-80-7262-702-8.

- KOOLMAN, Jan a Klaus-Heinrich RÖHM. *Barevný atlas biochemie*. 1. vydání. Praha : Grada, 2012. 512 s. ISBN 978-80-247-2977-0.