

# Přenos signálů v buňkách

Existují 2 mechanismy této **interakce buňka-buňka**.

- První komunikační systém se děje cestou **přímého kontaktu** (ligand-receptor) pomocí adhezních molekul lokalizovaných na povrchu buněk.
- Druhý je realizován solubilními faktory jako jsou cytokiny.

## Adhezní molekuly

Různé typy **embryonálních tkání** (které se oddělí na jednotlivé buňky mnohem snadněji než tkáně dospělé) se po disociaci na jednotlivé buňky (v tkáňové kultuře) opět sdružují, a to tak, že k sobě přilnou (adherují) vždy **buňky stejného původu**, jako jater, ledviny, sítnice apod. **Adheze buněk je podmíněna účastí adhezních proteinů**. Jde o různorodou skupinu proteinů, které tvoří i specifické receptory na povrchu buněk. Jsou důležité pro:

- organizaci extracelulární matrix,
- regulaci buněčné interakce,
- ovlivnění migrace a utváření tvaru buněk.

Adhezní proteiny obsahují několik **specializovaných domén**. Všechny obsahují doménu, která se napojuje na buněčný povrch, jiná doména interaguje s kolagenem a další se váže na proteoglykany. Tripeptidová sekvence arginin-glycin-aspartát (**RGD-sekvence**) je nezbytná pro adhezivní schopnost buněk k extracelulární matrix. Podle struktury se dělí do několika rodin:

## Nadrodina imunoglobulinů

Čítá více než 70 členů, patří sem receptory T-buněk, imunoglobuliny, MHC-molekuly, CD2, CD3, CD4, CD8, NCAM, ICAM1-5, VCAM-1, PECAM-1. Všechny **obsahují jednu nebo více Ig-domén** jako základní motiv aminokyselinové sekvence. Členové imunoglobulinové rodiny se mohou vázat sami mezi sebou, kupř. MHC-molekuly se váží na receptory T-buněk nebo s integriny jako ICAM-1 se váže na LFA-1 a Mac-1 nebo s různými přídatnými receptory jako je interakce ICAM-1 a CD43. Její členové se vyskytují převážně v nervové tkáni. Ve své struktuře mají 2 základní domény:

1. opakující se klička homologní s imunoglobuliny provázaná disulfidickou vazbou,
2. opakující se sekvence (asi 100 aminokyselin) homologní s fibronectinem.

Mezi nejznámější patří:

### N-CAM (nerve-cell adhesion molecule)

Název říká, že jsou velmi důležité pro nervovou tkáň. Objevují se při začátku morfogeneze, rovnoměrně rozdělené podél **neurální trubice**. Začnou-li nervové buňky migrovat, N-CAM vymizí, ale opět se objeví, když migrace ustane a objeví se ganglia. Adhezní vlastnosti N-CAM jsou modulovány dlouhým řetězcem sialové kyseliny. Více sialinizované ztrácí svoji homofilii pro repulzi mezi negativními náboji sialové kyseliny.

## Selektiny

Tvoří malou rodinu, složenou ze 3 členů: **selektin E, P a L**. Na rozdíl od jiných adhezních molekul, které váží různé proteiny, selektiny se **váží na sacharidy** jako kupř. na PSGL-1 (P-selectin Glycoprotein Ligand-1). Strukturu selektinu tvoří:

- N-terminální Ca-dependentní lektinová doména,
- doména podobná epidermálnímu růstovému faktoru (EGF-like domain) napojená na několik opakujících se úseků,
- transmembránová oblast,
- cytoplasmatický konec.

Kontakt mezi leukocyty cirkulujícími v krvi a endotelovými buňkami cévní stěny je zprostředkován specifickými adhezními molekulami, kde hraje důležitou úlohu **P-selektin**. Jde o lektin tj. protein, který se váže na sacharidové molekuly. Selektiny se váží na specifické oligosacharidové sekvence glykoproteinů a glykolipidů. Ligandem pro P-selektin je oligosacharidová sekvence zvaná **sialyl-Lewis-x antigen**, která se vyskytuje v abundančním množství na povrchu leukocytů. Sialyl-Lewis antigen obsahuje 4 sacharidy, velmi specificky k sobě vázané (od konce: sialová kyselina – galaktosa – N-acetylglukosamin (a fukosa) – zbytek oligosacharidového řetězce).

## Integriny

Integriny jsou **hlavními mediátory adheze mezi buňkami a extracelulární matrix** (integriny „integrují“ intracelulární cytoskeleton s extracelulární matrix). Jsou to membránové glykoproteiny tvořené **dvěma podjednotkami (a a b)**. Jednotlivé integriny mohou vázat více ligandů a individuální molekuly matrix jsou schopny vázat více integrinů. Po chemické stránce jde o heterodimery a- a b-podjednotek.

## Regulace integrinové aktivity

Samotná přítomnost integrinu na povrchu buňky nestačí k vazbě příslušné ligandy. Je k tomu **potřeba aktivace**. Příkladem mohou být krevní destičky. Teprve po aktivaci destiček kolagenem nebo trombinem může integrin  $\alpha IIb\beta 3$  vázat fibrinogen. Tato interakce urychluje tvorbu trombu. Při této aktivaci dochází ke **konformačním změnám** proteinů cytoskeletu destiček, což umožní vazbu cytoskeletového proteinu na cytosolovou doménu integrinu. Pacienti s genetickým defektem  $\beta 3$ -integrinové podjednotky jsou náchylní k nadměrnému krvácení. Integriny mají relativně **nízkou afinitu ke svým ligandům**. Tato nízká vazebnost je kompenzována velkým počtem (stovek až tisíců na jedné buňce) integrinových molekul, které zakotvují buňky k extracelulární matrix. Na druhé straně v situaci, kdy buňka má putovat (migrace), tato relativně slabá vazba jednotlivých integrinů s různými ligandami umožňuje současně odpoutání (deaktivaci) kupř. od extracelulární matrix a zachycení (při aktivaci) na specifický cytosolový protein.

## Rodina kadherinů

je tvořena **Ca-dependentními adhezními molekulami**, které zprostředkovávají především homotypovou adhezi buňka-buňka. Mohou být tedy jak ligandem, tak receptorem. Jsou odpovědné za:

- selektivní adhezi mezi buňkami nebo rozřídění buněk (což je nezbytné pro umístění různých typů buněk do předem určeného místa během vývoje),
- udržení integrity multicelulárních organismů,
- diferenciaci buněk a vytváření struktur.

Jsou rozšířeny prakticky ve všech tkáních. V mozku je největší počet různých typů; dochází zde k vytváření množství velmi specifických kontaktů mezi buňkami. I když je známo více než 30 různých typů kadherinů, 50-60 % aminokyselinové sekvence je identická.

### E-kadherin

Označovaný také jako **uvomorulin** je intercelulárním pojítkem, které drží vrstvy epiteliálních buněk u sebe. Vrstvy polarizovaných epiteliálních buněk, jako jsou epitelie sliznice střevní nebo renálních tubulů, obsahují abundantní množství E-kadherinu na laterální straně buněk.

## Jiné adhezní molekuly

### CD44

Velmi rozšířený glykoprotein. Je na hematopoetických buňkách (B- a T-buňky, monocyty, neutrofilů), epitelových buňkách, fibroblastech, neuroglích. Existují různé varianty CD44. Standardní typ **váže hyaluronát**, varianty pak fibronectin, laminin, kolagen. CD44 vykazují též homotypovou interakci. Jsou důležité pro řadu imunitních reakcí, zejména pro interakci mezi leukocyty a endotelovými buňkami při migraci leukocytů do míst zánětu.

### VAP-1 (Vascular Adhesion Protein-1)

Je mediátorem **vazby lymfocytů na endotelovou buňku** (především na endotelové buňky venul periferních mízních uzlin). Exprese VAP-1 je indukována při **chronických zánětech** v cévách tonzil, střeva, kůže a synovie. Nalézá se též v jaterních sinusoidách, na cervixu a vaginální mukóze. Není na cirkulujících leukocytech v krvi. Je výrazně exprimován u psoriázy a alergických lézí, dále u zánětů tlustého střeva, chronických dermatóz. Zvýšená hladina je též u onemocnění jater.

## Extravazace

Monocyty (prekurzory makrofágů), které pohlcují a tráví cizorodé substance, neutrofilů uvolňující antibakteriální proteiny a T- a B-lymfocyty účastníci se imunitního obranného mechanismu se musí při infekci organismu dostat na postižené místo, kde vyvolají obrannou reakci (zánět). Výše zmíněné buňky cirkulující v krvi se musí nahromadit na postiženém místě, proniknout stěnou cévy a zahájit proces obrany v intersticiu. Tomuto jevu se říká **extravazace (zachycení na stěně a průnik)**.

### Sled pochodů při extravazaci

Volný leukocyt v krevním oběhu → koulejší se leukocyt po stěně cévy → adheze k endotelu → extravazace → invaze do intersticia.

## Cytokiny

Cytokiny jsou početnou, ale jedinečnou skupinou proteinových mediátorů, které jsou **secernovány většinou T-lymfocyty (CD4+) a makrofágy**, ale též jinými buňkami. Cytokiny produkované leukocyty se nazývají interleukiny (leukocyty se jimi ovlivňují navzájem). Z lymfocytů jsou secernovány lymfokiny a z makrofágů a monocytů monokiny. Cytokiny hrají důležitou úlohu při:

- aktivaci efektorové fáze vrozené i specifické imunity,
- kontrolují vývoj a funkci buněk imunitního systému, stejně tak i jiných buněk,

- jsou významnými molekulami, které mohou ovlivňovat proliferaci, diferenciaci a migraci buněk.

Na rozdíl od hormonů jsou cytokiny produkovány nikoliv v žláзовých útvarech, ale různými jednotlivými buňkami, především působí lokálně: parakrinně nebo autokrinně, nikoliv jako hormony endokrinně. Cytokiny mají **pleiotropní účinek** (jeden cytokin má více efektů); působí i **redundantně** (více cytokinů má stejný účinek) a někdy též **antagonisticky** (jeden cytokin inhibuje jiný). Jejich aktivitu lze rozdělit do pěti větších okruhů:

- vývoj humorální a buněčné imunitní odpovědi,
- navození zánětlivé reakce,
- regulace hematopoese,
- kontrola buněčné proliferace a diferenciaci,
- indukce hojení poranění.

Účinek jednotlivých cytokinů je dosti obtížné předpovědět. Nevykonávají je samy ale spolu s jinými cytokiny nebo dalšími molekulami, a to jak synergicky tak antagonisticky. Cytokiny obvykle **startují kaskádu produkce dalších cytokinů**, ve které následující cytokin může ovlivnit předcházející. Cytokiny sice nemají samy antigenovou specifitu, ale cytokinové receptory, které jsou exprimovány na povrchu buněk, které byly předtím aktivovány antigenem, realizují antigen-specifickou imunitní odpověď. Cytokiny secernované primárně z leukocytů stimulují humorální a celulární imunitní odpověď, stejně jako aktivaci fagocytů. Některé cytokiny jsou exprimovány na povrchu buněk, jiné mohou být skladovány v extracelulární matrix. Jsou většinou produkovány po velmi krátké období po aktivaci buňky při imunitní nebo zánětlivé odpovědi.

Z historického hlediska mohou být cytokiny rozděleny podle jejich hlavního účinku do pěti tříd:

- Interleukiny (IL-1 až IL-18) – regulují interakci mezi leukocyty; některé jsou růstovými faktory zaměřené na hematopoetické buňky.
- Interferony (α, β, γ, ω) – jsou produkovány jako odpověď na virovou infekci. Jsou však i potentními imunomodulátory. Mohou podporovat nebo tlumit tvorbu protilátek z aktivovaných B-lymfocytů, dále mohou aktivovat makrofágy, NK-buňky a T-lymfocyty. Mají též přímou antiproliferační aktivitu a jsou cytostatické nebo cytotoxické vůči různým typům nádorových buněk.
- Chemokiny – působí při chemotaxi nebo zánětu (kupř. IL-8). Jsou to multipotentní cytokiny, které lokalizují nebo podporují zánětlivou reakci navozením chemotaxe (přitahováním zánětlivých buněk do místa afekce) a především aktivací zánětlivých buněk v postiženém místě. Jsou též nezbytnými mediátory pro normální migraci leukocytů.
- **Faktory stimulující kolonie (CSF)** – ovlivňují růst a množení určitých typů progenitorových buněk. Kupř. G-CSF je faktor stimulující kolonie progenitorových buněk granulocytů k proliferaci a diferenciaci. M-CSF ovlivňuje proliferaci a diferenciaci kmenových buněk na makrofágy, především diferenciaci na monocyty. GM-CSF je odpovědný za růst a vývoj progenitorů jak granulocytů, tak makrofágů.
- **Tumor-nekrotizující faktory (TNF)** – jsou odvozeny od makrofágů, mají antitumorovou aktivitu. Rodina TNF se skládá ze dvou molekulových jedinců, TNFα a TNFβ. TNFα navozuje expresi jiných autokrinních růstových faktorů, zvyšuje odpověď buněk na růstové faktory a indukuje signální dráhy, které vedou k proliferaci. Kromě toho navozuje expresi řady proto-onkogenů v jádře, stejně jako jiných interleukinů. TNFβ je charakterizován schopností ničit řadu různých typů buněk nebo indukovat u jiných terminální diferenciaci. Indukce TNFβ má za následek zvýšení IL-2 a interakci antigenu s receptory na T-buňkách.

Podle hlavního účinku můžeme cytokiny klasifikovat do 4 velkých skupin:

### Prozánětlivé cytokiny

Patří sem **TNF, IL-1, IL-6**. Jsou hlavními molekulami, které navozují a posilují každou zánětlivou odpověď. Jsou secernovány většinou buněk už v počáteční fázi zánětu. Jejich účinek spočívá ve změnách v místě postižení:

- mobilizace buněk prezentujících antigen,
- aktivace endotelových buněk k expresi adhezních molekul.

To se projeví vývojem a pomnožením zánětlivých buněk (leukocytů a monocytů/ makro-fágů). IL-1 a TNF také působí systémově a vedou k navození reakce akutní fáze, včetně vzniku horečky.

### Chemokiny

**IL-8** je prototypem, má chemoatrakční účinek pro všechny známé migrující imunokompetentní buňky, **IL-16** navozuje migraci u T-lymfocytů (CD4+), též u monocytů a eosinofilů; **IL-3** je chemoatraktantem pro eosinofily. Chemokiny vytvářejí jakousi síť nad endotelovými buňkami a jsou potřebné pro vznik adhezních molekul na povrchu leukocytů. Vytvářejí též chemotaktický gradient pro pohyb zánětlivých buněk.

### Cytokiny pro hematopoezu

**Faktory stimulující kolonie** (G-CSF, M-CSF, MG-CSF) a některé cytokiny (jako **IL-3**) hrají klíčovou úlohu pro vývoj zánětlivých buněk z progenitorů v kostní dřeni. Některé cytokiny indukují též specifickou diferenciaci z hematopoetických kmenových buněk.

### Imunomodulační cytokiny

Patří k nim především **IL-2, IL-4, IL-5, IFNγ** a další. Jsou důležité zejména pro rozvoj T- a B-buněk po stimulaci. Navozují jak aktivaci, stejně jako určují typ imunitní odpovědi.

# Cytokiny secernované TH-lymfocyty (CD4+)

## Účinek cytokinů Typu 1

- **IL-2** - po iniciální stimulaci TH-lymfocytů (pomáhajících T-lymfocytů) buňkami prezentujícími antigen, je secernován IL-2, který buňky aktivuje jako antigen i jako mitogen zralé klidové T-lymfocyty. IL-2 interakcí se svým vysoce afinitním receptorem podporuje klonální expanzi efektorových T-buněk, původně aktivovaných antigenem.
- **IL-12** přímo navozuje iniciální vývoj Th1 buněk a tvorbu Th1 buněk secernujících IFN $\gamma$ . IL-12 je také asi supresorem produkce IgE navozené IL-4. IFN $\gamma$  kontroluje třídu protilátek tvořených B-buňkami, snižuje expresi antigenového komplexu MHC I. a II. třídy a zvyšuje účinnost zneškodňování intracelulárních parazitů pomocí makrofágů.

## Účinek cytokinů Typu 2

- **IL-4** Th2-buňkami vyvolává v rámci humorální odpovědi **selektivní produkci isotypů imunoglobulinů** IgG, IgA a IgE. IL-4 reguluje expresi povrchových antigenů na B-buňkách, což má za následek podporu antigen-prezentující kapacity B-buněk.
- **IL-5** hraje důležitou úlohu jako eosinofilní hematopoetický růstový faktor. Také modifikuje funkci bazofilů a navozuje jejich diferenciaci. Má velmi důležitou úlohu ve vzniku přecitlivělostní reakce a jiných chorob sdružených s infiltrací eosinofilů. IL-5 také stimuluje B-buňky k diferenciaci na buňky secernující imunoglobuliny.
- **IL-10** vykonává široké spektrum aktivity na řadu buněk jak s imunosupresivním, tak imunostimulačním efektem. IL-10 produkovaný Th2-buňkami inhibuje produkci cytokinů, hlavně IFN $\gamma$ , tvořenými v Th1-buňkách po aktivaci antigenem. Je též potentním regulátorem tlumícím buňkami zprostředkovanou imunitní odpověď, což způsobuje jeho silný protizánětlivý účinek.
- **IL-13** je pleiotropní cytokin, produkovaný aktivovanými Th2-buňkami. Má asi vliv na morfologii a vznik fenotypů u monocytů navozenou expresí IgE-receptorů a potlačením exprese komplexu MHC II. třídy. Také se účastní přesmyku produkce IgE a IL-4-dependentního IgG4 a syntézy IgE v přítomnosti T-buněk.

## Cytokinové receptory

Účinek cytokinů, kterým ovlivňují růst a diferenciaci buněk, je odvislý od jejich rozpoznání a vazbě na specifické receptory. Tyto receptory lokalizované na buněčné membráně převádějí příslušný signál do nitra buňky, kde spouští signální kaskádu. Vazba s příslušným ligandem dá vzniknout aktivnímu vícesložkovému komplexu, což často spočívá v oligomerizaci ligand-vázajících podjednotek s následnou transdukcí signálu až do buněčného jádra. Cytokinové receptory lze podle jejich základní struktury klasifikovat do 4 skupin:

- **Nadrodina IL-1 receptorů**: IL-1RI, IL-1RII, IL-1RAcP, IL-18Ra, IL-18Rb; CSF-1R, PDGF-Rb.
- **Třída I (pro hematopoetiny)**: IL-2Rb, IL-2Rg, IL-3Ra,b, IL-4Ra, IL-5Ra, IL-6Ra, IL-7a, IL-9R, IL-11R(gp130), IL-12Rb1,b2, IL-13R, IL-15R, GM-CSF-Ra,b,

G-CSF-R (obsahuje ustálené motivy složení fragmentů řetězce tj. CCCC a Trp-Ser-X-Trp-Ser čili WSXWS).

- **Třída II (pro interferony)**: IFN $\gamma$  - Ra,b (obsahují ustálený motiv CCCC).
- **Nadrodina TNF-receptorů (TNF-R)**: TNF-RI, TNF-RII, CD40 (B-buňky), NGF-R a dále Fas, CD27 (T, B-buňky) (obsahují opakující se sledy C1, C3, C2).

## Odkazy

### Zdroj

- ŠTEFÁNEK, Jiří. *Medicína, nemoci, studium na 1. LF UK* [online]. [cit. 11. 2. 2010]. <<https://www.stefajir.cz/>>.
- MASOPUST, Jaroslav. *Patobiochemie buňky* [online]. ©2003. [cit. 17.03.2011]. <<http://dotdiag.cz/img/prednasky/bunka.pdf>>.