

Київський національний університет імені Тараса Шевченка
Навчально-науковий центр «Інститут біології та медицини»
Кафедра біофізики та нейробиології

Н.Є. Нурищенко, О.Ю. Артеменко

«БІОФІЗИЧНІ МЕХАНІЗМИ УШКОДЖЕННЯ КЛІТИН»

Методичні рекомендації до самостійної роботи студентів
4 курсу (освітній рівень «Бакалавр») ОП «Біологія»
Розроблено у відповідності до робочої програми дисципліни
“Біофізичні механізми ушкодження клітин”

Затверджено на засіданні
Вченої Ради ННЦ «Інститут біології та медицини»,
протокол №12 від 14 квітня 2026 року
Голова Вченої Ради, проф. Дмитро ЛУКАШОВ

Рецензенти:

О.В. Цимбалюк, д.б.н, професор кафедри молекулярної біотехнології та біоінформатики Інституту високих технологій Київського національного університету імені Тараса Шевченка

Ю.В. Данилович, д.б.н., провідний науковий співробітник Відділу біохімії м'язів Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна Національної академії наук України

Київ – 2026

ЗМІСТ

1. Основні принципи міжклітинної комунікації.....	4
1.1 Контактні та дистантні міжклітинні взаємодії.....	4
1.2 Етапи проведення клітинного сигналу.....	6
2. Ядерна та мембранна рецепція.....	14
2.1 Ядерні рецептори – це ліганд-активовані регуляторні білки генів....	15
2.2 Мембранні рецептори.....	18
2.3 Припинення або зниження сигнальної відповіді.....	20
3. Основні сигнальні шляхи, що активуються мембранними рецепторами.....	21
4. Білок-білкові взаємодії в передачі сигналу в клітині.....	25
5. Контактні міжклітинні взаємодії.....	32
6. Структура та функціонування G-протеїн спряжених рецепторів.....	39
7. Завдання для самостійної роботи.....	47
7.1 Приклади з відповідями ситуаційних завдань та тестів.....	47
7.2 Завдання та тести для самоконтролю.....	51
Список рекомендованих джерел.....	55

Багатоклітинні організми складаються з різних типів клітин, які повинні координувати свою поведінку для забезпечення функціонування багатоклітинного організму в цілому.

У багатоклітинних організмах клітини постійно надсилають і отримують хімічні повідомлення для координації дій інших органів, тканин і клітин. Можливість швидко та ефективно надсилати інформацію дозволяє клітинам координувати та тонко налаштовувати свої функції. Хоча необхідність клітинної комунікації у більших організмів здається очевидною, навіть одноклітинні організми спілкуються між собою. Деякі види бактерій координують свою діяльність, щоб утворити великі комплекси, які називаються біоплівками, або організувати вироблення токсинів для видалення конкуруючих організмів. Здатність клітин спілкуватися через хімічні сигнали виникла в окремих клітинах і була необхідною для еволюції багатоклітинних організмів. Ефективна, безпомилкова комунікація є життєво важливою.

Координація клітинної активності залежить від взаємодій між різними типами клітин і тканинами в організмі – міжклітинної комунікації (МКК). МКК є фундаментальною характеристикою багатоклітинних організмів, оскільки динамічна мережа зв'язку, що встановлюється між клітинами, відіграє ключову роль у різних біологічних процесах. Ця взаємодія є невід'ємною частиною функціонування живих організмів, регулюючи клітинний метаболізм, трансформацію енергії, підтримку фізіологічних функцій, регуляцію росту, розвитку, імунних відповідей, функцій окремих клітин та інші критичні життєві процеси. Наприклад, під час імунних відповідей МКК дозволяють імунним клітинам розпізнавати та боротися з патогенами. Під час росту та розвитку МКК регулюють проліферацію та диференціацію клітин, сприяючи нормальному розвитку органів і тканин. Захворювання зазвичай проявляються, коли клітини не взаємодіють правильно або неправильно інтерпретують молекулярну інформацію.

Основні принципи міжклітинної комунікації

Контактні та дистантні міжклітинні взаємодії

Комунікація між клітинами — це важливий процес, за допомогою якого клітини надсилають, отримують та інтерпретують сигнали для координації та регуляції життєво важливих процесів в організмі. Мережа, необхідна для надсилання та отримання цих повідомлень, є складною. Вона складається з армії молекул-месенджерів, які розподіляють сигнал між клітинами (сигнальні молекули). Вони шукають цілі, які отримують початковий сигнал (рецептори). І нарешті, взаємодія месенджерів і рецепторів створює фінальний клітинний наслідок (реакція клітини на початковий сигнал).

МКК відбуваються за двома механізмами:

- через прямий контакт клітин між собою або білками позаклітинного матриксу (*контактні МКК*);
- через екзогенні або ендогенні сигнальні молекули - спеціалізовані і мобільні регулятори клітинної відповіді, які передають інформацію клітинам, що не мають прямого контакту між собою (*дистантні МКК*). Сигнальні молекули секретуються одними клітинами і зв'язуються з рецепторами, які експресуються на інших або тих самих клітинах

Таким чином, основними типами зв'язку між клітинами є:

- **Контактні взаємодії**, що здійснюються у формі щільних з'єднань, щільні контакти та адгезивних контактів. Такий тип контактів ще називають юкстакринною сигналізацією.
- **Дистантні взаємодії**, що здійснюються у формі *паракринної* сигналізації, коли клітини передають сигнали сусіднім клітинам, вивільняючи ліганди в позаклітинному просторі; *ендокринної* сигналізації, коли зв'язок відбувається на великій відстані, де гормони розносяться током

крові або лімфи до всіх цільових клітин в організмі; *аутокринної* сигналізації, коли клітини відповідають на сигнальні молекули, які самі секретують.

МКК відображають фундаментальний рівень регуляції, запускаючи реакції на сигнали внутрішнього або зовнішнього середовища, необхідні для виживання. Коли клітин спілкуються одна з одною, позаклітинні сигнали зазвичай індукують внутрішньоклітинні каскади передачі сигналів, що призводить до клітинних реакцій, таких як зміни в цитоскелеті, метаболізмі або експресії генів. Сигнальні шляхи є основою внутрішньої комунікації та реакції на зовнішнє середовище в організмах. Вони відповідають за перетворення позаклітинних сигналів у внутрішньоклітинні реакції, тим самим регулюючи поведінку та функції клітин. Ці шляхи включають серію молекулярних подій - отримання сигналів, посилення, розподіл та запуск специфічних клітинних реакцій. Клітинна відповідь залежить від того, що є білком мішенню (рис.1).

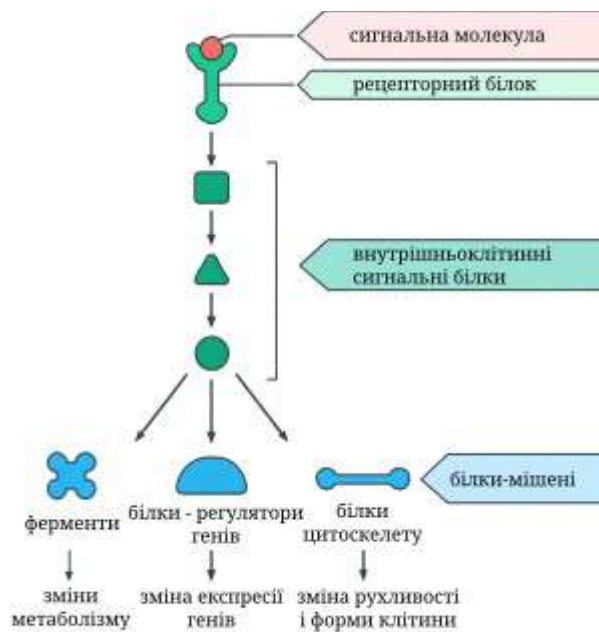


Рис.1 Схематичний шлях передачі і перетворення сигналу в клітині

Етапи проведення клітинного сигналу

Клітинна комунікація включає розпізнавання, отримання та реагування клітинами на зовнішні або внутрішні сигнали, які можуть бути світлом, електрикою або хімічними молекулами. Взаємодія їх з рецепторами активує низку біохімічних процесів, що відіграють важливу роль у координації функцій клітин. Клітинна комунікація включає передачу сигналів від генерації до клітинної відповіді. Трансдукція клітинного сигналу – це процес, за допомогою якого біологічна інформація (збудження або гальмування) трансформується, посилюється та передається між клітинами або всередині клітин, що призводить до різних біологічних ефектів. Зазвичай це стосується трансмембранної передачі сигналу, де біоактивні речовини активують або пригнічують функцію клітин через рецептори або іонні канали. Зазвичай хімічні речовини, що беруть участь у міжклітинній передачі сигналу або внутрішньоклітинній передачі сигналу, відомі як сигнальні молекули, тоді як невеликі молекули, що спеціалізуються на перенесенні біологічної інформації, називаються молекулами-месенджерами. Ланцюги сигнальних молекул, які завершують перетворення та передачу біологічної інформації всередині клітин або між клітинами, називаються шляхами передачі сигналу. Отже, суть трансдукції клітинного сигналу полягає у внутрішньоклітинній трансформації та передачі біологічної інформації через специфічні шляхи передачі сигналу, що може включати регулювання процесів експресії генів пов'язаних функціональних білків, змінами метаболізму та цитоскелету.

Таким чином, підсумовуючи можна констатувати - якщо сигнал сприймається мембранними рецепторами, то схему передачі інформації можна представити так: взаємодія сигнальної молекули (первинного посередника) з рецептором; активація сигнальних білків, в тому числі і тих, що відповідають за утворення вторинного посередника (ц-АМФ, ц-ГМФ, ІФ₃, ДАГ, Ca²⁺); активація вторинними переносниками специфічних білків, в

основному протеїнкіназ, які, в свою чергу, фосфорилуючи білки-мішені спричиняють вплив на внутрішньоклітинні процеси.

Виробництво та вивільнення сигнальних молекул

Клітини спілкуються за допомогою сотень видів сигнальних молекул. До них належать білки, малі пептиди, амінокислоти, нуклеотиди, стероїди, ретиноїди, похідні жирних кислот і навіть розчинені гази, такі як оксид азоту, сірководень та монооксид вуглецю. Більшість цих сигнальних молекул секретуються із сигнальної клітини в позаклітинний простір шляхом екзоцитозу. Інші вивільняються шляхом дифузії через плазматичну мембрану, а деякі потрапляють у позаклітинний простір, залишаючись щільно зв'язаними з поверхнею сигнальної клітини.

Нейрони, як первинні клітини, що беруть участь в обробці інформації, бувають безлічі різних типів клітин, що відрізняються морфологією, розташуванням, зв'язком та хімічними властивостями. Різні хімічні речовини, що передають інформацію між нейронами, відомі як нейромедіатори. Завдяки центральній ролі нейромедіаторів у функціонуванні мозку, рецептори нейромедіаторів разом з іншими білками, що беруть участь у синтезі та деактивації нейромедіаторів, стають критичними мішенями у розробці препаратів для лікування психічних та нервових розладів, болю та багатьох інших станів. Газоподібні нейромедіатори, такі як оксид азоту (NO) та чадний газ (CO₂), також регулюють як вазодилатацію, так і нейронну передачу. Нейромедіатори забезпечують швидку передачу інформації. На противагу цьому, гормональна комунікація ґрунтується на синтезі та поширенні безлічі гормонів у поєднанні з їх транспортуванням кровотоком/лімфотоком, що робить її менш швидкою, але характеризується більш стійкою регуляцією. Ці дві системи комунікації взаємно доповнюють один одного, причому нервові стимули здатні впливати на секрецію певних гормонів, і навпаки. Деякі гормони призначені для взаємодії виключно з обмеженим набором клітин-мішеней, тоді як інші впливають на широкий

спектр типів клітин по всьому організму. Для збереження гомеостазу та ефективної адаптації до змін навколишнього середовища біосинтез та вивільнення гормонів підлягають суворій регуляції. Цей регуляторний механізм досягається завдяки складній взаємодії між кількома гормонами, які взаємно регулюють один одного. Гормони відіграють ключову роль в організації безлічі функцій організму, включаючи ріст і розвиток, метаболічні процеси, електролітний баланс та репродуктивні функції.

Цитокіни виробляються такими клітинами, як імунні, ендотеліальні тощо у відповідь на специфічні подразники, такі як інфекція, травма, запальні реакції або дія інших цитокінів, і вивільняються у позаклітинне середовище. Цитокіни здатні активувати різні типи клітин у певній тканині або ініціювати різноманітні сигнальні шляхи в межах певного типу клітин. Порушення регуляції експресії цитокінів, які виступають ключовими медіаторами міжклітинної комунікації в імунній системі, або їх внутрішньоклітинних сигнальних шляхів, порушує імунний гомеостаз, що сприяє розвитку патологій, таких як хронічне запалення, аутоімунні синдроми та злоякісні пухлини.

Коли клітини отримують стимули для вивільнення сигнальних молекул, такі як електричні, хімічні або механічні сигнали, везикули, що зберігають ці сигнальні молекули, переміщуються до клітинної мембрани та зливаються з нею. Шляхом екзоцитозу сигнальні молекули вивільняються за межі клітини, процес, який особливо важливий для білків та деяких великих сигнальних молекул. З іншого боку, деякі малі молекули та ліпофільні сигнальні молекули безпосередньо проходять через клітинну мембрану, щоб увійти або вийти з клітини без процесів, опосередкованих везикулами. Окрім NO та CO₂, ще однією добре відомою газоподібною сигнальною молекулою є сірководень. Ці газоподібні молекули унікальні за своїм способом дії, оскільки вони можуть вільно дифундувати через клітинні мембрани,

забезпечуючи швидку передачу сигналів без потреби в специфічних рецепторах або транспортних механізмах для їх вивільнення та дії.

Передача сигнальних молекул

Сигнальні молекули можуть досягати клітин-мішеней через дифузію, кровообіг, прямий контакт або міжклітинні з'єднання.

Для сигналів на великі відстані основним способом передачі є кровотік. Ендокринні клітини регулюють вироблення та вивільнення гормонів, контролюючи концентрацію певних речовин у крові, таких як глюкоза, електроліти та інші гормони. Потім ці гормони транспортуються до різних частин тіла через кровотік, надаючи регуляторний вплив на віддалені клітини-мішені, тим самим підтримуючи фізіологічну рівновагу та адаптуючись до змін у зовнішньому середовищі. Для локальних сигналів більш поширеною є передача через міжклітинні простори або прямий контакт клітин. Нейромедіатори переважно передають інформацію через паракринну сигналізацію. Вони виробляються та вивільняються нейронами на пресинаптичній мембрані та передаються через синаптичну щілину до сусіднього постсинаптичного нейрона або ефекторної клітини. Після вивільнення нейромедіатори дифундують через синапси. Поряд з переважно хімічними синапсами існують також електричні синапси, що сприяють міжклітинному потоку іонів через щілинні контакти. Електричні синапси дозволяють передавати прості електричні сигнали між нейронами, тоді як хімічні синапси дозволяють передавати збудження, гальмування та складну біохімічну інформацію між клітинами. Цитокіни зазвичай діють на сусідні клітини через паракринну сигналізацію, особливо під час імунних реакцій та запалення. Однак у деяких випадках вони також можуть вивільнятися в кровотік для регулювання системних імунних реакцій та запалення. Певні цитокіни, що існують у мембранозв'язаній формі, потребують прямого контакту з рецепторами на сусідніх клітинах для передачі сигналів.

Зв'язування сигнальних молекул з рецепторами

Незалежно від природи сигналу, клітина-мішень реагує за допомогою специфічного білка, який називається рецептором. Рецептори - це білки або глікопротеїни, призначені для розпізнавання та зв'язування специфічних сигнальних молекул, перетворюючи зовнішні сигнали на внутрішні. Позаклітинні сигнальні молекули часто діють при дуже низьких концентраціях (зазвичай $\leq 10^{-6}$ М), а рецептори, які їх розпізнають, зазвичай зв'язуються з ними з високою спорідненістю (константа спорідненості $K_a \geq 10^{-6}$ л/моль).

Більшість сигнальних молекул (лігандів) є гідрофільними і тому не можуть безпосередньо перетинати плазматичну мембрану; натомість вони зв'язуються з рецепторами на поверхні клітини, утворюючи комплекс рецептор-сигнальна молекула (ліганд). При цьому рецептори активуються та генерують каскад внутрішньоклітинних сигналів, які змінюють поведінку клітини. В інших випадках рецептори знаходяться всередині клітини-мішені або в цитозолі, або в ядрі. Сигнальна молекула повинна потрапити в клітину, щоб активувати їх: це вимагає, щоб сигнальні молекули були достатньо малими та гідрофобними для дифундування через плазматичну мембрану. Багато з цих сигнальних молекул транспортуються кровотоком та іншими позаклітинними рідинами після зв'язування з білками-носіями, від яких вони дисоціюють перед потраплянням у клітину-мішень.

Тобто, сигнальні молекули специфічно зв'язуються з рецепторами на поверхні або всередині клітини-мішені, утворюючи комплекси рецептор-ліганд, які активують рецептор. Рецептори мають сайти зв'язування, які є висококомплементарними до сигнальних молекул. Це дозволяє останнім специфічно розпізнавати та зв'язуватися з відповідними рецепторами, що індукуює конформаційну зміну рецептора, тим самим активуючи його. Для рецепторів клітинної поверхні ця конформаційна зміна може безпосередньо запускати внутрішньоклітинні сигнальні шляхи. Для внутрішньоклітинних

рецепторів, таких як рецептори стероїдних гормонів, комплекс гормон-рецептор часто переміщується в ядро, взаємодіє з ДНК та впливає на експресію специфічних генів.

Типова клітина багатоклітинного організму піддається впливу сотень різних сигналів у своєму середовищі. Ці сигнали можуть бути розчинними, зв'язаними з позаклітинним матриксом або зв'язаними з поверхнею сусідньої клітини, і вони можуть діяти в багатьох мільйонах комбінацій. Клітина повинна реагувати на цей хаос сигналів вибірково, відповідно до свого власного специфічного характеру, який вона набула завдяки прогресивній спеціалізації у процесі розвитку. Клітина може бути запрограмована реагувати на одну комбінацію сигналів шляхом диференціації, на іншу комбінацію - шляхом поділу, ще одну - шляхом виконання певної спеціалізованої функції, такої як скорочення або секреція. Це пояснюється тим, що кожен тип клітин має набір рецепторів, що дозволяє йому реагувати на відповідний набір сигнальних молекул. Якщо клітину позбавити відповідних сигналів виживання, вона зазнає форми клітинного самогубства, відомої як запрограмована клітинна смерть або апоптоз.

Конкретний спосіб, яким клітина реагує на навколишнє середовище, різниться. Різні клітини можуть по-різному реагувати на одну й ту саму позаклітинну сигнальну молекулу. Це залежить по-перше, від набору рецепторних білків, які має клітина, що визначає конкретну підмножину сигналів, на які вона може реагувати. По-друге, відповідь клітини залежить від внутрішньоклітинного механізму передачі інформації, що активується конформаційними змінами рецептора, за допомогою якого клітина інтегрує та інтерпретує отримані сигнали. Таким чином, одна сигнальна молекула часто має різний вплив на різні клітини-мішені.

Передача та посилення сигналу

Більшість активованих рецепторів на мембрані клітини передають сигнали через малі молекули – вторинні месенджери та мережу внутрішньоклітинних сигнальних білків

Внутрішньоклітинні сигнальні білки передають сигнал у клітині, активуючи наступний сигнальний білок у ланцюзі або генеруючи малі внутрішньоклітинні медіатори. Ці білки можна класифікувати за їхньою конкретною функцією, хоча багато з них належать до кількох категорій.

Сигнали, отримані на поверхні клітини рецепторами, пов'язаними з G-білком або ферментами, передаються всередину клітини за допомогою комбінації малих і великих внутрішньоклітинних сигнальних молекул. Результуючий ланцюг внутрішньоклітинних сигнальних подій зрештою змінює цільові білки, і ці змінені цільові білки відповідають за модифікацію поведінки клітини.

Сигнали трансдукуються та посилюються всередині клітини за допомогою таких механізмів, як вторинні месенджери, білки-перемикачі, каскади ферментів тощо.

Вторинні месенджери генеруються у великій кількості у відповідь на активацію рецепторів і швидко дифундують від свого джерела, транслуючи сигнал в інші частини клітини. Цей процес активує або пригнічує специфічні білки та ферменти-мішені, запускаючи каскад наступних реакцій. Наприклад, циклічний аденозинмонофосфату (цАМФ), як вторинний месенджер в клітині, здатен перетворювати реакцію рецептора клітинної поверхні на зв'язування з сигнальними молекулами у внутрішньоклітинну біохімічну активність. Підвищення та зниження рівня цАМФ мають вирішальне значення для передачі сигналу. Коли зовнішні сигнальні молекули, такі як адреналін, зв'язуються з GPCR, активуються пов'язані G-білки. α -субодиниця G-білка активує аденілатциклазу (AC), перетворюючи АТФ на цАМФ.

цАМФ, який служить вторинним месенджером, активує протеїнкіназу А (РКА). В свою чергу РКА фосфорилує і, відповідно, активує різні сигнальні білки, залежно від типу клітини. У клітинах серця збільшення цАМФ призводить до активації РКА, яка фосфорилує кальцієві канали L-типу, збільшуючи приплив іонів кальцію, тим самим посилюючи скоротливу силу серця. Деградація цАМФ каталізується цАМФ-фосфодіестеразою, яка перетворює цАМФ на АМФ, тим самим припиняючи передачу сигналу, опосередковану цАМФ. Іони кальцію (Ca^{2+}) є також важливими вторинними месенджерами, що беруть участь у різних сигнальних шляхах. Коли зовнішні сигнали, такі як нейромедіатори або гормони, діють на клітини, відкриття кальцієвих каналів або вивільнення Ca^{2+} з ендоплазматичного ретикулуму може спричинити збільшення внутрішньоклітинної концентрації Ca^{2+} . Згодом Ca^{2+} зв'язується з кальмодуліном, а потім активує ферменти нижче за течією, такі як Са/кальмодулін-залежна протеїнкіназа II (СаМКII), впливаючи на різні процеси в клітині. Під час нейротрансмісії вивільнення нейромедіаторів викликає відкриття кальцієвих каналів на постсинаптичній мембрані, дозволяючи Ca^{2+} надходити в клітину, активуючи сигнальні шляхи, пов'язані з навчанням і пам'яттю, такі як активація СаМКII, що сприяє зміцненню синапсів. Такі вторинні месенджери як ц-АМФ та Ca^{2+} , інозитолтрифосфат, ц-ГМФ є водорозчинними та дифундують у цитозолі, тоді як інші, такі як діацилгліцерол, є ліпідорозчинними та дифундують у площині плазматичної мембрани. В будь-якому випадку вони посилюють сигнал і передають його далі, зв'язуючись з сигнальними білками або білками=мішенями та змінюючи їх поведінку.

Білки-перемикачі, такі як G-білки та Ras, регулюють активацію та гальмування певних сигнальних шляхів. Білок Ras – це мала ГТФаза, яка бере участь у регуляції сигнальних шляхів для проліферації та диференціації клітин. Коли фактори росту, такі як епідермальний фактор росту (EGF), зв'язуються зі своїм рецептором – рецептором епідермального фактора росту

(EGFR), EGFR активує Ras, що призводить до перемикання Ras зі стану, пов'язаного з GDP, в активований стан, пов'язаний з GTP. Активація Ras сприяє активації шляху мітоген-активованої протеїнкінази (MAPK) або позаклітинної сигнально-регульованої кінази (ERK), впливаючи на експресію регуляторних білків клітинного циклу, таких як циклін D, і сприяючи переходу клітини в проліферативний стан.

Каскади ферментів включають серію ферментів, які активують або пригнічують один одного, посилюючи та регулюючи сигнали (наприклад, PKA, MAPK). У шляху MAPK Raf (MAPKKK) активує MEK (MAPKK), який, у свою чергу, активує ERK (MAPK). Кожен крок активації може призвести до фосфорилування кількох білків нижче за течією. У відповідь на клітинний стрес активується шлях p38 MAPK, що призводить до збільшення експресії білків запальної відповіді, таких як фактор некрозу пухлини α (TNF- α), що беруть участь у клітинній відповіді на стрес і запалення.

Клітинна реакція

Сигнальна трансдукція зрештою впливає на фізіологічні функції клітини, включаючи зміни метаболічної активності, регуляцію експресії генів, зміни форми або руху залежно від білка-мішені, що лежить на кінці сигнал-трансдукторних шляхів.

Ядерна та мембранна рецепція

Сигнальна молекула - ліганд - зв'язується з рецептором на мембрані, або в цитоплазмі. При цитоплазматичній рецепції СМ без перешкод потрапляє до цитоплазми через гідрофобний шар клітинної мембрани, де взаємодіє з відповідними рецепторами. При мембранній рецепції утворення ліганд-рецепторного комплексу на плазматичній мембрані ініціює конформаційні перебудови рецептора, що у свою чергу є сигналом для активації відповідних процесів переносу інформації.

Ядерні рецептори – це ліганд-активовані регуляторні білки генів

Як було зазначено раніше, невеликі гідрофобні сигнальні молекули дифундують безпосередньо через плазматичну мембрану клітин-мішеней і зв'язуються з внутрішньоклітинними рецепторними білками. Ці сигнальні молекули включають стероїдні гормони, гормони щитовидної залози, ретиноїди та вітамін D. Хоча вони значно відрізняються одна від одної як за хімічною структурою, так і за функцією, всі вони діють за схожим механізмом. Коли ці сигнальні молекули зв'язуються зі своїми рецепторними білками, вони активують рецептори, які зв'язуються з ДНК для регуляції транскрипції певних генів. Всі рецептори структурно пов'язані, будучи частиною надродини ядерних рецепторів. Ця дуже велика надродина також включає деякі рецепторні білки, які активуються внутрішньоклітинними метаболітами, а не секретованими сигнальними молекулами. Багато членів родини були ідентифіковані лише за допомогою секвенування ДНК, і їхній ліганд ще не відомий; тому ці білки називаються орфанними ядерними рецепторами (рис. 2).

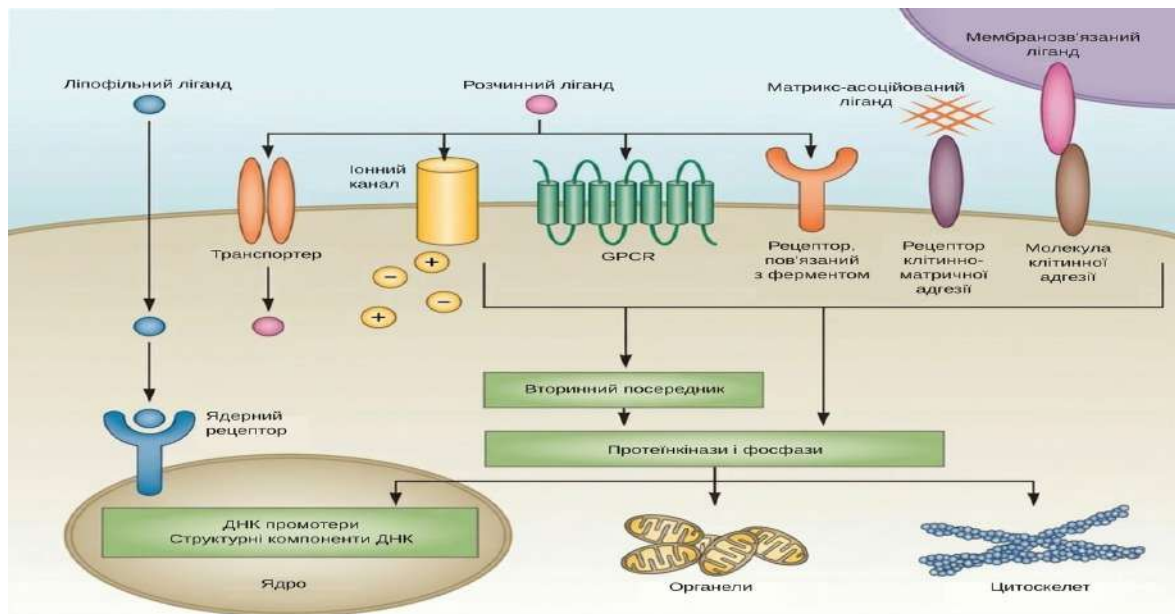


Рис.2. Різні типи клітинних рецепторів

Стероїдні гормони, до яких належать кортизол, стероїдні статеві гормони, вітамін D (у хребетних) та гормон линяння екдизон (у комах), утворюються з холестерину. Кортизол виробляється в корі надниркових залоз і впливає на метаболізм багатьох типів клітин. Стероїдні статеві гормони виробляються в яєчках і яєчниках, і вони відповідають за вторинні статеві ознаки, що відрізняють самців від самок. Вітамін D синтезується в шкірі у відповідь на сонячне світло; після того, як він перетворюється на активну форму в печінці або нирках регулює метаболізм Ca^{2+} , сприяючи поглинанню Ca^{2+} у кишечнику та зменшуючи його виділення нирками. Гормони щитовидної залози, які утворюються з амінокислоти тирозину, впливають на швидкості метаболізму в широкому спектрі типів клітин, тоді як ретиноїди, такі як ретиноева кислота, утворюються з вітаміну A та відіграють важливу роль як місцеві медіатори в розвитку хребетних. Хоча всі ці сигнальні молекули відносно нерозчинні у воді, вони стають розчинними для транспортування в кровотоці та інших позаклітинних рідинах шляхом зв'язування зі специфічними білками-носіями, від яких вони дисоціюють перед потраплянням у клітину-мішень.

Окрім фундаментальної різниці у способі передачі сигналів до клітин-мішеней, більшість водонерозчинних сигнальних молекул відрізняються від

водорозчинних тривалістю їх перебування в кровотоці або тканинних рідинах. Більшість водорозчинних гормонів видаляються та/або розщеплюються протягом кількох хвилин після потрапляння в кров, а місцеві медіатори та нейромедіатори видаляються з позаклітинного простору ще швидше — протягом кількох секунд або мілісекунд. Стероїдні гормони, навпаки, зберігаються в крові протягом кількох годин, а гормони щитовидної залози — протягом кількох днів. Отже, водорозчинні сигнальні молекули зазвичай опосередковують реакції короткої тривалості, тоді як водонерозчинні, як правило, опосередковують реакції, які є більш тривалими.

Внутрішньоклітинні рецептори для стероїдних і тиреоїдних гормонів, ретиноїдів і вітаміну D після зв'язування з сигнальними молекулами димеризуються і зв'язуються зі специфічними послідовностями ДНК, що прилягають до генів, які регулює синтез певних білків. Деякі рецептори, такі як рецептори кортизолу, розташовані переважно в цитозолі та потрапляють у ядро після зв'язування ліганду; інші, такі як рецептори щитовидної залози та ретиноїди, зв'язуються з ДНК у ядрі навіть за відсутності ліганду. В будь-якому випадку неактивні рецептори зв'язуються з інгібіторними білковими комплексами, і зв'язування ліганду змінює конформацію рецепторного білка, що призводить до дисоціації інгібіторного комплексу. Зв'язування ліганду також призводить до зв'язування рецептора з білками-коактиваторами, які індукують транскрипцію генів. Транскрипційна відповідь зазвичай відбувається послідовно: пряма активація невеликої кількості специфічних генів відбувається протягом приблизно 30 хвилин і становить первинну відповідь; білкові продукти цих генів, у свою чергу, активують інші гени, викликаючи затримку вторинної відповіді; і так далі. Таким чином, простий гормональний тригер може спричинити дуже складну зміну в характері експресії генів.

Реакції на стероїдні та тиреоїдні гормони, вітамін D та ретиноїди, як і реакції на позаклітинні сигнали загалом, визначаються як природою клітини-

мішені, так і природою сигнальної молекули. Багато типів клітин мають ідентичний внутрішньоклітинний рецептор, але набір генів, які регулює рецептор, відрізняється в кожному типі клітин. Це пояснюється тим, що для активації транскрипції еукаріотичного гена зазвичай має зв'язуватися більше одного типу регуляторних білків генів. Тому внутрішньоклітинний рецептор може активувати ген лише за наявності правильної комбінації інших регуляторних білків, і багато з них є специфічними для певного типу клітин. Таким чином, кожен із цих гормонів індукує характерний набір реакцій у тварини з двох причин. По-перше, лише певні типи клітин мають до нього рецептори. По-друге, кожен із цих типів клітин містить різну комбінацію інших специфічних для певного типу клітин регуляторних білків, які взаємодіють з активованим рецептором, щоб впливати на транскрипцію певних наборів генів.

Мембранні рецептори

Три найбільші класи рецепторних білків клітинної поверхні – це рецептори, пов'язані з іонними каналами, G-білками та ферментами (див. Рис. 2).

Усі водорозчинні сигнальні молекули зв'язуються зі специфічними рецепторними білками на мембрані клітин-мішеней, на які вони впливають. Ці рецепторні білки діють як перетворювачі сигналів. Вони перетворюють позаклітинну подію зв'язування ліганду на внутрішньоклітинні сигнали, які змінюють стан клітини-мішені.

Більшість мембранних рецепторів належать до одного з трьох класів, що визначаються механізмом трансдукції, який вони використовують. Найбільшими класами мембранних рецепторів є

(А) Рецептори, пов'язані з іонними каналами,

(В) рецептори, пов'язані з G-білком, та

(C) рецептори, пов'язані з ферментами. Хоча багато рецепторів, пов'язаних з ферментами, мають власну ферментативну активність, багато інших залежать від зв'язаних з ними ферментів.

Рецептори, пов'язані з іонними каналами, також відомі як ліганд-залежні іонні канали або іонотропні рецептори. Рецептори – іонні канали - це рецептори плазматичної мембрани, субодиниці яких об'єднуються з утворенням внутрішнього іонного каналу. Конформаційні зміни, що відбуваються при зв'язуванні лігандів, тимчасово відкривають або закривають іонний канал. Відбувається короточасна зміна іонної проникності плазматичної мембрани, що впливає на процеси, що відбуваються в клітині.

G-білок-зв'язані рецептори (GPCR) опосередковано регулюють активність ефекторних білків через GTP-зв'язуючі білки (G-білки). Активація GPCR веде до зміни його конформації, в якій він здатний активувати тримірні G-білки, що складаються з α , β та γ субодиниць. Заміна ГДФ на ГТФ в активному центрі α -субодиниці призводить до її активації і дисоціації на α -субодиницю і $\beta\gamma$ –комплекс, які, в свою чергу, активують ряд ензимів, що каталізують утворення вторинних месенджерів. Останні активують відповідні сигнальні білки з кінцевою специфічною клітинною відповіддю. Всі G-білок-зв'язані рецептори належать до великої родини трансмембранних білків, що мають 7 трансмембранних доменів.

Фермент-зв'язані рецептори при активації відповідними лігандами функціонують як ферменти внаслідок наявності каталітичного внутрішньоклітинного домену. Також це рецептори, які у внутрішньоклітинній частині безпосередньо зв'язані з і з ферментами, які вони активують. Ці рецептори є трансмембранними білками, які мають ліганд-зв'язуючий сайт поза клітиною, а каталітичний або фермент-зв'язуючий сайт - всередині. Ферментно-пов'язані рецептори мають гетерогенну структуру порівняно з двома іншими класами. Однак переважна

більшість є протеїнкіназами або пов'язані з протеїнкіназами, і зв'язування лігандів з ними викликає фосфорилування певних наборів білків у клітині-мішені.

Існують деякі рецептори на поверхні клітини, які не входять до жодного з вищезазначених класів.

Припинення або зниження сигнальної відповіді

Для підтримки чутливості та адаптивності клітини до зовнішніх подразників реакції на сигнальні молекули повинні бути припинені або зменшені. Цього можна досягти шляхом десенсибілізації рецепторів, зниження регуляції рецепторів, деградації, гідролізу вторинних месенджерів або білків-перемикачів, а також регуляції негативного зворотного зв'язку, яка включає молекули-ефектори нижче за течією, що пригнічують сигнальні молекули вище за течією, утворюючи замкнене коло. Тривалий вплив високих концентрацій агоністів (таких як адреналін) призводить до десенсибілізації та зниження регуляції відповідних GPCR. Процес десенсибілізації часто включає фосфорилування рецептора через залучення β -арестину для зв'язування з рецептором, запобігаючи подальшій активації G-білків, одночасно сприяючи інтерналізації рецептора. Інтерналізовані рецептори можуть транспортуватися до лізосом для деградації (зниження регуляції) або дефосфорилуватися та повертатися назад на поверхню клітини. Цей процес призводить до зменшення кількості рецепторів на поверхні клітини, знижуючи чутливість клітини до агоніста.

Основні сигнальні шляхи, що активуються мембранними рецепторами

З'єднання ліганду зі специфічним рецептором запускає певний клітинний сигнальний шлях. Передача сигналу, опосередкована ядерними рецепторами, при якій ліпідорозчинні ліганди потрапляють у клітину шляхом простої дифузії та безпосередньо зв'язуються з цитоплазматичними або ядерними рецепторами, зазвичай впливає на експресію генів. Водорозчинні ліганди або фізичні сигнали діють на мембранні рецептори і викликають ефекти через трансмембранні та внутрішньоклітинні механізми передачі сигналу (рис. 3). Слід зазначити, що більшість шляхів передачі сигналу, опосередкованих мембранними рецепторами, також можуть змінювати активність факторів транскрипції та впливати на експресію генів.

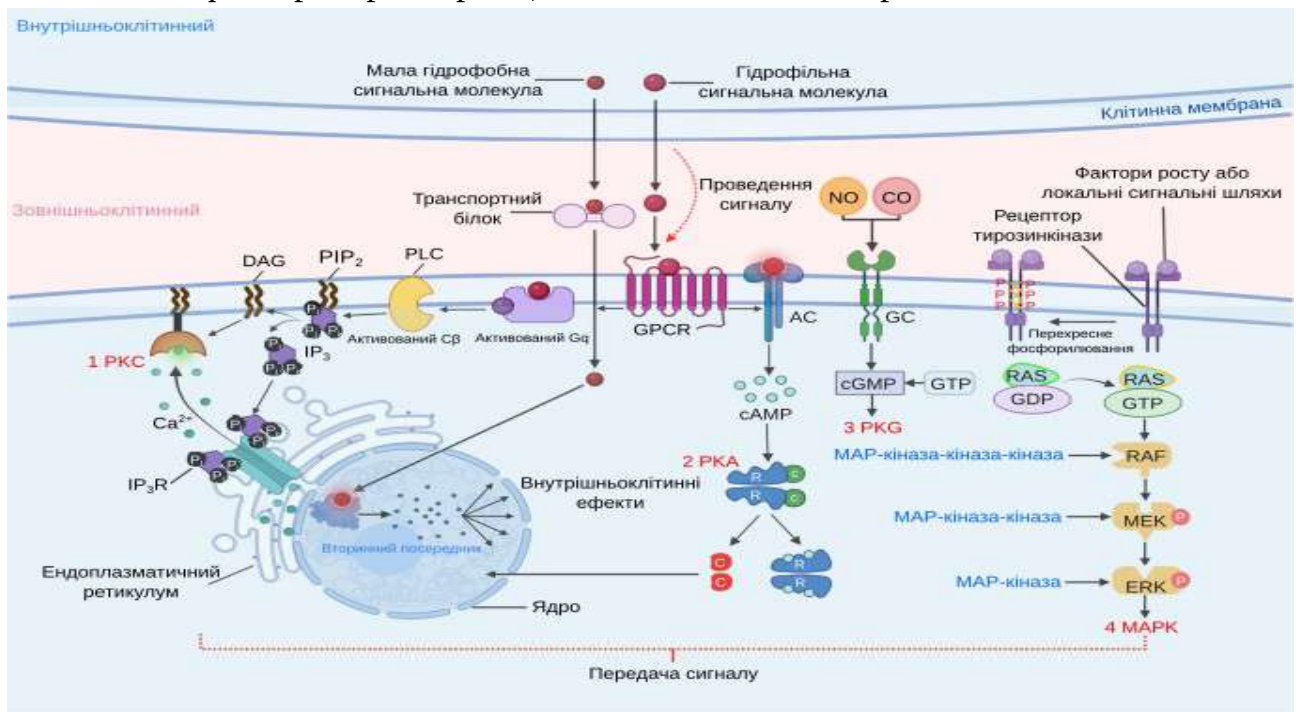


Рис. 3. Основні внутрішньоклітинні шляхи переносу інформації в клітині

Шлях GPCR

Шлях GPCR регулює численні сигнальні каскади, зокрема, включаючи систему PKA, шлях інозитолтрифосфату (IP3) та шлях кальциневринзалежної протеїнкінази (Ca/CaM). Ці три шляхи разом складають основу передачі сигналу GPCR (див. рис. 3).

Аденілатциклазна сигнальна система. Система PKA працює в рамках **цАМФ залежного сигнального шляху**. Це сигнальний шлях, який

викликає відповідь шляхом регулювання рівня цАМФ, який, в свою чергу, регулюється аденілатциклазою. Зв'язування сигнальної молекули з рецептором активує система G-білків, що веде до збільшення активності аденілатциклази як ефекторного білка. цАМФ, що при цьому утворюється, активує РКА, яка має безліч білків-мішеней і активує їх залежно від типу та стану клітини.

Фосфоліпаза С–залежний сигнальний шлях. Фосфоліпаза С (PLC) каталізує гідроліз мембранних фосфотидилінозитол-4,5-дифосфатів (PIP_2) до діацилгліцерола (DAG) та інозитолтрифосфату (IP_3). IP_3 активує вихід Ca^{2+} з внутрішньоклітинних депо. Діацилгліцеол разом Ca^{2+} активує білки сімейства протеїнкінази С (PKC), які надалі фосфорилують залежні від них протеїни.

Шлях Ca/CaM активується через серію взаємодій, що включають іони кальцію, кальмодулін та фосфатазну активність самого кальциневрину. Цей шлях включає вивільнення іонів кальцію з ендоплазматичного ретикулуму або відкриття кальцієвих іонних каналів на клітинній мембрані, що призводить до збільшення концентрації іонів кальцію в цитоплазмі. Потім іони кальцію зв'язуються з кальмодуліном, тим самим активуючи активність протеїнкіназ. Ця активація може впливати на фізіологічні функції клітини, регулюючи стан фосфорилування субстратів.

Шлях ферментативно-зв'язаного рецептора

Ферментативно-зв'язані рецептори, зазвичай мономерні трансмембранні білки, що мають ферментативну активність у своїх внутрішньоклітинних областях або безпосередньо взаємодіють з білками, які мають ферментативну активність. Активність ферментативно-зв'язаних рецепторів суворо регулюється, включаючи індуковану зв'язуванням лігандів димеризацію рецепторів, фосфорилування та механізми негативного зворотного зв'язку. Ліганди, такі як фактори росту, зв'язуються з позаклітинним доменом рецептора, індукуючи димеризацію або

олігомеризацію рецептора, тим самим активуючи його внутрішньоклітинну ферментативну активність.

Існує декілька типів фермент-зв'язаних рецепторів, серед яких найважливішими найпоширенішими є рецепторні тирозинкінази (РТК). РТК відносяться до рецепторів, внутрішньоклітинна частина мембрани яких має тирозинкіназну активність. Після димеризації рецептора внаслідок зв'язування з лігандом, внутрішньоклітинні ферментативні домени фосфорилують один одного, активуючи ферментативну активність рецептора. Активованій рецептор передає сигнали шляхом фосфорилування білків нижче за течією (таких як протеїнкінази та фактори транскрипції), запускаючи серію каскадних реакцій, які зрештою призводять до змін в експресії специфічних генів, метаболізмі та регуляції стану клітин. Припинення передачі сигналу зазвичай досягається за допомогою таких механізмів, як дефосфорилування рецептора, ендоцитоз та деградація. Активуючи різноманітні сигнальні молекули та шляхи нижче за течією, фермент-пов'язані рецептори беруть участь у регуляції фізіологічних функцій, включаючи проліферацію клітин, диференціацію, міграцію, метаболізм та виживання (див. рис. 3).

Більшість факторів росту, інсулін та деякі пептидні гормони передаються через цей тип рецепторів. Повідомлялося, що білки, що кодуються багатьма онкогенами ретровірусів, проявляють активність РТК. Тобто, РТК не тільки відіграють роль у передачі позаклітинної інформації, але й беруть участь у злоякісній трансформації та проліферації клітин. Інгібітори РТК розглядаються як перспективні терапевтичні засоби для лікування онкологічних захворювань.

Ras-MAPK – це важливий сигнальний шлях, опосередкований РТК, який складається переважно з трьох ключових кіназ: Ras, Raf та MAPK (рис.4). Коли клітини стимулюються факторами росту, такими як EGF, PDGF, рецептори факторів росту (наприклад, EGFR, PDGFR) активуються, що призводить до накопичення GTP-зв'язаного Ras (Ras-GTP). Потім Ras-

GTP на клітинній мембрані активує Raf-кіназу, фосфорилуючи та активуючи MAPKK (MEK), яка, у свою чергу, фосфорилує та активує MAPK (ERK). MAPK здатна фосфорилувати субстрати, що знаходяться нижче за течією, якими часто є транскрипційні фактори (такі як Elk1, Fos, Jun) або інші білки, що змінюють стан клітин. Аберантна активація сигнального шляху Ras-MAPK впливає на багато захворювань, включаючи рак та нейродегенеративні патології.

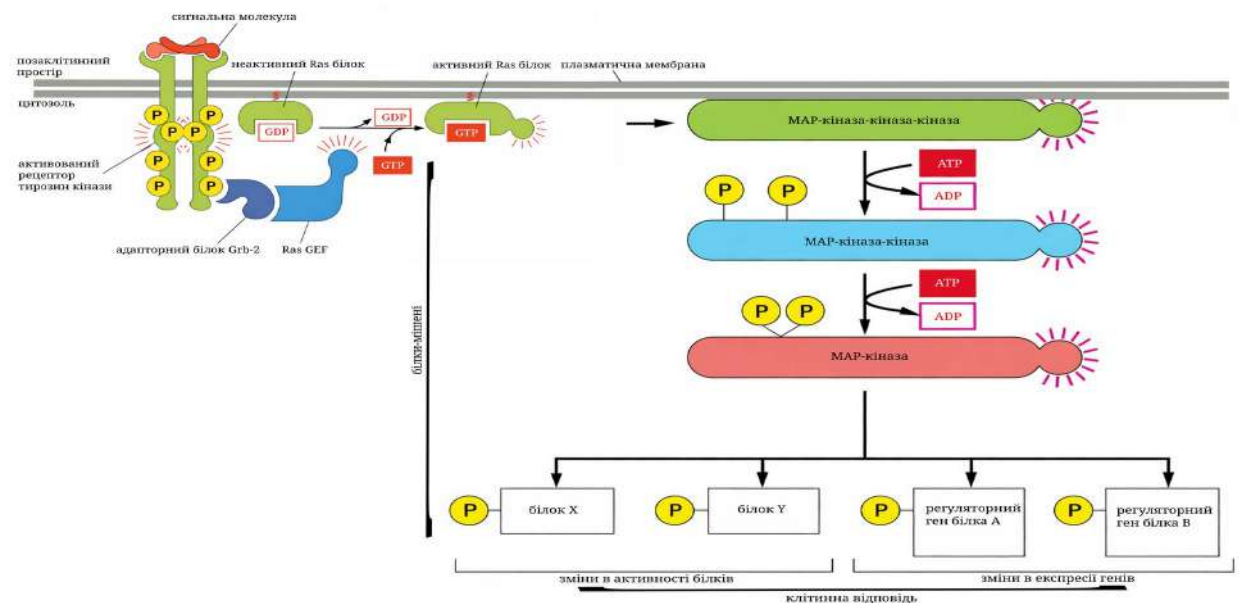


Рис.4. Ras-MAPK сигнальний шлях передачі інформації через рецепторні тирозинкінази

Ще один шлях, що активується РТК, – це сигнальний шлях РІЗК–Акт. Коли ліганди, такі як фактори росту, зв'язуються з РТК, ті зазнають автофосфорилування та активації, що стимулює залучення та активацію РІЗК поблизу рецептора. Активований РІЗК перетворює мембранні ліпіди РІР2 на фосфатидилінозитол-3,4,5-трисфосфат (РІР3). РІР3, діючи як вторинний месенджер, активує Акт (ПКВ), тим самим ініціюючи серію реакцій, що впливають на виживання, проліферацію, ріст та метаболізм клітин. Прикладом може бути активація сигнального шляху фосфоінозитид-3-кінази (РІЗК)/Акт через рецептор інсуліну. Через цей

сигнальний шлях збільшуються поверхнева експресія транспортера глюкози GLUT4 та поглинання глюкози клітинами. Аналогічно, в клітинах печінки інсулін також забезпечує активацію сигнального шляху PI3K/Akt і таким чином сприяє активації глікогенсинтази, збільшуючи синтез глікогену та знижуючи рівень глюкози в крові.

Окрім згаданих вище сигнальних шляхів, фермент-зв'язані рецептори також опосередковують шлях JAK/STAT та шлях TGF- β -Smad. Сигнальний шлях JAK-STAT зазвичай активується рецепторами цитокінів, яким бракує власної тирозинкіназної активності, але вони взаємодіють з внутрішньоклітинними тирозинкіназами родини JAK. Зв'язування цитокінів (таких як інтерферони та інтерлейкіни) зі специфічними рецепторами сприяє активації JAK. Активовані JAK фосфорилують рецептори, забезпечуючи місця з'єднання для зв'язування та активації STAT. Активовані STAT димеризуються, а потім переміщуються до ядра, де вони безпосередньо регулюють експресію генів-мішеней. Крім того, сигнальний шлях TGF- β переважно опосередковується класом рецепторів, відомих як серин/треонінкіназні рецептори, які мають серин/треонінкіназну активність у своїй внутрішньоклітинній області. Коли ліганди родини TGF- β , такі як TGF- β , кісткові морфогенетичні білки (BMP), активіни тощо, зв'язуються з цими рецепторами, вони спонукають рецепторні кінази фосфорилувати білки Smad. Фосфорильовані білки Smad далі взаємодіють з іншими білками Smad або ДНК-зв'язуючими білками, передаючи сигнал від клітинної мембрани до ядра, тим самим регулюючи експресію специфічних генів.

Білок-білкові взаємодії в передачі сигналу в клітині

Шляхи передачі інформації визначаються складною мережею білок-білкових та білок-нуклеїнових взаємодій, які регулюють внутрішньо- та міжклітинну активність. Майже всі клітинні процеси контролюються такими

взаємодіями, включаючи рухливість, ріст, проліферацію, експресію генів, виживання та апоптоз.

Оскільки сигнальні білки не можуть дифундувати так швидко, як малі вторинні месенджери, для функціонування вони повинні бути просторово наближеними, утворюючи білкові комплекси. Ці комплекси діють як центральні вузли обробки інформації, що дозволяють клітинам точно реагувати на зміни внутрішнього і навколишнього середовища.

Можливість утворення білкових комплексів забезпечується їх доменною структурою. Доменна організація сигнальних білків - це модульна будова, при якій білок складається з незалежних структурно стабільних функціональних блоків (доменів). Кожен домен відповідає за конкретну функцію: зв'язування молекул, фосфорилування чи білок-білкову взаємодію. Зв'язуючі домени специфічно взаємодіють з певними амінокислотними послідовностями таргетних протеїнів (наприклад, домени SH2 та SH3 зв'язуються з фосфотирозином та пролін-багатими послідовностями відповідно).

Деякі сигнальні білки окрім ферментативних доменів містять домени зв'язування (SH2, SH3, РТВ, РН тощо), які дозволяють взаємодіяти з іншими білками (рис. 5). Деякі мають лише зв'язуючі домени, що дозволяє їм діяти як адапторні, каркасні або якірні для об'єднання інших білків. Ці комплекси можуть бути або тимчасовими (наприклад, у відповідь на стимуляцію фактором росту), або стабільними. Однак білок-білкові взаємодії не є випадковими, оскільки специфічні взаємодії між зв'язуючими доменами та їхніми сайтами розпізнавання визначатимуть точний(і) шлях(и), якими пройде передача сигналу.

SH2-домен виконує функцію специфічного впізнавання фосфотирозинових залишків, який зв'язується з рТуг-містними пептидами з 1000-кратно більшою спорідненістю, ніж до нефосфорильованих аналогів пептидів. Оточення фосфорильованого залишку тирозину забезпечує

специфічне впізнавання і різну спорідненість до окремих SH2-вмісних субстратів.

На прикладі SH2-домену тирозинкінази Src, яка має як SH2, так і SH3-домени, а також кіназний домен ми проілюструємо, що селективність розпізнавання мотиву зв'язуючим доменом, надається амінокислотною послідовністю, що прилягає до фосфорильованого тирозинового залишку.

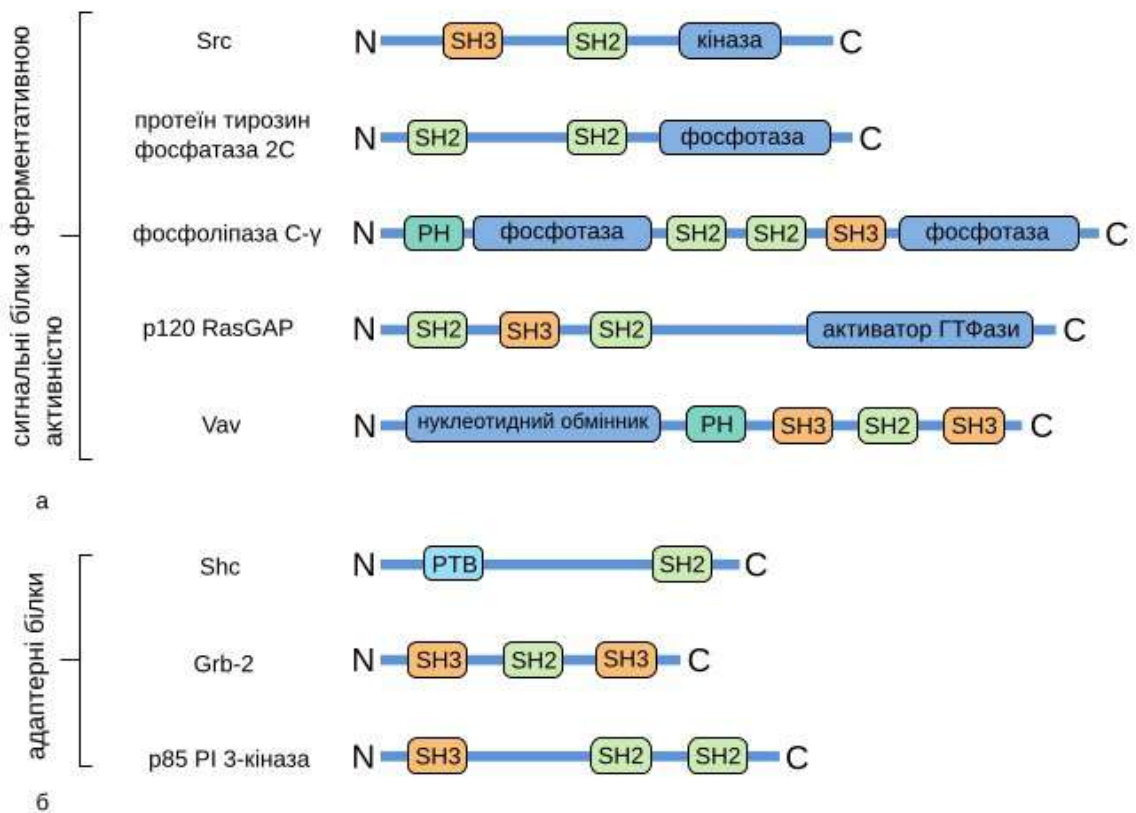


Рис.5 Приклади сигнальних білків з різними доменами зв'язування. Окрім ферментативних доменів, сигнальні білки містять домени зв'язування (SH2, SH3, PTB, PH тощо), які дозволяють взаємодіяти з іншими білками.

Основні структурні елементи SH2-домену складаються з центрального гідрофобного антипаралельного β -листа, оточеного двома короткими α -спіралями, які разом утворюють компакту сплюснену півкулю з двома поверхневими кишнями. SH2-домен зв'язується з поліпептидним

субстратом, що містить фосфотирозин, через ці поверхневі кишені (Рисунок 6). Одна кишеня (кишеня фосфотирозину) являє собою сайт зв'язування з фосфотирозином, тоді як кишеня специфічності дозволяє взаємодію із залишками, відмінними від фосфотирозину, зокрема з третім залишком в бік С-кінця. Так, наприклад, SH2-домен Src розпізнає послідовність pYXXI, де X - гідрофільна амінокислота, I - ізолейцин, а pY - фосфорильований тирозин. Зауважте, що всі білки, що містять цю послідовність амінокислот, є передбачуваними партнерами зв'язування для SH2-домену Src, включаючи С-кінцевий фосфотирозин (pY 527) самого Src.

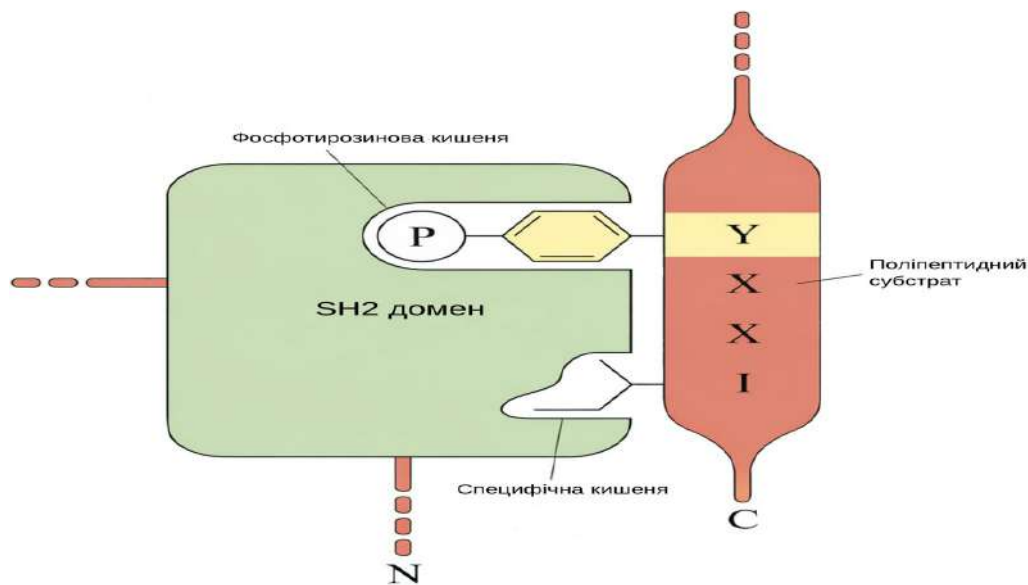


Рис.6. Розпізнавання фосфотирозином і прилеглими амінокислотами SH2-домену.

Ключовою амінокислотою SH2-доменів є високо консервативний амінокислотний залишок аргініну, який контактує з негативним зарядом фосфорильованого тирозину(фосфотирозинова кишеня). За специфічність зв'язування відповідають амінокислотні залишки, які межують з фосфотирозином (кишеня специфічності). Наприклад, це – залишок

ізолейцину в позиції +3; він з високою специфічністю зв'язується кишеною SH2-домену.

РТВ-домени також впізнають фосфотирозинові залишки, але які містяться поряд зі специфічними амінокислотними послідовностями у напрямку N-кінця протеїну, з яким взаємодіють.

Поверхня **домену SH3** має плоску, гідрофобну кишеню для зв'язування ліганду, яка складається з трьох неглибоких канавок, визначених залишками ароматичних амінокислот, що визначають специфічність. У всіх випадках область, що зв'язується з доменом SH3, багата на пролін і містить послідовність PXXP як консервативний мотив зв'язування (де X у цьому випадку - будь-яка амінокислота). Особливістю структури лігандів SH3-доменів є поліпроліновий фрагмент, який містить залишки проліну і формує лівозакручену поліпролінову спіраль з кроком 3 амінокислотні залишки на виток. Ліганди, які зв'язуються з SH3-доменами, мають консервативну амінокислотну послідовність [X-P-p-X-P], де P – два обов'язкові залишки проліну, X – будь-які амінокислоти, та p – найчастіше пролін. Обов'язкові залишки проліну зв'язуються з гідрофобними кишенями SH3-домену. PXXP – коренева послідовність SH3 лігандів, які найчастіше оточені позитивно зарядженими амінокислотними залишками (аргінін, лізин). Клас I - +XXPXXP; Клас II – PXXPX+

PDZ домени розпізнають і приєднують C-кінцеві послідовності. Клас I PDZ доменів приєднуються до C-термінальної послідовності [Ser/Thr-X-Ф COOH], Клас II PDZ приєднується до послідовності [Ф-X-Ф-COOH] Клас III - [Asp/Glu-X-Ф-COOH], де Ф – гідрофобна амінокислота; X - будь яка амінокислота.

Домен **C2** належить до одного з найбільших сімейств доменів людини, що налічує понад 200 членів. Цей модуль з ~ 130 залишків насамперед зв'язується з фосфатидилсерином в клітинній мембрані кальцій-залежним чином.

На рисунку 7 показано гіпотетичний сигнальний каскад для ілюстрації того, як різні білкові домени обумовлюють утворення комплексів, що призводить до впорядкування мережі послідовних білок-білкових взаємодій з метою ефективної передачі сигналу. Активація рецептора позаклітинною сигнальною молекулою призводить до фосфорилювання залишків тирозину на рецепторі та інозитол-фосфоліпідів на цитозольній поверхні плазматичної мембрани, тим самим створюючи тимчасові сайти стикування для масиву сигнальних білків, що містять SH2- та PH.

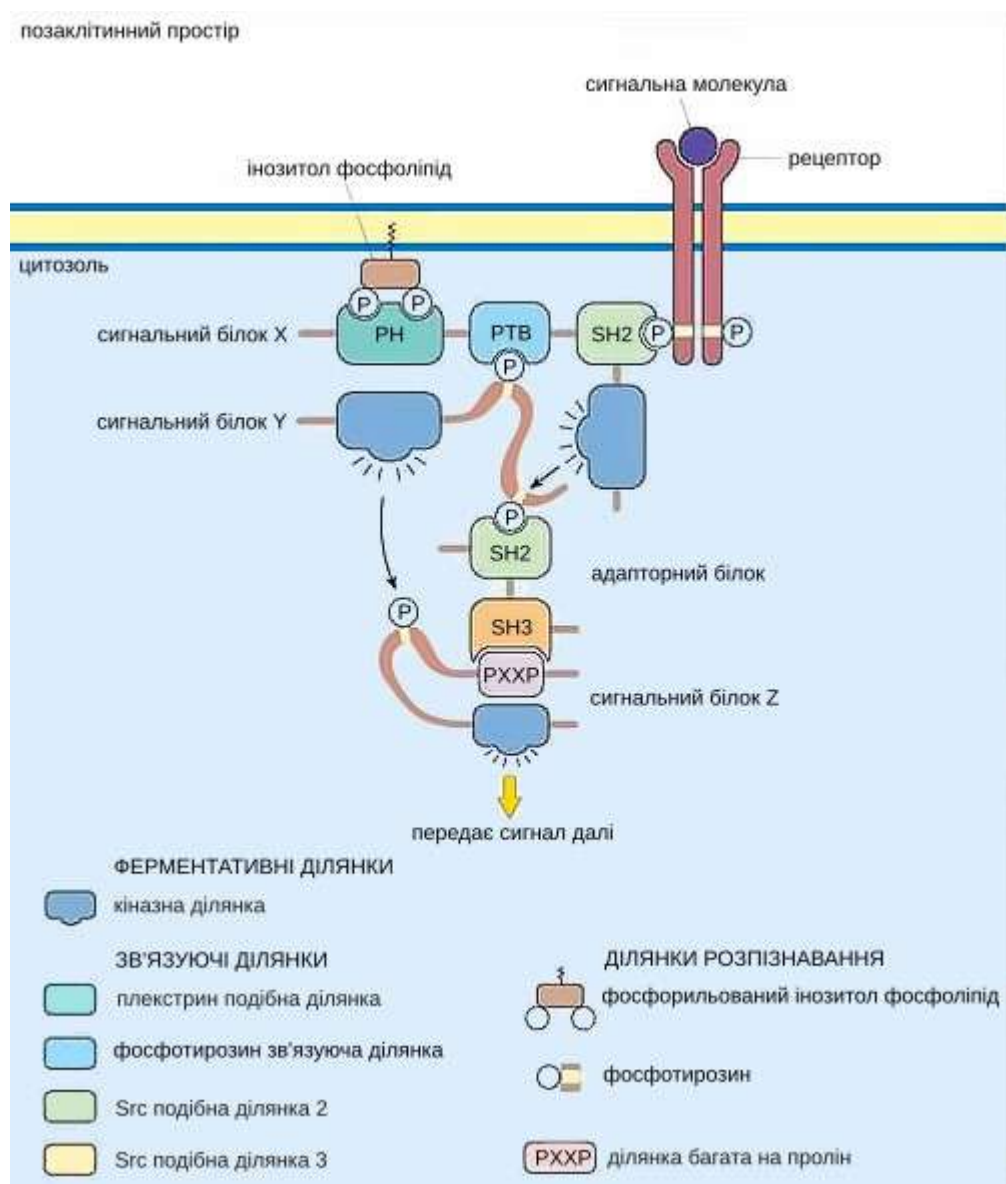


Рис.7. Гіпотетичний сигнальний шлях з утворенням білкового комплексу з зазначенням окремих зв'язувальних доменів

Цитозольний сигнальний білок (показаний як сигнальний білок X) містить три різні домени зв'язування плюс каталітичний кіназний домен. При активації рецептора сигнальний білок X переміщується до плазматичної мембрани завдяки взаємодії між його SH2-доменом та фосфорильованим тирозином на рецепторному білку (pY), а також між його PH-доменом та фосфорильованими інозитол-фосфоліпідами ліпідного бішару. Ця транслокація призводить до зміни конформації білка X, вивільненню РТВ-домену, дозволяючи йому зв'язуватися з фосфорильованим тирозином у білку Y. Кіназний домен у сигнальному білку X потім фосфорилує сигнальний білок Y на іншій тирозині, який згодом зв'язується з SH2-доменом адапторного білка. Домен SH3 в адапторному білку зв'язується з багатим на пролін мотивом на сигнальному білку Z. Ця взаємодія зближує білок Z з білком Y, так що білок Z фосфорилується по залишку тирозину. Сигнал передається далі активованим білком Z.

Контактні міжклітинні взаємодії

У багатоклітинних організмах клітини розвинули різні режими міжклітинної комунікації для регулювання своїх скоординованих функцій, які поділяють на дві великі групи – дистантні міжклітинні взаємодії, які розглянуті вище і контактні взаємодії. Прямі фізичні контакти між сусідніми клітинами і білками позаклітинного матриксу (міжклітинні контакти) призводять не тільки до формування тканин і бар'єрних структур, але і залучені в регуляцію клітинних функцій через внутрішньоклітинні сигнальні шляхи.

Міжклітинні контакти – спеціалізовані клітинні структури, що поєднують клітини, утворюють бар'єри проникності та забезпечують міжклітинні комунікації

Контакти, за допомогою яких клітини об'єднуються між собою та позаклітинним матриксом представлені наступними класами:

1. Оклюзивні контакти. Їх також називають щільними або запираючими. За допомогою цих контактів відбувається щільне поєднання сусідніх клітин.

2. Адгезивні (приєднувальні) контакти – контакти за допомогою яких клітини поєднуються між собою або взаємодіють з позаклітинним матриксом;

3. Комунікаційні контакти - структури, які пропускають невеликі молекули і електричні сигнали між сусідніми клітинами. До них відносяться щілинні контакти і синапси.

Щільні контакти на електронних фотографіях можна побачити як невеликі темні точки між плазматичними мембранами сусідніх клітин. Такі контакти локалізовані близько до апікальної поверхні і утворюють зону оклюзії (zonula occludens).

Функція цих контактів полягає, по-перше, в тому, що щільні контакти формують бар'єри проникності, що розділяють різні за хімічним складом середовища і запобігають проникненню речовин через міжклітинні проміжки. По-друге, щільні контакти забезпечують полярність епітеліальних клітин (різний склад білків на апікальній і базолатеральній поверхні клітини).

Ці контакти формуються трансмембранними білками клаудинами, оклюдинами та JAM-білками, позаклітинні частини яких формують напівпроникний бар'єр парацеллюлярного транспорту. Внутрішньоклітинні домени цих білків взаємодіють з внутрішньоклітинними білками, такими як ZO-білки, які, в свою чергу, приєднуються до білків цитоскелету. Щільні контакти можуть динамічно перебудовуватись (внаслідок зміни експресії і ступеня полімеризації білків, що утворюють контакти) і тимчасово розмикатися, наприклад для міграції лейкоцитів через міжклітинні простори. Крім того, внутрішньоклітинні домени білків, що формують щільні контакти

мають білкові домни, через які до них приєднуються сигнальні білки і таким чином залучають їх до регуляції через ті чи інші сигнальні шляхи.

Адгезивні (поєднувальні) контакти сполучають клітини між собою або з позаклітинним матриксом, тобто представлені контактами типу “клітина-клітина” та “клітина-позаклітинний матрикс”. Міжклітинні поєднувальні контакти в своїх структурі містять молекули міжклітинної адгезії (ММА) - трансмембранні білки; їх позаклітинні домени забезпечують взаємодію з ММА сусідніх клітин або білками позаклітинного матриксу, в той час як цитоплазматичні домени контактують з елементами цитоскелета. Основними класами ММА є кадгерини, інтегрини, селектини та ММА імуноглобулінового сімейства.

На додаток до адгезійної функції, молекули клітинної адгезії модулюють сигнальні шляхи взаємодіючи з такими сигнальними білками як рецепторні тирозинкінази і компоненти сигнальних шляхів. Зміни в експресії молекул клітинної адгезії впливають не тільки на адгезивні властивості клітини, але також на сигнал-трансдукторний статус. І навпаки, сигнальні шляхи можуть впливати на функції молекул міжклітинної адгезії, змінюючи взаємодію між клітиною і оточенням. Ці процеси є визначальними при прогресуванні пухлин, особливо при інвазії і метастазуванні.

Селектини містять N-термінальний лектиновий домен, домен епідермального фактору росту (EGF), від 2 до 9 доменів комплемент-регуляторних протеїнів (CRP), трансмембранний сегмент і короткий цитоплазматичний домен, які специфічно зв'язуються з лігандами селектинів, що експресуються на мемранах взаємодіючих з ними клітин. Лігандами селектинів є муцин-подібні молекули: карбогідратні термінали глікопротеїнів і гліколіпідів, що зв'язуються з N-кінцевим лектиновим доменом. Більшість селектинових лігандів має серін-треоніновий домен, який сполучається з карбогідратним ланцюгом. До найбільш вивчених селектинових лігандів належать: CD-34 (муциноподібний трансмембранний поліпептид); глікозіліл-залежна молекула клітинної адгезії-1 (GlyCAM-1); мукозний адресин-1

(mucosal addressin 1 - MAdCAM1); сиалілований Lewis X протеїн (sle^x); P-селектин-глікопротеїновий ліганд (PSGL-1).

Через кадгерини здійснюються прямі контакти клітин. Ці контакти утворені насамперед самими кадгеринами, адаптерними білками катенінами, які забезпечують їх взаємодію з білками цитоскелету. Між 6 позаклітинними ектодимерами кадгеринів розташовані Ca^{2+} -зв'язуючі сайти. Приєднання Ca^{2+} забезпечують жорсткість кадгеринової молекули, що є необхідним для утворення міжклітинних контактів за принципом «блискавки» (рис. 8).

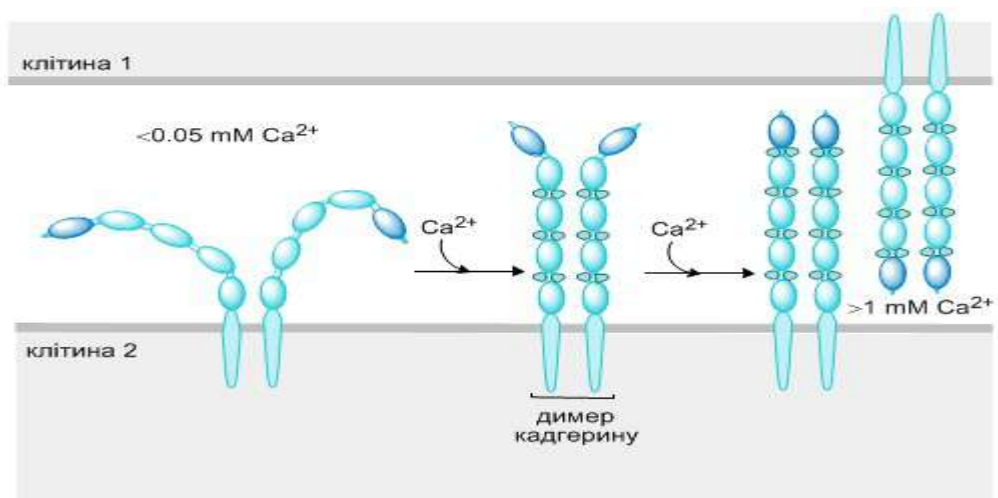


Рис. 8. Схематичне утворення димерів кадгеринів та їх участі в утворенні міжклітинних контактах

Кадгерин-опосередковані клітинні контакти регулюють функціонування клітини через:

- Rho сімейство GTPаз,
- здатність β -катенінів брати участь в Wnt сигналінгу,
- сигнальні шляхи рецепторних тирозинкіназ (рис. 9)

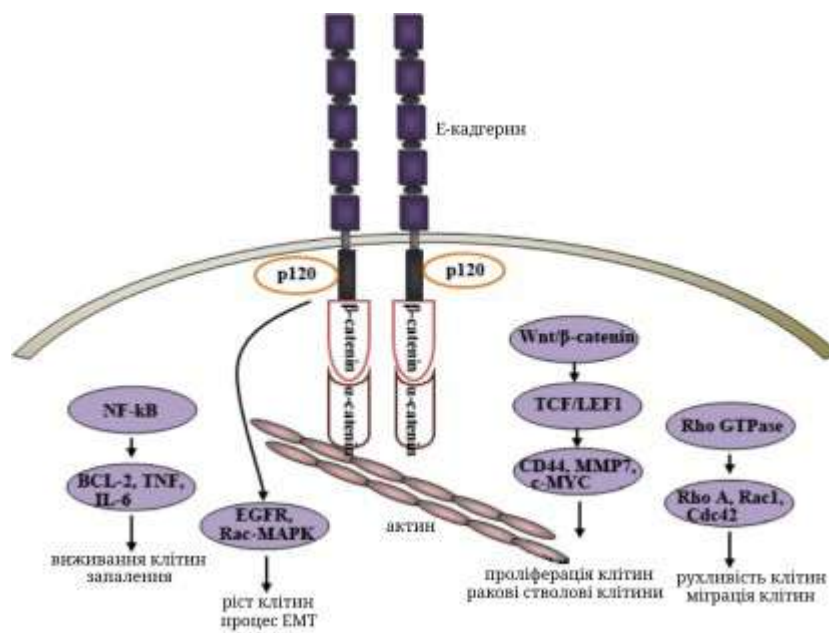


Рис. 9. Сигнальні механізми кадгеринів

MMA інтегрини забезпечують як контакти клітин з білками позаклітинного матриксу, так і клітин між собою. Структурно вони складаються з двох трансмембранних субодиниць - α і β . У клітинах, що покоїться, інтегрини знаходяться в неактивній конформації. Після стимуляції агоністами відповідних рецепторів активуються сигнальні каскади, компоненти яких беруть участь у створенні сигнальних комплексів на цитоплазматичних хвостах α і β субодиниць інтегринів. Це індукує конформаційні зміни гетеродимерів інтегринів і перехід в стан високої афінності. Це приклад inside-out сигналізації, коли внутрішньоклітинні сигнали активують інтегрини і переводять їх у стан високої афінності та здатності зв'язувати позаклітинні ліганди. Зв'язування інтегринів із позаклітинними лігандами викликає downstream функціональну відповідь. До внутрішньоклітинного хвоста інтегринів приєднуються сигнальні білки, наприклад кінази Src-родини, а також адаптерні протеїни, що може призвести до активації різних сигнальних шляхів, кластеризації інтегринів з утворенням фокальної адгезії. Це процес outside-in сигналізації, оскільки зв'язування лігандів з інтегринами призводить до активації сигнальних каскадів з відповідною функціональною відповіддю клітин.

Внутрішньоклітинним білком, що впливає на активацію інтегринів є талін (рис.10). Неактивний стан інтегринів стабілізується приєднанням філаміну та інших білків з РТВ-послідовностями до цитоплазматичного хвоста бета-субодиниці. Фосфорилування β -субодиниці Src-кіназами посилює зв'язування РТВ-вмісних білків, що переважають приєднання таліну. Талін може знаходитись в активному стані та стані аутоінгибування. Взаємодія агоністів з G-білок-спряженими рецепторами веде до підвищення концентрації Ca^{2+} та DAG, що активує мономерну ГТФазиу Rap1, з наступним рекрутуванням таліну у мембрану. Це призводить до конформаційних змін α і β субодиниць інтегринів і переходу їх в конформацію, в якій вони здатні здійснювати свою адгезійну функцію. Активація інтегринів посилюється білком кіндліном.

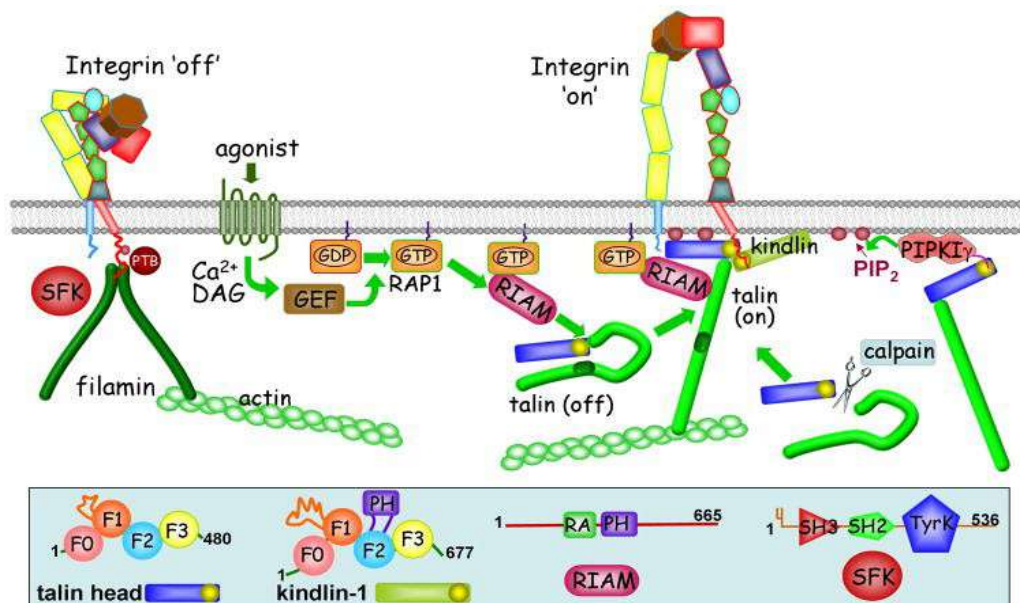


Рис. 10. Активної структури інтегринів

Outside-in сигнальні шляхи інтегринів включають активацію (рис. 11):

- конститутивно зв'язаної з інтегринами кінази фокальної адгезії;
- MAPкіназних шляхів;
- мономерних ГТФаз;
- інтегрин-зв'язаної кінази та ряду інших цитоплазматичних тирозинкіназ

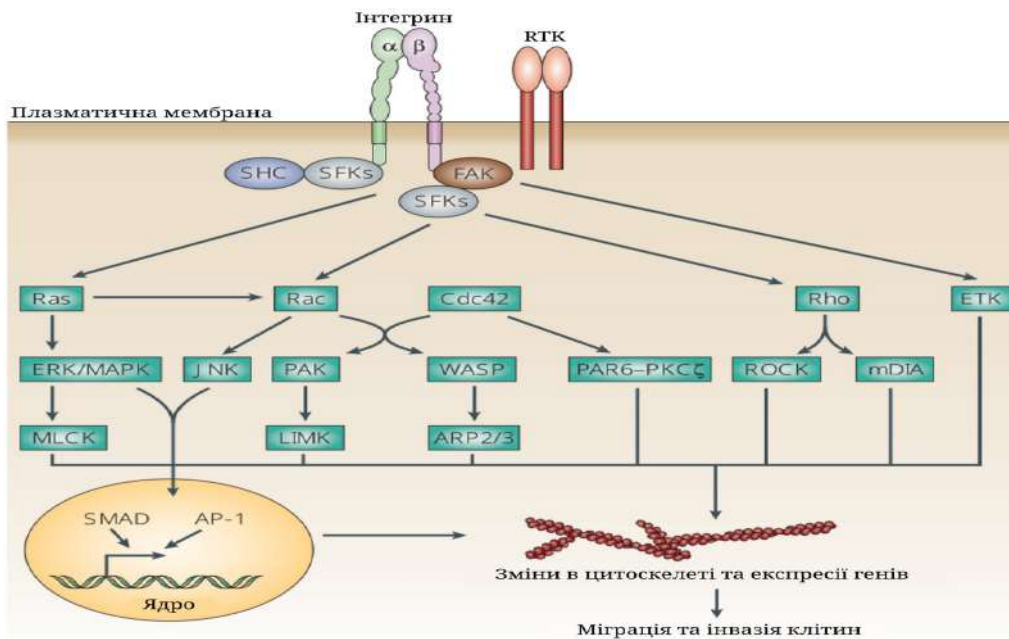


Рис. 11. Сигнальні шляхи інтегринів

Через міжклітинні з'єднання комунікаційного типу – щілинні контакти у клітину можуть переходити іони та невеликі молекули (до 1,0 кДа), у тому числі іони натрію, калію, хлору і внутрішньоклітинні месенджери, що забезпечує електричне та метаболічне спряження контактуючих клітин. Ці контакти характерні для більшості нормальних клітин організму за винятком циркулюючих лімфоцитів, еритроцитів, клітин скелетних м'язів, зрілих сперматозоїдів. Ці контакти є унікальними міжклітинними контактами, оскільки, по суті, поєднують цитоплазми 2-ох сусідніх клітин, як плазмодесми у рослин. Щілинні контакти - це канали, утворені двома напівканалами (конексонами), що знаходяться на сусідніх клітинах. Кожен напівканал утворений шістьма субодиницями (конексинами), які оточують центральну пору (рис. 12).

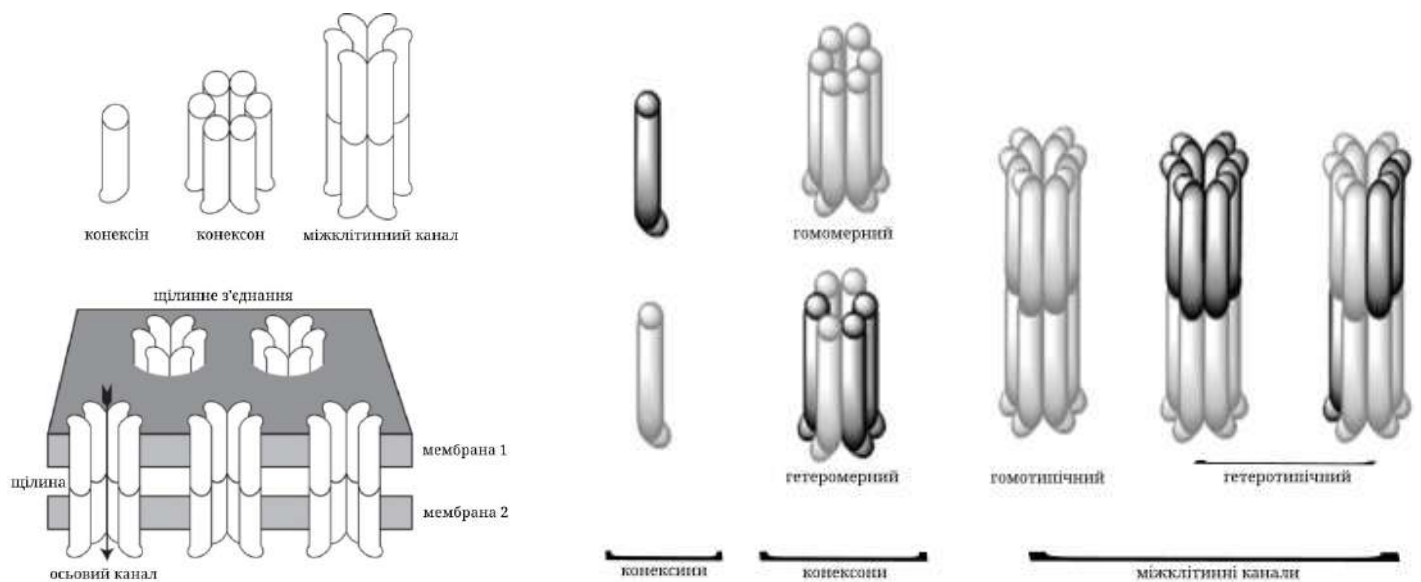


Рис 12. Принцип будови щільного контакту:

Канал щільного контакту = коннексон (I клітина) + коннексон (II клітина); Коннексон = 6 × коннексин

Щільні контакти (gap) не є простими «тунелями», вони характеризуються специфічними провідностями, проникностями та вибірковими властивостями. Ці канали вибірково проникні для катіонів, чи аніонів, великих чи малих молекул. Існує 21 ізоформа коннексинів (Cx) у людини. Всі вони мають різні регуляторні характеристики та виконують специфічні функції. Деякі з них формують гетеромерні (утворені більш ніж одним типом коннексинів) чи гетеротипічні (поєднання 2 різних напівканалів). Це забезпечує велике різноманіття каналів, їх структури та функцій.

Коннексони можуть або діяти як паракринні фактори міжклітинної сигналізації, або опосередковувати клітинну адгезію. Після стикування двох протилежних коннексонів створюється канал, що забезпечує метаболічний і електричний міжклітинний зв'язок.

Склад коннексонів і взаємодії коннексинов з іншими структурними і сигнальними молекулами такими як

- елементи цитоскелету: мікротрубочки, актин, альфа-спектрин.

- оклюдини і клаудини
- молекулами адгезії катеніни, кадгерин
- ферменти: тирозинкінази, серін/треонінові кінази, фосфатази

визначають формування каналу і його проникність. Ці взаємодії також регулюють сигнальні шляхи, які контролюють проліферацію, диференціювання та життєздатність клітин.

Структура та функціонування G-протеїн спряжених рецепторів

G-протеїн спряжені рецептори (GPCR) - найбільший клас трансмембранних рецепторів, що активуються широким спектром сигналів і лежать в основі різноманітних фізіологічних реакцій. GPCR беруть участь у процесах, що відповідають за зір, запах, смак та нейрональну передачу, у відповідях на фотони або зв'язування іонів, гормонів, пептидів, хемокінів та інших факторів. Крім того, саме через цей тип рецепторів здійснюється терапевтична дія переважної кількості фармакологічних препаратів.

Структура GPCR включає сім трансмембранних α -спіралей (7TM: TM I – TM VII) пов'язаних трьома позаклітинними петлями (ECL1-3) і трьома внутрішньоклітинними петлями (ICL1-3). Сім трансмембранних спіралей розташовані проти годинникової стрілки і містять ряд пролін-залежних петель, які ділять GPCR на модуль зв'язування ліганду (EC) і модуль, який зв'язує ефектори, такі як G-білки, арестин (IC) (рис. 13). Трансмембранні спіралі GPCR в різних типах рецепторів мають різні кути нахилу і повороту, які змінюються залежно від стану активації

Позаклітинна (EC) область, що відповідає за ліганд зв'язування, крім позаклітинних петель також включає N-кінець, який складається з відносно коротких послідовностей в родопсиноподібних рецепторах до великих позаклітинних доменів в інших класах GPCR, наприклад в гормон-зв'язувальному домені в рецепторах адгезії. Внутрішньоклітинна область (IC)

взаємодіє з G-білками, аррестинами та іншими нижчими ефекторами. Крім трьох внутрішньоклітинних петель ICL1-3 вона включає С-кінець, який у багатьох рецепторах згорнутий у спіраль НУІІ. Цитоплазматична спіраль НУІІ прикріплюється до мембрани при пальмітоїлюванні, ця особливість важлива для стабілізації рецептора та його правильного розташування.

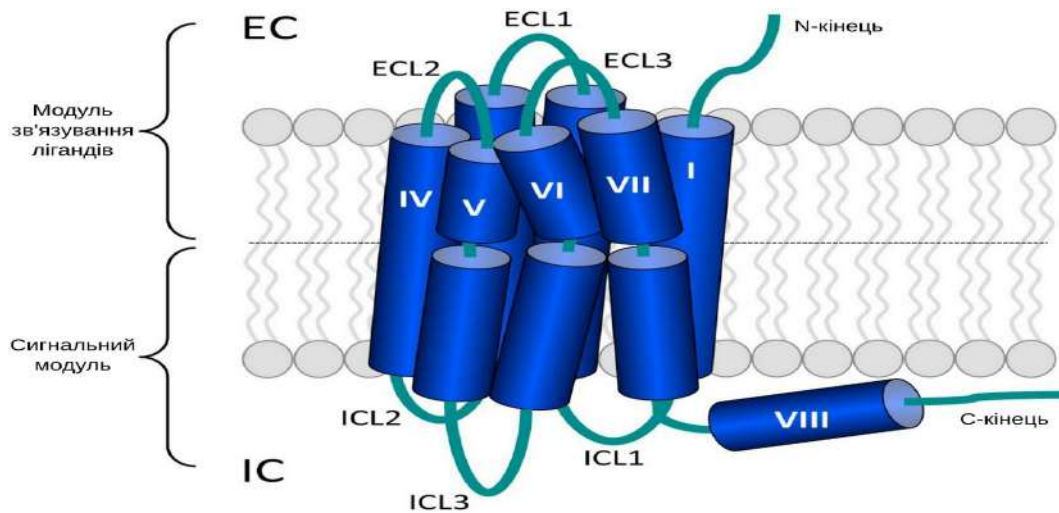


Рис 13. Структура G-протеїн-спряжених рецепторів

Модуль ЕС, відповідальний за зв'язування ліганду, відрізняється великою структурною різноманітністю, але малим переміщенням під час активації. Навпаки, область ІС, яка бере участь у зв'язуванні нижчих за течією білків, включаючи G білки та аррестини, більш консервативна в сімействі GPCR, але піддається значно більшим конформаційним змінам при активації рецептора, ніж ЕС.

Позаклітинні області GPCR формують дві різні конформації з доступною до зв'язування або закритою ліганд-зв'язуючою кишенею. І таким чином регулюють доступ і зв'язування ліганду рецепторами.

Три позаклітинні петлі GPCR відіграють важливу роль у формуванні вхідної кишені для зв'язування лігандів. Найдовша позаклітинна петля ECL2 виявляє різну конформацію в різних структурах GPCR, але вони подібні для членів однієї і тієї ж рецепторної підродини. Вона утворює α -спіральну

структуру в адренергічних рецепторах та β -шпильку у пептидних рецепторах. У більшості відомих структур GPCR ECL2 прикріплена до позаклітинної частини трансмембранної спіралі TMIII висококонсервативним дисульфідним зв'язком між Cys325 і CysECL2, що обмежує рух ECL2 і стабілізує конформацію позаклітинної області. У порівнянні з петлею ECL2, петлі ECL1 і ECL3 більш короткі.

За відсутності ліганду ECL-петлі через ECL2 зв'язані з трансмембранним доменом TM3 через дисульфідний зв'язок. Зв'язування ліганду індукує конформаційні зміни в ECL, які передається на TM3 за участю ECL2. Ініційовані лігандом конформаційні зміни поширюються шляхом переміщення TM3, TM6 та TM7 до цитоплазматичних петель. Формується відкрита конформація в цитоплазматичній частині рецептора. Це дозволяє GPCRs зв'язувати та активувати G білки.

Вивчення структури родопсину як орієнтира для аналізу зв'язку структури і функції в інших GPCR показало, що сепарація TM3 і TM6 є загальним явищем при активації GPCR. Механізмом таких переміщень трансмембранних доменів є модифікація міжспіральных іонних та гідрофобних взаємодій.

Підсумовуючи, активація рецептора спричиняє серйозну реорганізацію цитоплазматичної сторони, де рух назовні трансмембранної спіралі 6 (TM6) у поєднанні з перебудовою інших трансмембранних спіралей оголює внутрішньоклітинну кишеню, яка може ефективно взаємодіяти з G-білками, GRK та аррестинами з утворенням функціональних сигнальних комплексів.

Класична модель активації GPCR базувалася на припущенні, що рецептори мають лише дві конформації, активну і неактивну. Рецептори, активовані будь-яким агоністом, з'єднуються з білками G, фосфорилуються GRK, а потім зв'язують аррестини. Зв'язування аррестину припиняє передачу сигналів, опосередковану протеїном G. Приєднання до аррестинів клатрину стимулює інтерналізацію рецепторів в ендосоми з можливістю подальшої рециркуляції на мембрану або деградацію в лізосомах. Дослідження останніх

років показало, що арестини також здатні ініціювати сигнальні процеси, відмінні від тих, що запускаються G білками.

Спочатку зупинимось на передачі сигналу через білки G (GP). GP - це перетворювачі сигналів, які відіграють ключову роль у регулюванні передачі сигналу GPCR. GP складаються з трьох різних субодиниць: α , β та γ . Субодиниця α містить Ras-подібний домен GTPase та α -спіральний домен (AND), із сайтом зв'язування гуанінових нуклеотидів (GDP або GTP) між двома доменами. Субодиниці $G\beta$ і $G\gamma$ щільно зв'язуються між собою як димерний білковий комплекс.

Більшість контактів, що беруть участь у зв'язуванні GDP, забезпечується доменом Ras. Він складається з шестиланцюгового β -листа ($\beta 1 - \beta 6$) та п'яти α -спіралей ($\alpha 1 - \alpha 5$). Кілька петель в межах домену Ras відіграють важливу роль у зв'язуванні нуклеотидів. Зокрема, петля $\beta 1 - \alpha 1$, яка пов'язує ланцюг $\beta 1$ та спіраль $\alpha 1$ - також відома як дифосфат-зв'язуюча або петля P - координує нуклеотидні фосфати разом із сусідньою спіраллю $\alpha 1$, тоді як $\beta 5 - \alpha 4$ та $\beta 6 - \alpha 5$ петлі зачіплюють гуанінове кільце GDP. Інша частина нуклеотид-зв'язуючої кишені утворена AND, яка є унікальною для гетеротримерних білків G і містить шість α -спіралей ($\alpha A - \alpha F$), які вставляються між $\alpha 1$ і $\beta 2$ домену Ras. Упаковуючи домен Ras, AND «закопує» зв'язаний нуклеотид у межі розділу між двома доменами.

Рецепторне зв'язування G_s індукує рух α -спірального домену $G_{\alpha s}$ ($G_{\alpha s}AND$) назовні щодо його положення в зв'язаному з $GTP\gamma S$ стані. Спіраль $\alpha 5$ зазнає обертального переміщення у внутрішньоклітинну порожнину рецептора, яка утворюється внаслідок руху трансмембранних спіралей при активації рецептора. Зміщення $\alpha 5$ призводить до збурення петлі $\beta 6 - \alpha 5$ та взаємодії гідрофобного ядра між $\alpha 5$, $\beta 2$ і $\beta 3$ та $\alpha 1$, що призводить до перебудови петлі $\beta 6 - \alpha 5$ та дестабілізації $\alpha 1$, що є важливим для зв'язування пуринового кільця та фосфатів нуклеотиду відповідно. Взаємодія між внутрішньоклітинною петлею 2 (ICL2) рецептора та шарнірною областю $\alpha N - \beta 1$ $G_{\alpha s}$ може також призвести до конформаційних змін $\beta 1$ та сусідньої петлі

P, яка утворює частину фосфатно-зв'язуючої ділянки в структурі $G_{\alpha s}$, пов'язаної з $GTP\gamma S$. В неактивному стані G_{α} зв'язує GDP. При заміні GDP на GTP, три ділянки замикають нуклеозит трифосфат, генеруючи активний стан.

Білки G класифікуються на чотири підродини G_s , G_i , G_q та $G_{12/13}$ на основі гомології послідовності їх субодиниці G_{α} . Кожне підродина G білка містить ті, які відіграють різні ролі в передачі сигналів GPCR (рис. 14). Білки G_s стимулюють вироблення вторинних месенджерів цАМФ, активуючи аденилциклазу, тоді як члени сімейства G_i знижують рівень внутрішньоклітинного цАМФ шляхом пригнічення активності аденилілциклази або активації фосфодіестераз.

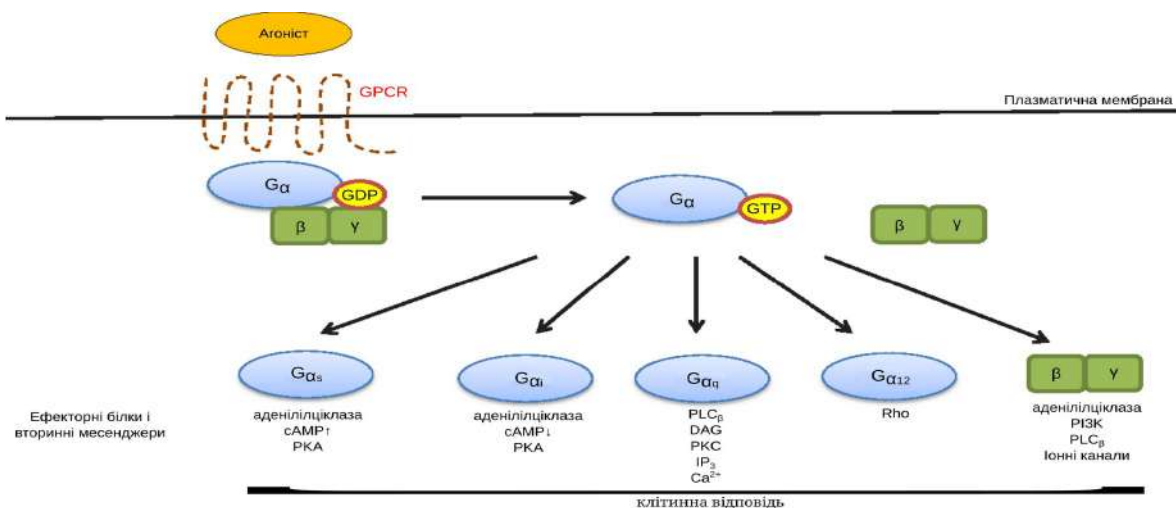


Рис 14. Сигналізація через різні типи білків G.

Через Gαq-білки активуються сигнальні шляхи фосфоліпази Cβ з утворенням вторинних месенджерів інозитолтрифосфата, Ca²⁺ та діацилгліцерола. Через Gα12/13-білки активуються мономерні ГТФази.

Не G білковим ефектором передачі сигналу через GPCR є арестини. Вони відіграють центральну роль у взаємопов'язаних процесах гомологічної десенсибілізації та секвестрації GPCR. Термінування відповіді відбувається шляхом фосфорилуванням рецептора кіназою GPCR (GRK), зв'язування β-арестину з фосфорильованим рецептором, що стерично інгібує подальшу активацію білка G. Відбувається десенсибілізації рецептора та зниження фізіологічної відповіді. Інтерналізація GPCR переважно опосередковується взаємодією β-арестину з клатрином через адаптерний білок клатрину AP-2. В ендосомах GPCR можуть входити в шляхи рециркуляції, які повертають рецептори в плазматичну мембрану, або деградаційні шляхи, які спрямовують рецептори до лізосоми.

Окрім описаної вище ролі в десенсибілізації/інтерналізації GPCR, β-арестини залучені до численних сигнальних процесів. Вони можуть бути каркасом для рецептор-залежних та незалежних сигнальних каскадів.

β-арестини можуть приймати дві конформації після зв'язування з GPCR: (а) конформацію «хвоста», в якій арестини зв'язуються лише з фосфорильованим хвостом рецептора, та (b) конформацію «ядра», в якій арестини додатково залучають «ядро» рецептору. У хвостовій конформації вони повністю здатні опосередковувати передачу сигналів та інтерналізацію рецепторів, але десенсибілізація сигналізації G-білка здійснюється виключно в «ядерній» конформації.

Арестини також можуть функціонувати як каркаси для запуску додаткової сигналізації, включаючи активацію різних мітоген-активованих протеїнкіназ (МРАК), таких як позаклітинна сигнально-регульована кіназа (ERK) та с-Jun N-кінцева кіназа (JNK3). Арестини також зв'язуються з тирозинкіназами родини Src, протеїнфосфатазою Ser/Thr (PP)2A, елементами сигнального шляху ядерного фактора κB (NFκB) та регуляторами активності малої ГТФази. Найкраще вивченим є арестин-залежний сигнальний шлях ERK. Компоненти каскаду ERK, Raf-1, MEK та ERK, збираються на β-арестині як каркасі (скафолді). Після утворення такі комплекси є відносно стабільними, оскільки їх можна виявити як за допомогою конфокальної мікроскопії, так і методами імунопреципітації. Рецепторні комплекси з β-арестином та приєднаними сигнальними білками інтерналізуються в ендосоми, де вони продовжують передачу сигналів (рис. 15).

Різні ліганди можуть стабілізувати різні конформації рецепторів, в результаті чого рецептор з'єднується з перетворювачем сигналу, який віддає перевагу певній конформації і активує певний шлях передачі сигналу. Ліганди, що активують один з інших можливих сигнальних шляхів називають зміщеними (biased ligand). Конформація GPCR, стабілізована G-білковим агоністом, відрізняється від конформації, стабілізованої β-аррестинним агоністом. Наприклад, зв'язування агоніста формотерола змінює конформацію рецептора через зміни трансмембранного домену ТМ6, тоді як β-аррестинові ліганди (наприклад, карведилол) впливають головним чином на конформаційний стан спіралі ТМ7.

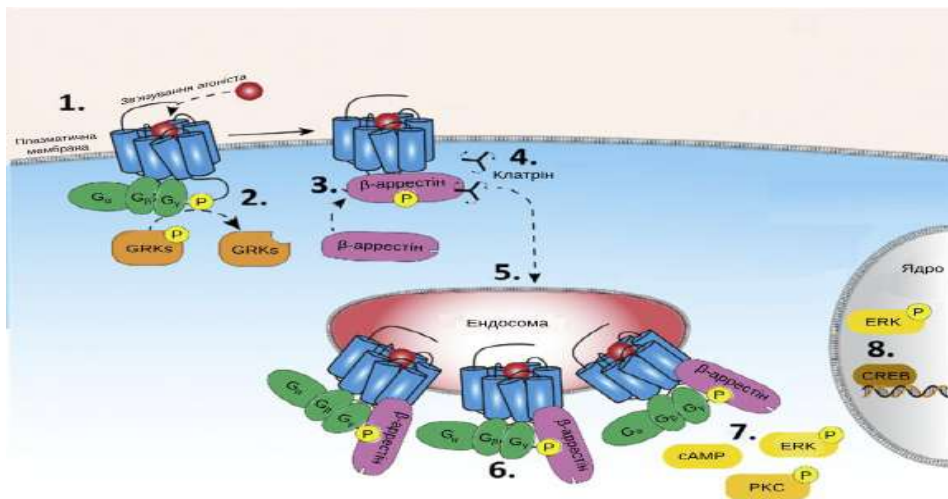


Рис 15. GPCR сигналізація через G-білки і β -аристин. Зв'язування агоніста на плазматичній мембрані стабілізує GPCR в активній конформації. GPCR взаємодіють та активують гетеротримерні G-білки, які індукують сигналізацію. 2. GPCR-кінази фосфорилують С-кінцеві домени GPCR. 3. Залучення β -аристину до фосфорильованого GPCR. Окрім С-кінцевого хвоста, β -аристин також зв'язується з «ядром» GPCR, що стерично перешкоджає зв'язуванню з G-білків і тим самим припиняє сигналізацію через них. 4. β -аристин утворюють комплекс з клатрином та білком AP2 для опосередкування ендоцитозу GPCR. 5. GPCR продовжують сигналізувати в ендосомах. 6. Тривала ендосомальна сигналізації через G-білок може продовжуватись, якщо β -аристин приєднався у «хвостовій» конформації. Оскільки β -аристин в такому випадку не займає сайт зв'язування G-білка з GPCR комплекс GPCR/G-білок/ β -аристин продовжує стимулювати сигналізацію через G-білок. 7. G-білок- та β -аристин-залежна сигналізація від ендосом призводить до генерації вторинних месенджерів, таких як цАМФ, та фосфорилування сигнальних білків, включаючи PKC та ERK. (8) Транслокація активованої ERK в ядро, де вона регуляє експресію певних генів. Скорочення: AP2, адапторний білок-2, ERK, позаклітинна сигнально-регульована кіназа; GPCR, рецептор, пов'язаний з G-білком; GRK, кіназа рецептора, пов'язана з G-білком; PKC, протеїнкіназа С.

Звичайні збалансовані агоністи та антагоністи є одночасними стимуляторами та блокаторами як опосередкованої G-білком сигналізації, так і β -арестин-залежної сигналізації, відповідно. Ці ефектори викликають численні низхідні сигнальні шляхи (наприклад, зміни рівнів цАМФ, мобілізація Ca^{2+} , активація ERK), які, у свою чергу, призводять до різних клітинних і фізіологічних результатів. Зміщені агоністи GPCR можуть активувати один сигнальний шлях або підгрупу сигнальних шляхів

ефективніше, ніж вони активують інші. Було ідентифіковано різні типи зміщених лігандів, у тому числі ті, які переважно сприяють активації G-білків над β -арестинами (тобто G-білок зміщені агоністи), β -арестинів над G-білками (тобто β -арестин-зміщені агоністи), і специфічні підтипи білків G над іншими (наприклад, G_i над G_s). Отже, передача сигналів проходить через підгрупу потенційних шляхів, створюючи більш обмежений спектр клітинних і фізіологічних ефектів. Феномен «зміщеної рецепції» використовується в фармакології. Як правило, терапевтична дія та побічні ефекти звичайних препаратів зв'язані з активацією різних сигнальних шляхів. Практична цінність зміщених лігандів полягає в їхньому потенціалі вибірково стимулювати терапевтично значущу передачу сигналів та уникати побічних ефектів.

GPCR у розвитку серцевої недостатності

Серцеві GPCR є важливими у забезпеченні таких функцій серця як регуляція скорочення, контроль АТФ, регуляція ішемічних та гіпоксичних станів, індукція клітинної гіпертрофії, ініціація апоптозу. ~ 200 різних GPCR експресуються в різних типів серцевих клітин, включаючи ендотеліальні клітини, фібробласти та міоцити предсердь, шлуночків та коронарних судин. Серцеві GPCR є основою для більшої частини класичної фізіології та фармакології серця і, отже, є одними з найбільш широко вивчених сигнальних систем в серці. Вони включають, але не обмежуються такими: 1) α - / β -адренергічні рецептори через які діють катехоламіни, 2) ETA та ETB-рецептори ендотеліну, 3) AT1 та AT2 рецептори ангіотензин II, 4) A1 та A2 рецептори аденозину 5) мускаринові рецептори ацетилхоліну.

При серцевих захворюваннях найчастіше спостерігаються порушення функціонування таких рецепторів:

- **Gas і Gai- β -адренорецептори;**

- **Gαq**-рецептори *ангіотензину*, *α-1адренорецептори* і рецептори *ендомеліну*;
- **Gαi**- рецептори *аденозину-1*, *α2-адренорецептори* і *мускаринові* рецептори;
- загальна для всіх цих рецепторів передача сигналів через **Gβγ**,
- передача сигналів, що **не залежать від G-білка**,
- наслідки десенсибілізації рецепторів

β1адренорецептори (AR) спряжені з Gs-білками становлять приблизно 80% βAR у здоровому серці і збільшують частоту та силу серцевих скорочень. β2AR спряжені з Gαs-білками, але можуть перейти на Gi-білки після фосфорилювання рецепторів за допомогою PKA. Стимуляція β2AR спочатку активує сигнальні шляхи Gαs аналогічною активації β1AR. Цей стимулюючий шлях швидко переключається на активацію шляху Gαi, що негативно регулює скоротливість у відповідь на тривалу активацію βAR. β2AR важливі для опосередкування релаксації та глікогенезу. β3AR спряжені з Gαs-та Gαi-білками і є найменш поширеним підтипом у серці. Незважаючи на те, що β3AR відіграють роль у ліполізі та термогенезі жирової тканини, було показано, що вони мають як позитивний інотропний ефект у трансгенних мишей, що надмірно експресують людські β3ARs, так і негативний інотропний ефект у серці людини.

Під час серцевої недостатності посилюється катехоламінова стимуляція адренергічної рецепторної системи. Співвідношення β1AR до β2AR змінюється від розподілу 80:20 у здоровому серці до співвідношення 60:40.

Хронічна стимуляція катехоламінами сприяє розвитку гіпертрофії та апоптозу міоцитів, приводячи до зниження скоротливості.

Вшлуночках людини β2AR роз'єднуються з аденілатциклазою і демонструють значну втрату здатності виробляти цАМФ, що пояснює знижену ефективність скорочувальної реакції при серцевій недостатності. Самі β2AR незначно десенсибілізовані.

Таким чином, хронічна активація сигнальних шляхів через Gαs-білки призводить до гіпертрофії серця, фіброзу та серцевої недостатності. Трансгенні миші зі специфічною для серця надмірною експресією Gαs-білків виявляють збільшення частоти серцевих скорочень та скоротливість у відповідь на стимуляцію катехоламіну, але з часом розвиваються гістологічні докази пошкодження міокарда, такі як клітинна гіпертрофія, фіброз та некроз.

Інші рецептори, пов'язані з Gαs-білками GPCR в серці, включають рецептори аденозину, глюкагону, простаноїдів та гістаміну.

Рецептори аденозину (AR1, AR3) мають кардіозахисною дією при ішемії міокарда, викликаючи коронарну вазодилатацію, що збільшує надходження кисню і зменшує клітинні пошкодження, опосередковані кисневими радикалами.

Простаноїди регулюють кров'яний тиск, опосередковуючи тонус судин і рівень натрію в нирках. Зниження рівня простагліцину *in vivo* призводить до підвищення артеріального тиску і подальшого розвитку гіпертонії, тоді як і зменшення простагліцинових рецепторів призводить до розвитку гіпертонії, що супроводжується сильною гіпертрофією серця і фіброзом.

Гістамін міститься в тучних клітках серця, а в здоровому серці інфузія гістаміну викликає збільшення частоти серцевих скорочень і активності передсердь. У той час як рецептори гістаміну-2 пов'язані з Gs, рецептори гістаміну-1 пов'язані з Gq, а рецептори гістаміну-3 пов'язані з Gi /o. Блокада гістамінових рецепторів антигістамінними препаратами, використовуваними при лікуванні алергії, викликає кардіотоксичність і викликає атипів форми аритмії, такі як *torsade de pointes*.

Модуляція Gαq може приводити до апоптотичних і гіпертрофічних відповідей. У той час як низька надекспресія Gαq у мишей не робить значного впливу на серце; помірна надекспресія призводить до збільшення

гіпертрофічних маркерів і мінімальної серцевої дисфункції, а висока надлишкова експресія Gαq призводить до вираженої гіпертрофії, серцевої недостатності і підвищеної смертності.

Експресія і активність РКС помітно збільшуються при серцевій недостатності в порівнянні зі здоровим людським серцем. Однак ця загальна тенденція варіюється в залежності від підтипу: РКСа і β активуються, РКСе або активується, або переважно активується, а рівні РКСδ не змінюються. Зниження РКСа покращує скоротливу здатність, в той час як надлишкова експресія РКСа знижує скоротливу функцію в серце, не впливаючи на гіпертрофія серця. Тварини з високою надекспресією Gαq і результируючим збільшенням РКСе демонструють явну серцеву недостатність і високі показники смертності, що вказує на критичну роль активації РКСе в розвитку гіпертрофії і серцевої недостатності. Однак, трансгенні тварини, позбавлені РКСе, втрачають здатність зменшувати розмір інфаркту у відповідь на активні форми кисню після ішемічної реперфузії, вказуючи тим самим, що РКСе також необхідний для кардіозахисною сигнальних шляхів при ішемічному прекодиціонування.

Підсумовуючи, серцеві α1-адренергічні рецептори зберігають нормальну експресію та позитивну інотропність у серці, на відміну від рецепторів β1, β2, ETA та AT1, експресія та функція яких глибоко змінюються при серцевій недостатності.

Таким чином, патологія серцевих GPCR і/або компонентів їх сигнальних шляхів є одним з провідних механізмів розвитку серцевої недостатності.

Порушення контактних міжклітинних взаємодій при патологічних станах

При розвитку ряду патологій таких як пухирчатка, синдром лейкоцитарної адгезії, тромбастенія порушення контактних міжклітинних взаємодій може бути провідним механізмом розвитку цих захворювань. В

таблиці наведені основні механізми розвитку зазначених захворювань з зазначенням молекул міжклітинної адгезії, які ушкоджуються, самого чинника та клінічних проявів.

Таблиця. Захворювання пов'язані з патологією контактних міжклітинних взаємодій

Захворювання	Молекула міжклітинної адгезії	Пошкодження	Клінічні прояви
Пухирчатка (pemphigous vulgaris)	Кадгерини	Аутоантитіла	Втрата адгезії клітина-клітина в епітелії. Епідермальні виразки при мінімальній травмі
Дефіцит лейкоцитарної адгезії-1	β_2 -інтегрини	Зниження або відсутність експресії	Від хронічної інфекції шкіри до ранньої дитячої смертності від стафілококового сепсису
Дефіцит лейкоцитарної адгезії-2	Селективні ліганди	Зниження фукозилування sle ^x	Подібно до попереднього, плюс нейрологічні дефекти
Тромбастенія Glanzmann	Інтегрини $\alpha II\beta_3$	Зниження експресії або функціонування через мутації α або β субодиниці	Підвищення чутливості до кровотеч і гематоми

Важливість міжклітинних контактів у формі десмосомальної адгезії виявляється при аутоімунному захворюванні пухирчатці. Основним клінічним варіантом є pemphigus vulgaris. У пацієнтів виробляються аутоантитіла проти ізоформ 3 і 1 десмоглеїну (десмосомальні кадгерини), що призводить до неможливості замикання кадгеринових контактів в десмосомах і формуванню дефектів в епідермісі та слизовій оболонці порожнини рота.

При синдромі дефіциту лейкоцитарної адгезії (LAD) лейкоцити мають молекулярні дефекти, що порушують їх здатність до екстравазії при травмах або мікробних втручаннях. Це призводить до повторних інфекцій, нездатності утворювати гній у позасудинних ділянках та інших клінічних проявів.

LAD-I обумовлений мутаціями в генах $\beta 2$ -субодиниці сімейства $\beta 2$ -інтегринів (які також називаються лейкоцитарними інтегринами та CD11 / CD18-інтегринами), що призводить до зменшення чи відсутності цих гетеродімерів на циркулюючих лейкоцитах. Це погіршує їх здатність швидко приєднуватись до активованих, "запальних" ендотеліальних клітин у відповідь на сигнальні молекули та емігрувати через судини у місцях інфікування або травми.

Лейкоцити хворих з LAD-II мають інтактну експресію і функцію інтегрину $\beta 2$, але порушені адгезійні властивості лігандів селектину, переважно глікопротеїнових лігандів Р-селектину 1 (PSGL-1). Цей дефект обумовлений мутаціями транспортерів фукози і, як наслідок, дефектним фукозилуванням PSGL-1 та інших глікопротеїнів, а також призводить до порушення адгезії лейкоцитів до активованих ендотеліальних клітин.

Тромбастенія Гланзмана - це аномалія тромбоцитів. Це надзвичайно рідкісна аутосомно-рецесивна коагулопатія, в якій тромбоцити не містять $\beta 3$ -інтегрини. Отже, не утворюються фібриногенові містки, і час кровотечі значно подовжений.

Для цілого ряду інших захворювань порушення контактних міжклітинних взаємодій не є провідним, але залишається важливим механізмом патогенезу. Серед них атеросклероз, метастазування, травма ішемія-реперфузія, діабет.

Завдання для самостійної роботи

Приклади з відповідями ситуаційних завдань та тестів

1.Холерний та кашлюковий токсини – це бактеріальні ферменти, які ковалентно модифікують G-білки шляхом АДФ-рибозилування, фіксуючи їх у постійно активному або неактивному стані, відповідно. Холерний токсин активує $G_{\alpha s}$ -білок, тоді як кашлюковий токсин інактивує $G_{\alpha i}$ -білок, що в обох випадках призводить до збільшення загального внутрішньоклітинного цАМФ. Обидва токсини функціонують шляхом перенесення АДФ-рибозного фрагмента з NAD^+ на специфічні залишки аргініну або цистеїну на α -субодиницях G-білка, по суті саботуючи механізм сигналізації.

Кашлюковий токсин активує АДФ-рибозилування αi -субодиницю $G_{\alpha i}$ -білку, що запобігає взаємодії G-білка з рецепторами, пов'язаними з G-білком (GPCR). Це зупиняє інгібуючий сигнал, запобігаючи пригніченню аденілатциклази, що призводить до підвищення внутрішньоклітинного рівня цАМФ, що веде до порушення клітинної сигналізації.

Який механізм, на вашу думку, лежить в основі дії холерного токсину.

Відповідь:

Холерний токсин впливає на αs -субодиницю . Додавання АДФ-рибози, пригнічує властиву $G_{\alpha s}$ -білку ГТФазну активність. Оскільки в такому випадку не відбувається гідроліз зв'язаний ГТФ до ГДФ, то $G_{\alpha s}$ -білок постійно залишається "увімкненим", що призводить до постійної активації аденілатциклази та надмірного вироблення циклічного АМФ. В клітинах, що вистилають тонкий кишечник $G_{\alpha s}$ —білок контролює відкриття хлоридного каналу та змушує його залишатися постійно активним, що призводить до великих втрат рідини з організму та потенційно смертельного зневоднення.

2. Рецепторна тирозинкіназа – це фермент-зв'язаний рецептор з однією трансмембранною ділянкою, а також позаклітинним та внутрішньоклітинним доменами. Зв'язування сигнальної молекули з позаклітинним доменом призводить до димеризації рецептора. Залишки тирозину на

внутрішньоклітинному домені кросфосфорилуються, запускаючи клітинну відповідь нижче за течією. Сигнал обривається фосфатазою, яка видаляє фосфати із залишків фосфотирозину.

HER2 – це рецепторна тирозинкіназа. У 30 відсотках випадків раку молочної залози людини HER2 постійно активується, що призводить до нерегульованого поділу клітин. Лапатиніб, препарат, що використовується для лікування раку молочної залози, пригнічує кросфосфорилування тирозинкінази рецептора HER2, таким чином зменшуючи ріст пухлини на 50 відсотків.

Окрім кросфосфорилування, який з наступних кроків буде пригнічений лапатинібом?

А) Зв'язування сигнальної молекули, димеризація та клітинна відповідь нижче за течією

Б) Димеризація та клітинна відповідь нижче за течією

В) Клітинна відповідь нижче за течією

Г) Активність фосфатази, димеризація та клітинна відповідь нижче за течією

Відповідь:

В) Клітинна відповідь нижче за течією.

Лапатиніб не впливає на зв'язування сигнальної молекули, та димеризацію рецепторів, а блокує кросфосфорилування рецепторних тирозинкіназних доменів. І, таким чином, передача сигналу нижче за течією стає неможливою.

3. У хворого виявлені болючі пухирів та ерозії на шкірі та слизових. а аналізи показали наявність антитіл до десмоглеїнів. Який діагноз можна поставити такому хворому.

Відповідь:

Виявлені атитіла до десмоглеїнів унеможливлюють утворення контакту між кадгеринами, якими є десмоглеїни. Клітини не можуть поєднатися через міжклітинні контакти. Тому і відбувається розвиток ерозій і дефектів шкіри і слизових.

4. Глюкоза в крові забезпечує клітини енергією, необхідною для функціонування. Для підтримки гомеостазу людський організм має петлі зворотного зв'язку для підтримки рівня глюкози в крові в певному діапазоні.

- Коли рівень глюкози в крові високий, підшлункова залоза виробляє інсулін, який сигналізує клітинам про поглинання глюкози.
- Коли рівень глюкози в крові низький, підшлункова залоза виробляє глюкагон, який сигналізує печінці про вивільнення глюкози в кров.

Що має бути вірним, щоб ця система зворотного зв'язку працювала?

- a. Молекули інсуліну повинні мати рецептори для виявлення глюкагону.
- b. Клітини печінки повинні мати рецептори для виявлення інсуліну.
- c. Клітини підшлункової залози повинні мати рецептори для виявлення глюкози.

Відповідь: c. Підшлункова залоза реагує на рівень глюкози, тому клітини підшлункової залози повинні мати рецептори, які виявляють глюкозу. Ця система зворотного зв'язку дозволяє організму підтримувати гомеостаз, регулюючи рівень глюкози в крові.

5. Що таке ампліфікація сигналу?

- a. процес, який блокує події клітинної сигналізації, щоб вони не стали занадто великими
- b. зростаючий каскад подій, що відбуваються, коли клітина отримує сигнал
- c. техніка додавання синтетичних молекул до клітин, вирощених у лабораторії

Відповідь: b Ампліфікація (посилення) сигналу – це спосіб для клітин перетворити малий сигнал на сильну відповідь. Це відбувається, коли відповідь клітини на сигнал запускає каскад реакцій, які створюють посилену відповідь.

6. Такі гормони, як тестостерон та естроген, відіграють важливу роль у розвитку організму. Вони можуть робити це тому, що, потрапляючи в клітину, зв'язуються з рецепторами, які згодом:

- a. стимулюють загальне підвищення активності клітини
- b. ініціюють синтез білка, зв'язуючись зі специфічною ДНК
- c. змінюють структуру клітини, прикріплюючись до клітинної мембрани

Відповідь: b. Коли гормони, такі як тестостерон та естроген, потрапляють у кров, вони потрапляють у клітини та зв'язуються з відповідними внутрішньоклітинними рецепторами. Ці рецептори можуть діяти як фактори транскрипції — зв'язуються з певними ділянками ДНК та ініціюють процес експресії генів, який виробляє кодовані білки. Залежно від ситуації, ці білки можуть відігравати певну роль у таких процесах, як розвиток, статеве дозрівання та репродукція.

7. Яку роль може відігравати аутокринна сигналізація в розвитку раку?

- a. Мутовані сигнальні молекули потрапляють у кровотік, перепрограмуючи клітини по всьому тілу на ракові.
- b. Ракові клітини виробляють внутрішньоклітинні сигнали росту, сприяючи постійній реплікації клітин.

Відповідь: b. Аутокринна сигналізація – це коли клітина надсилає сигнали самій собі. Наприклад, ракові клітини можуть постійно надсилати сигнали самій собі для реплікації, що призводить до постійної реплікації.

Завдання та тести для самоконтролю

Завдання

1. Синдром лейкоцитарної адгезії I типу зумовлений генними мутаціями і зменшення чи відсутності $\beta 2$ -інтегринів на циркулюючих лейкоцитах. Синдром лейкоцитарної адгезії II типу пояснюється порушенням адгезійних властивостей лігандів селектину. **Яка з цих патологій легше піддається терапії?**

2. При дослідженні клітинної відповіді на дію агоніста GPCR були виявлені три хвилі активації сигналізації. **Як можна пояснити цей феномен?**

3. Мета фармакологів полягає у створенні ліків з вираженою терапевтичною дією і мінімальними побічними ефектами. Наприклад таких, що діють на опіюїдні рецептори (належать до GPCR), які контролюють біль, не викликаючи сильного пригнічення дихання **Як концепція зміщення лігандів може сприяти такій задачі?**

Тести

1. Який тип контактів забезпечує обмін іонами між сусідніми клітинами?

- А) щілинні контакти;
- Б) щільні контакти;
- В) адгезивні контакти;
- Г) кадгерінова блискавка;
- Д) контакт інтегринів з білками позаклітинного матриксу

2. Які молекули забезпечують швидку передачу нервового імпульсу?

- А) ростові фактори;
- Б) протеїни;
- В) фосфоліпіди;
- Г) нейромедіатори;
- Д) вітаміни

3. Аутокринний фактор:

- а) молекула, яка діє на клітини того ж типу, що її експресують;
- б) молекула, яка діє на сусідні клітини з тими, що її експресують;
- в) молекула, яка діє на будь-які клітини організму;
- г) молекула, яка діє на клітину, що її експресує;
- д) не впливає на клітини взагалі.

2. Паракринний фактор:

- а) молекула, яка діє на клітини того ж типу, що її експресують;
- б) молекула, яка діє на сусідні клітини з тими, що її експресують;
- в) молекула, яка діє на будь-які клітини організму;
- г) молекула, яка діє на клітину, що її експресує;

3. Рецептори плазматичної мембрани підрозділяють на:

- а) G-білок спряжені рецептори; тиреоїдні рецептори, тирозинкіназні рецептори;
- б) ядерні рецептори, G-білок спряжені рецептори; рецептори-іонні канали;
- в) G-білок спряжені рецептори; рецептори з власною ферментативною активністю, рецептори-іонні канали;
- г) рецепторні тирозинкінази, G-білок спряжені рецептори, рецептори-іонні канали;
- д) серин-треанінові кінази, мембранні тирозинкінази, G-білок спряжені рецептори, рецептори-іонні канали.

4. Реакції росту, апоптозу міоцитів і гіпертрофії серця пов'язані з порушенням:

- а) Регуляції функціонування міоцитів через GsPCR
- б) Регуляція функціонування міоцитів через GqPCR
- в) Регуляція функціонування міоцитів через GiPCR
- г).Регуляція функціонування міоцитів через цитокінові рецептори
- д) Регуляція функціонування міоцитів через тирозинфосфотазні рецептори

5.Експресія і активність якої протеїнкінази збільшується при серцевій недостатності порівняно зі здоровим серцем?

- а) PKC
- б) PKA
- в) PKB
- г) KЛЛМ
- д) MAPK

6. Вкажіть локалізацію в клітині рецепторів тиреоїдних гормонів:

- а) Ядро
- б) Ендоплазматичний ретикулум
- в) плазматична мембрана
- г) Апарат Гольджі
- д) Лізосоми

7. Які типи GPCR регулюють роботу серцево-судинної системи (перерахувати):

7. Вставити пропущені співвідношення:

При серцевої недостатності співвідношення $\beta 1AR$ до $\beta 2AR$ змінюється від розподілу _____ у здоровому серці до співвідношення _____.

8. Доповнити твердження:

Серцеві _____ рецептори зберігають нормальну експресію та позитивну інотропність у серці, на відміну від рецепторів $\beta 1AR$, ETA та AT1, експресія та функція яких змінюються при серцевій недостатності.

9. Закінчіть речення:

Рецептори, що активуються проліфератором пероксисоми (PPAR), беруть участь в регуляції обміну _____

10. Вставте пропущене слово:

Ліганди для PPAR альфа, такі як клінічно використовувані препарати фенофібрат та гемфіброзил, використовуються для _____ (зменшення, збільшення) рівня тригліцеридів та підвищення рівня ЛПВЩ.

Список рекомендованих джерел

1. О.В. Цимбалюк, А.І. Драган, Г.М. Толстанова, І.С. Войтешенк, Т.Л. Давидовська, Г.П. Грабчук, О.Ю. Нипорко Міжклітинні Міжклітинні взаємодії: [Навчальний посібник] - К., 2023. - 151 с.
2. Lodish H., Berk A., Kaiser C.A., Krieger M., Bretscher A., Ploegh H., Amon A., Scott M.P. Molecular cell biology. seventh edition / W. H. Freeman and Company, New York, 2013. - 1247 p.

3. Weis, W. I., & Kobilka, B. K. (2018). The Molecular Basis of G Protein-Coupled Receptor Activation. *Annual review of biochemistry*, 87, 897–919. <https://doi.org/10.1146/annurev-biochem-060614-033910>
4. Pollard T., Earnshaw W., Lippincott-Schwartz J., Johnson G. *Cell Biology*. 3rd Edition / Elsevier, 2017. - 882 p
5. Jimeng Su, Ying Song, Zhipeng Zhu, Xinyue Huang, Jibiao Fan, Jie Qiao and Fengbiao Mao Cell–cell communication: new insights and clinical implications // *Signal Transduction and Targeted Therapy* (2024) 9:196, P. 1-52; <https://doi.org/10.1038/s41392-024-01888-z>