

# Receptorji kot tarče učinkovin

Izr. prof. dr. Marko Anderluh

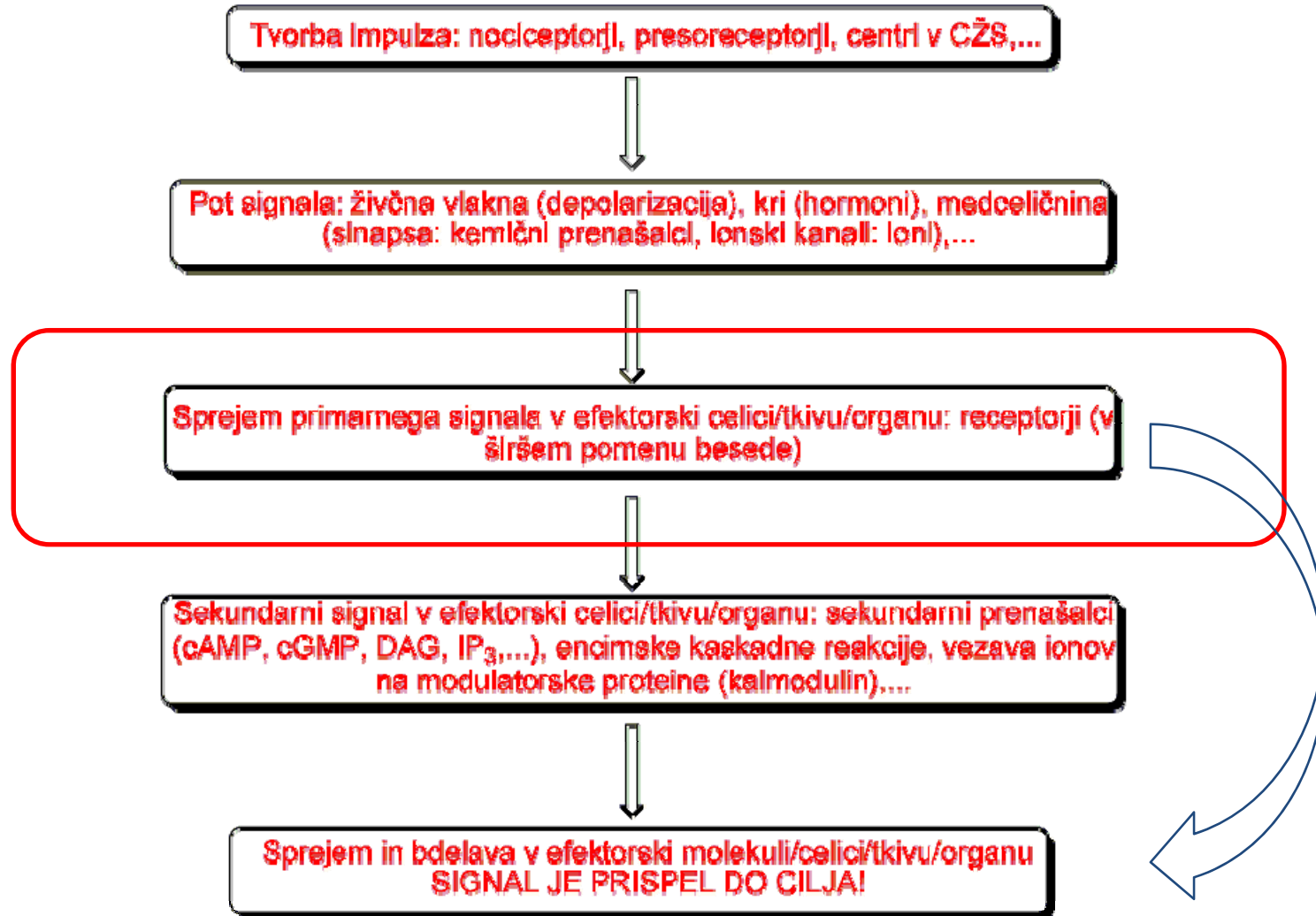
6. december 2012

# Kaj je signal? Prenos signala?

Prenos signala med dvema nevronoma je osnovni način komunikacije med dvema celicama.



# Kdo (kaj) sprejme signal?



# Kdo/kaj je receptor?



# Definicija receptorjev

## Fiziološka definicija

- Receptor je začetni del efektorskega sistema, ki **sprejme signal** in ga **prevede v biološki odgovor** s ciljem vzdrževanja integritete delovanja celotnega organizma

## Farmakološka definicija

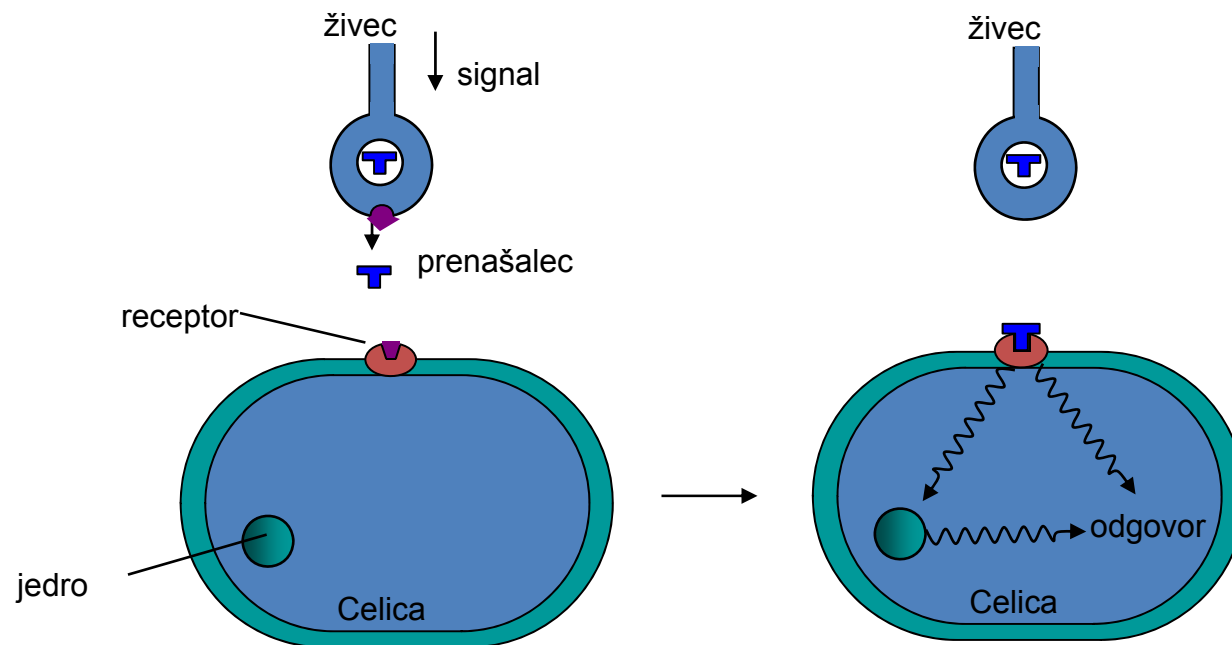
- Receptor je vsaka **makromolekula**, kjer **vezava** določenega **liganda** povzroči konformacijsko spremembo in s tem farmakološki učinek

# Definicija receptorjev

## Splošna definicija

- vsaka (**makro**)molekula, ki specifično veže določen ligand ne glede na farmakološki/fiziološki učinek

# Kaj so torej receptorji (FK)?



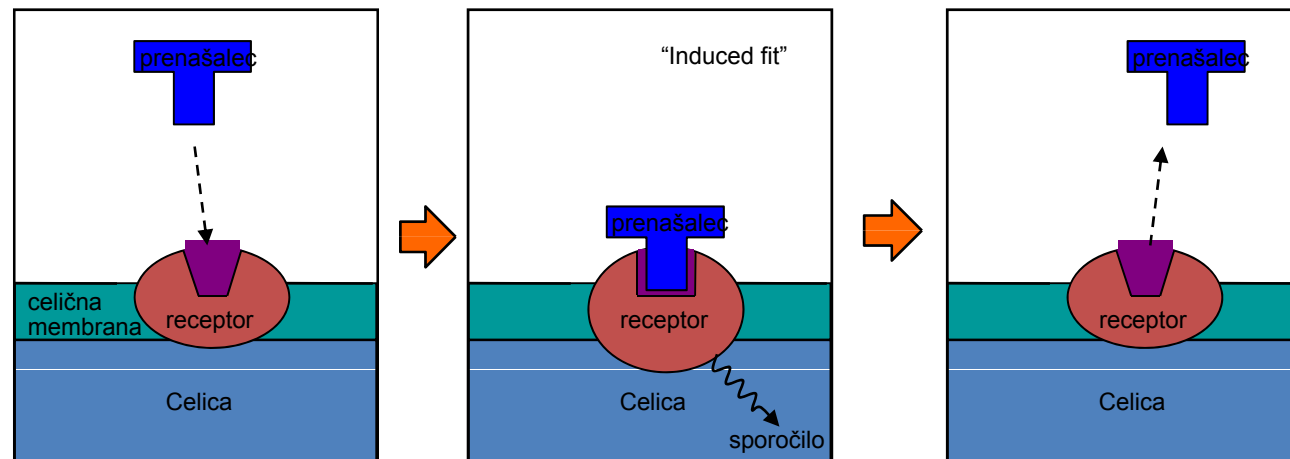
# Kaj so torej receptorji (FK)?

- **Globularni proteini**
- **na celični membrani (večinoma)**
- **Sprejemajo “kemijske” signale** od prenašalcev iz ostalih celic
- **specifični** za različne ligande - **prenašalce**
- Vsaka celica – **vrsta različnih receptorjev**
- Posredujejo **signal v celico** – celični učinek



# Prenos signala

- Specifične interakcije
- Ni reakcije ali katalize!
- Ehrlich: “ključ in ključavnica”
- Inducirano prileganje – sprememba konformacije



# Prenos signala

## Kaj določa ali se signal prenese?

- Reverzibilna vezava prenašalca – afiniteta? Močnejša afiniteta – močnejši učinek?
- Zasedenost receptorja?
- V kakšnih konformacijah je receptor?

# Ali je učinek odvisen od zasedenosti receptorja?

- 1) Teorija zasedenosti receptorjev:** učinek je sorazmeren deležu zasedenih receptorjev z ligandom.
- Primer steroidnih hormonov – pri 50% zasedenosti receptorjev ( $K_d$ ) učinek ni 50%
  - Učinek ni premosorazmeren zasedenosti receptorja!

# Teorije, ki opisujejo učinke preko receptorjev

**2) Hitrostna teorija:** učinek je odvisen od hitrosti zasedanja receptorjev, učinek je posledica asociacije in disociacije in ne zasedenosti

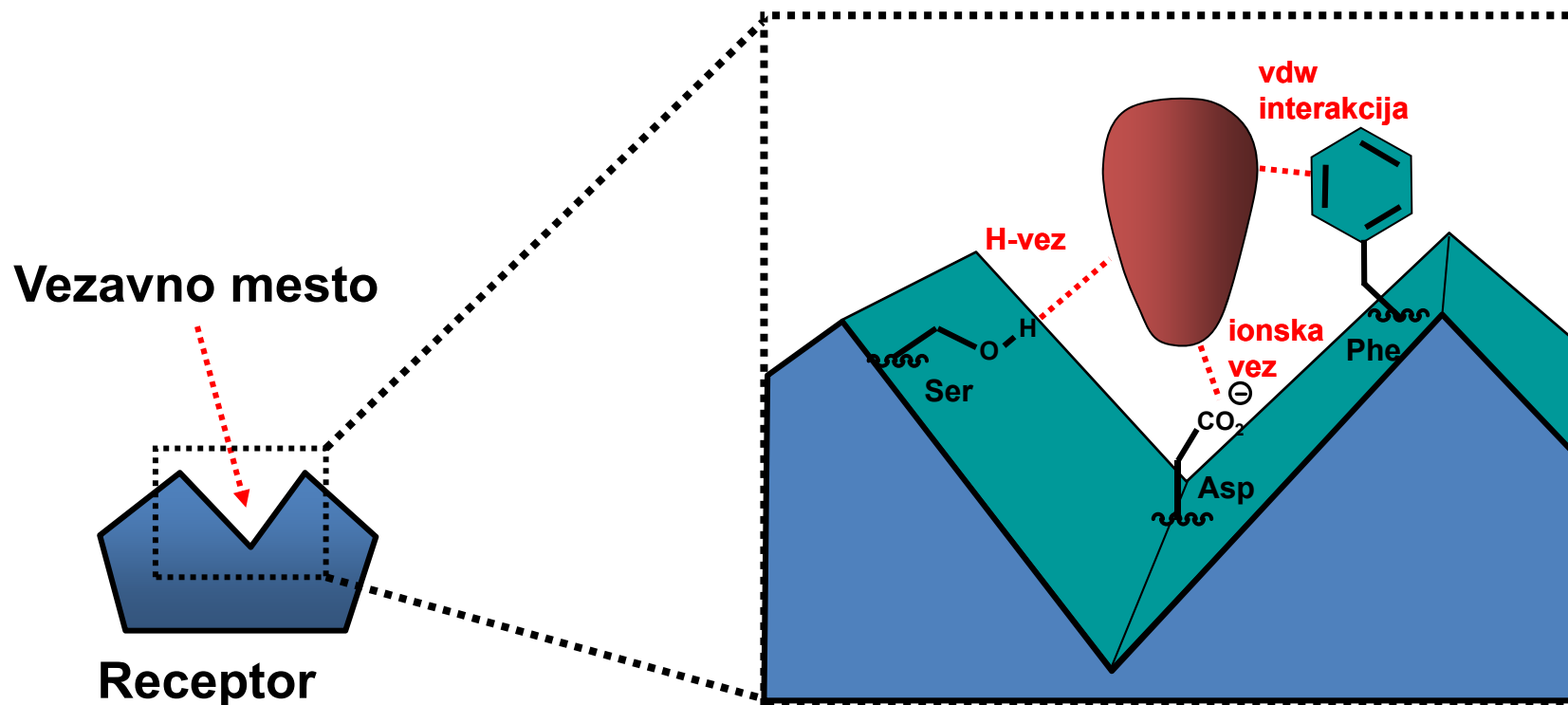
# Teorije, ki opisujejo učinke preko receptorjev

- 3) Teorija inducirane prileganja:** osnovna konformacija R ni enaka konformaciji kompleksa. Ko se ligand veže, spremeni konf. Sledi aktivacija R.

# Inducirano prileganje

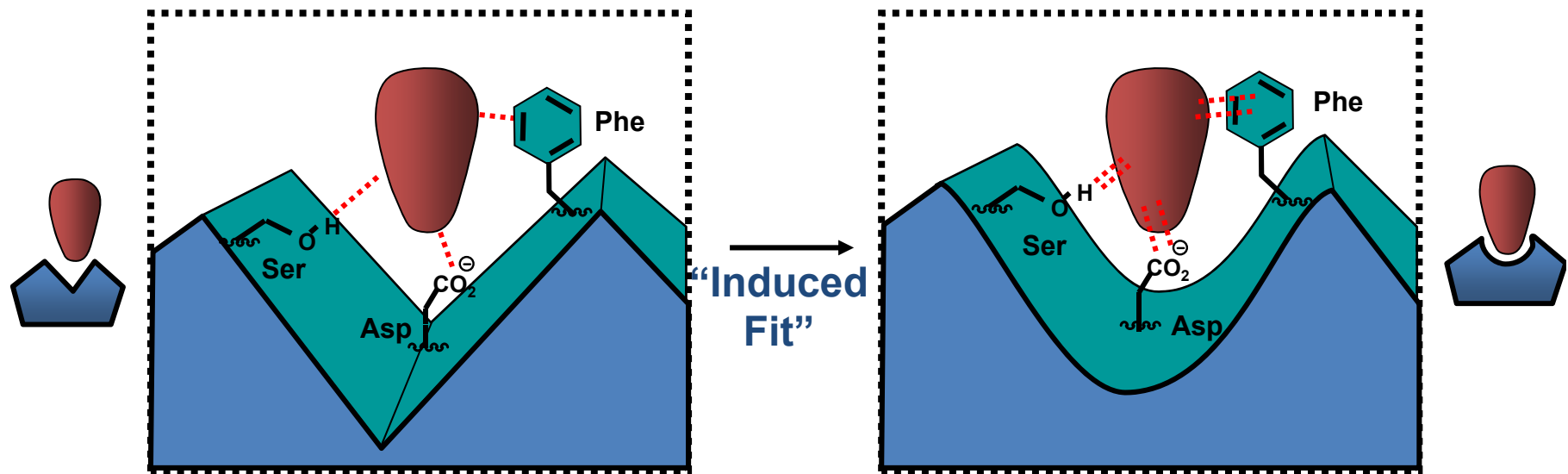
Kaj je inducirano prileganje?

- Medmolekulske sile - vezava



# Inducirano prileganje

- Inducirano prileganje – sprememba konformacije



Medmolekulske vezi niso optimalne za najmočnejšo interakcijo

Optimizirane razdalje za najmočnejšo interakcijo

# Teorije, ki opisujejo učinke preko receptorjev

**4) Makromolekularna teorija motnje - kombinacija hitrostne teorije in teorije ind. prileganja:** pravi, da sta dve obliki konformacij receptorja: take ki vodijo do biološkega odgovora (agonisti) in take, ki ne dajejo odg. (antagonisti); hitrost nastajanja bioaktivne konformacije določa učinek



## Teorije, ki opisujejo učinke preko receptorjev

**5) Teorija aktivacije zaradi agregacije:** receptorji so v odsotnosti liganda v aktivni in neaktivni obliki (ravnotežje). Agonist premakne ravnotežje v smeri aktivne konformacije, antagonist pa v smeri neaktivne konformacije.

# Prenašalci - ligandi za receptorje

## Splošna definicija

- Vsaka **molekula**, ki se specifično veže določen receptor

## Prenašalec

- se sintetizira, hrani in sprošča iz presinaptičnega nevrona/žlezne celice
- aktivira receptorje, ki sprožijo učinek na postsinaptični/tarčni celici
- ima časovno omejen učinek, življenjsko dobo

# Prenašalci - ligandi za receptorje

## Prenašalci

- Živčni impulz – depolarizacija: ioni
- Živčni impulz – kemični prenos s prenašalci oz. (nevro)transmitorji
- Ioni

## Prenašalci

- NO
- Nukleotidi
- Peptidi/proteini: snov P, endorfini, enkefalini, holecistokinin, somatostatin
- Hormoni
- Citokini (npr. interlevkini), eikozanoidi

# Delitev receptorjev

## Glede na ligand

- Adrenergični
- Holinergični
- Dopaminergični
- Glutamatni
- Serotoninergični
- ADP
- ...

# Delitev receptorjev

**Glede na celično lokacijo in mehanizem prenosa =  
naddružine**

## **(Trans)membranski**

- **Ionski kanali** = ionotropni; hitro delujoči neurotransmitorji; 2TM, 3TM, 4TM
- **Sklopljeni s proteinom G** = metabotropni; počasni delujoči neurotransmitorji; 7TM
- **Protein kinaze**; 1TM

## **Jedrni**

- **Receptorji za steroidne hormone**

hitrost  
prenosa



ms

s

min

ure,  
dnevi

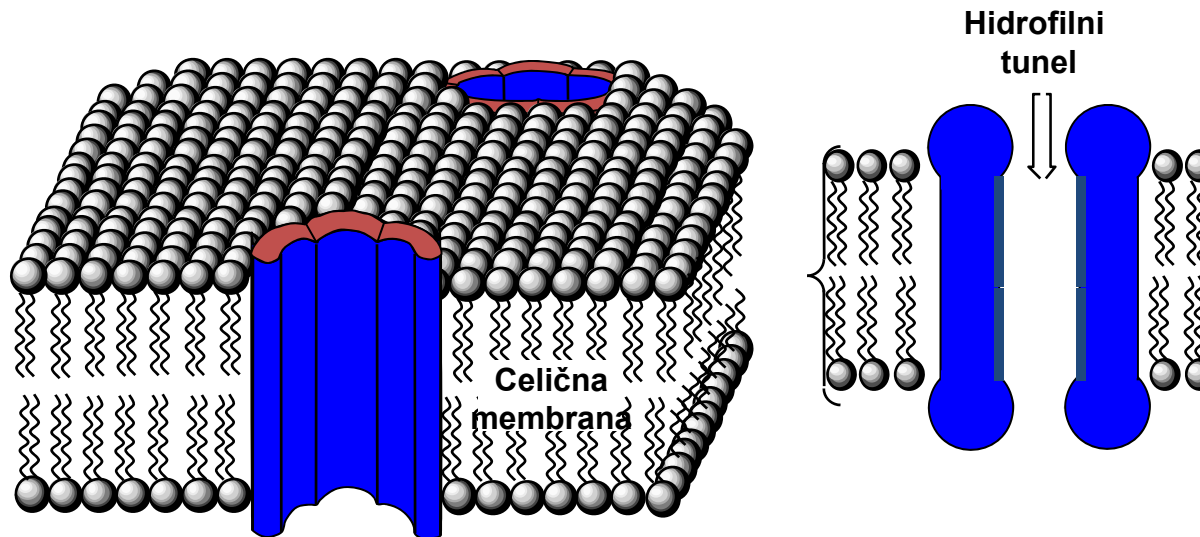
# Ionotropni receptorji

Prenos signala med dvema nevronoma je osnovni način komunikacije med dvema celicama:

[http://www.youtube.com/watch?v=90cj4NX87Yk  
&feature=related](http://www.youtube.com/watch?v=90cj4NX87Yk&feature=related)

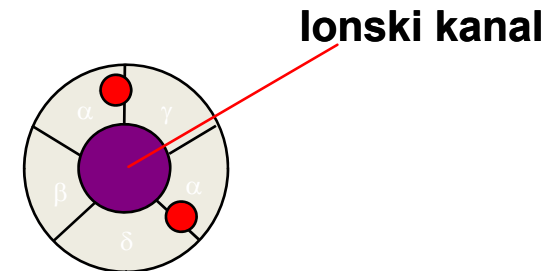
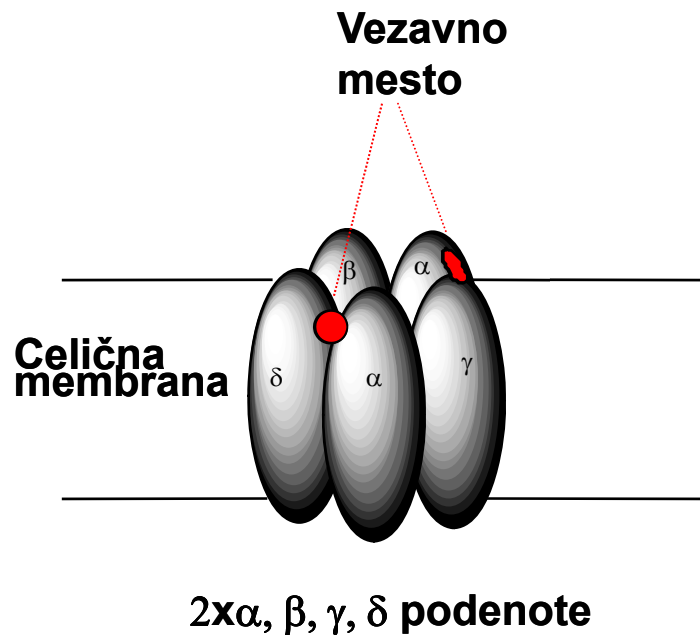
# Ionotropni receptorji

- Lipidni dvosloj – nepremostljiva ovira za ione
- Ionski kanali – hidrofilni “tuneli” za ione
- Selektivni za določen ion



# Ionotropni receptorji

- Nikotinski holinergični receptor



- 2 vezavni mesti  
večinoma na  
 $\alpha$ -podenotah

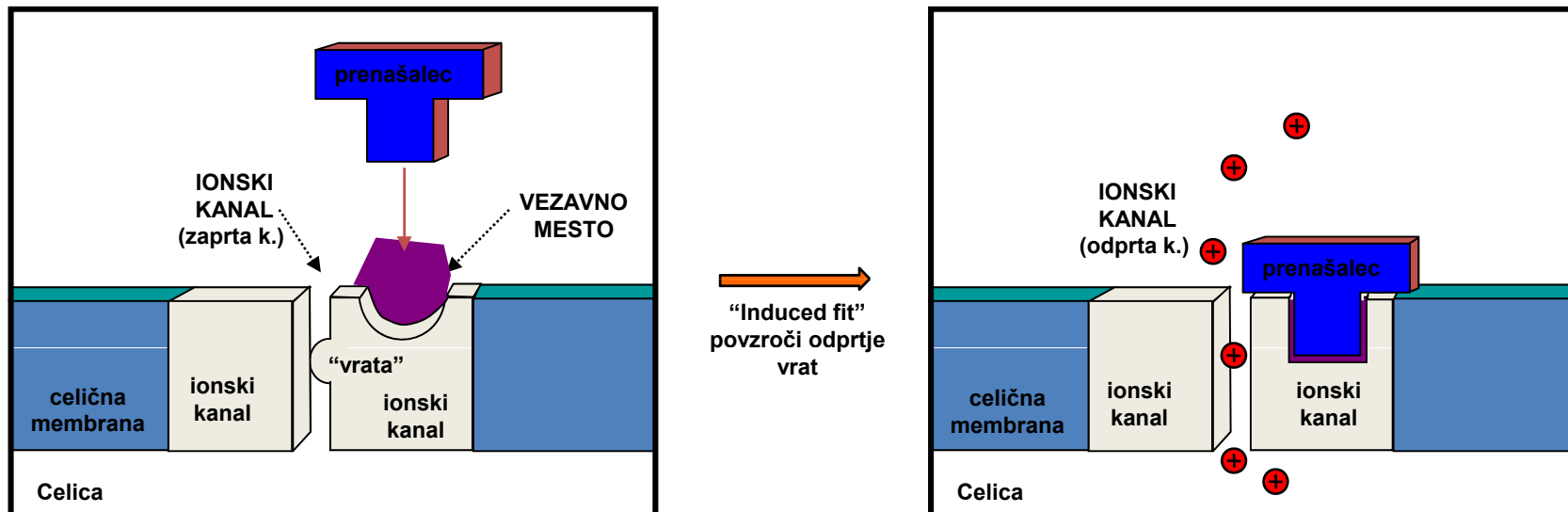


# Ionotropni receptorji

- Struktura podenot

# Ionotropni receptorji

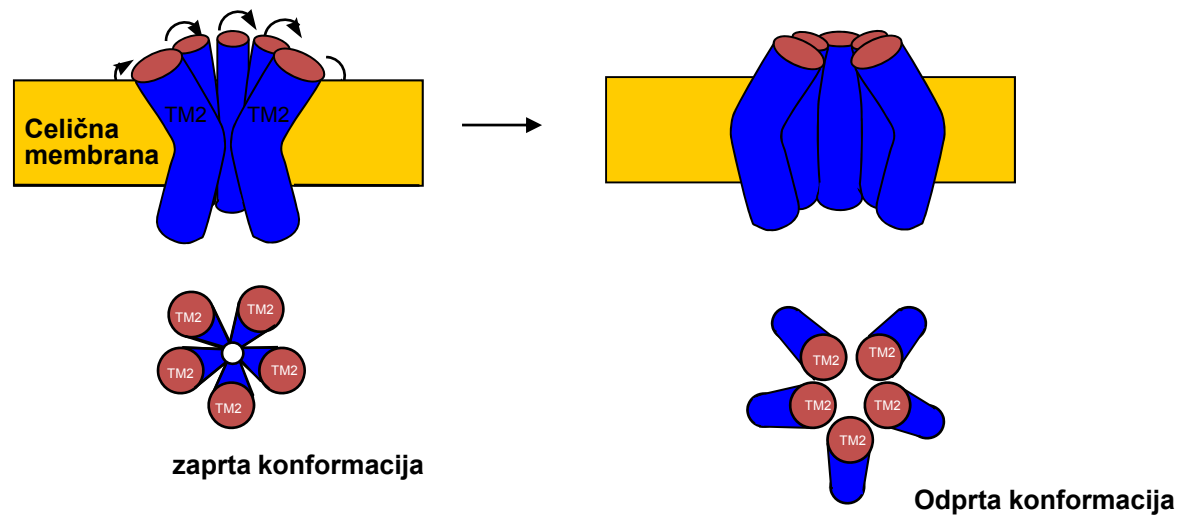
- Receptor – le del ionskega kanala
- Ionski kanal – zaprta ali odprta konformacija
- Konformacija odvisna od vezave prenašalca



- Pretok ionov v smeri konc. gradienta
- Polarizacija/depolarizacija

# Ionotropni receptorji

- Inducirano prileganje – rotacija podenot



# Ionotropni receptorji

- Ena molekula prenašalca – sprostitelj številnih ionov – učinek!
- Selektivni na ligande/prenašalce
- **Ekscitatorni prenašalci** (polarizacija), za  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ 
  - glutamat
  - AcCh (nikotinski rec.)
  - serotonin
  - ATP
- **Inhibitorni prenašalci** (depolarizacija), za  $\text{K}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ 
  - GABA ( $\gamma$ -aminobutirna kislina)
  - glicin

<http://www.blackwellpublishing.com/matthews/neurotrans.html>

# Ionotropni receptorji

## Signal – prevajanje živčnega impulza

- Akcijski potencial (polarizacija),  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$
- Depolarizacija,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Cl}^-$

## Signal – metabolična aktivacija $\text{Ca}^{2+}$

- Kontrakcija gladke, srčne in prečnoprogaste muskulature
- Eksocitoza (npr. iz živčnih končičev) neurotransmitorjev in hormonov
- Kontrola encimov preko kalmodulina (najmanj 40 različnih encimov, npr. MLCK)
- Strjevanje krvi (izvencelično)

# Ionotropni receptorji

## Povzetek

- Hiter odgovor – ms
- Prenos med nevroni ali na motorični ploščici
- Direktnen vpliv na prenos ionov – prenos signala po in v celico
- Signal – akcijski potencial +/- ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Cl}^-$ )
- Signal – metabolična aktivnost celic ( $\text{Ca}^{2+}$ )

Čas je za



# Receptorji sklopljeni s proteinom G

- Receptorji spojeni z G proteinom aktivirajo intracelularne sekundarne prenašalce: diacilglicerol,  $IP_3$ , cAMP,  $Ca^{2+}$ , cGMP



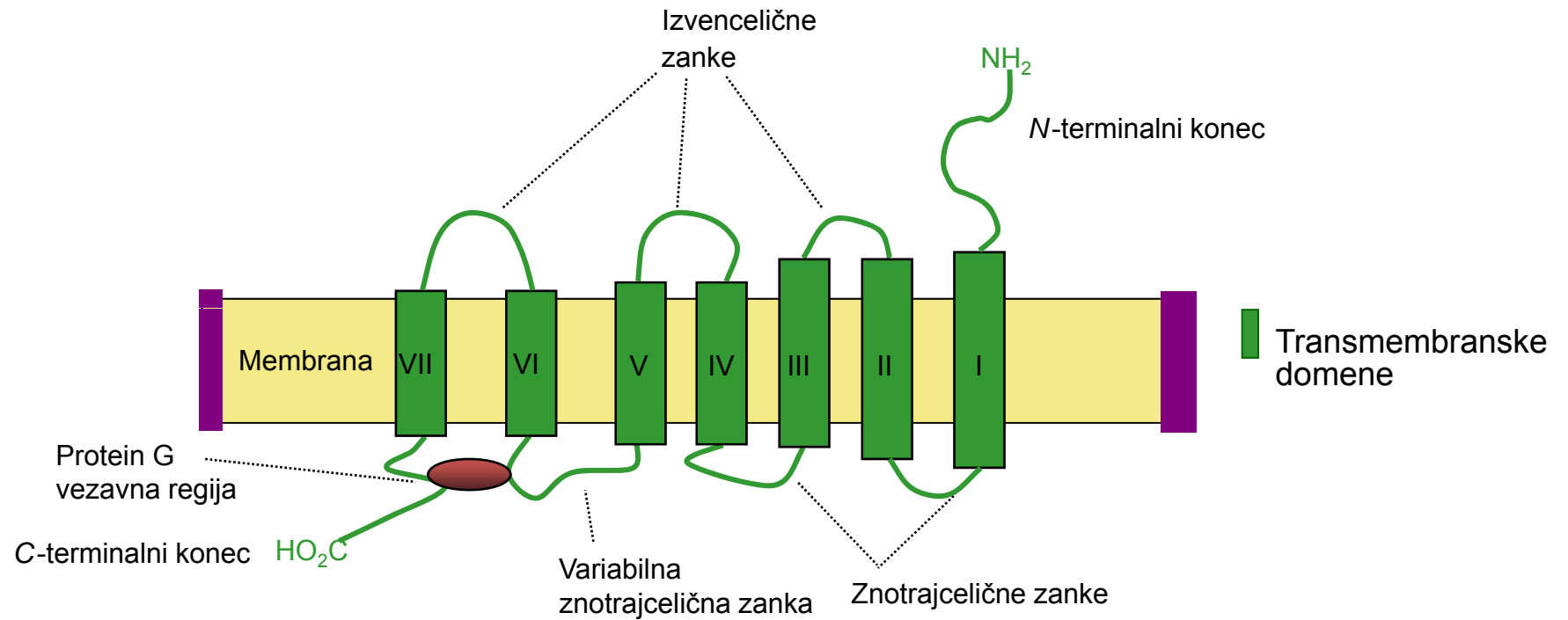
## **Sekundarni prenašalci povzročijo:**

- Odpiranje ali zapiranje ionskih kanalov
- Aktivacijo kinaz
- Fosforilacijo proteinov (kanalov, encimov)
- Aktivacijo genov in sintezo proteinov



# Receptorji sklopljeni s proteinom G

- Kako izgleda receptor sklopljen s proteinom G?

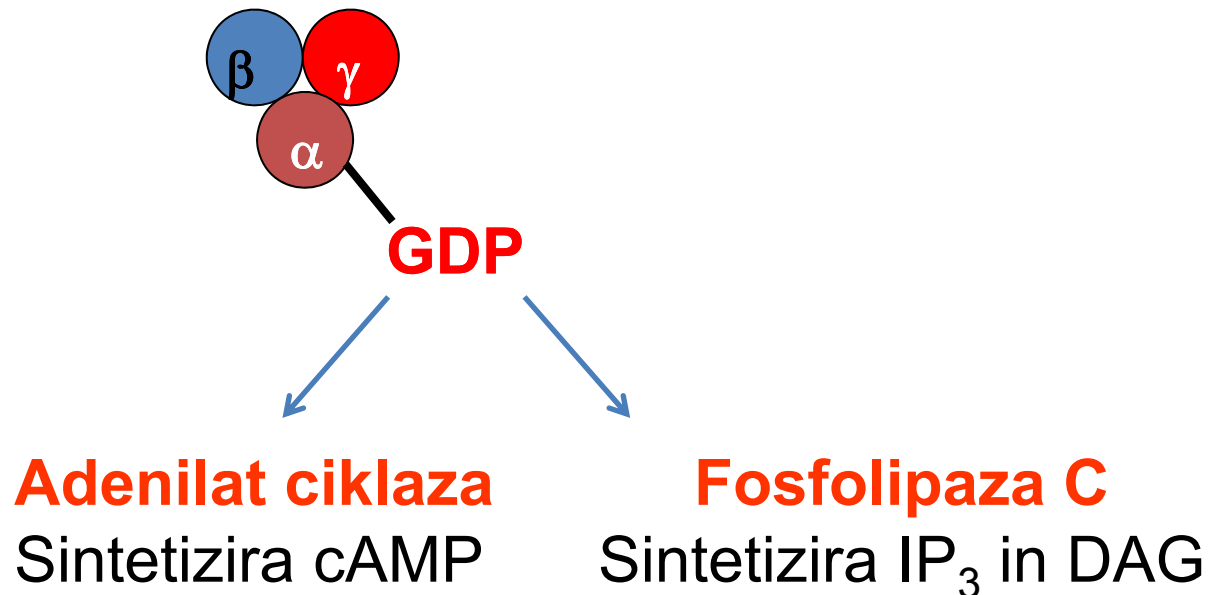


# Receptorji sklopljeni s proteinom G

## Kaj je protein G?

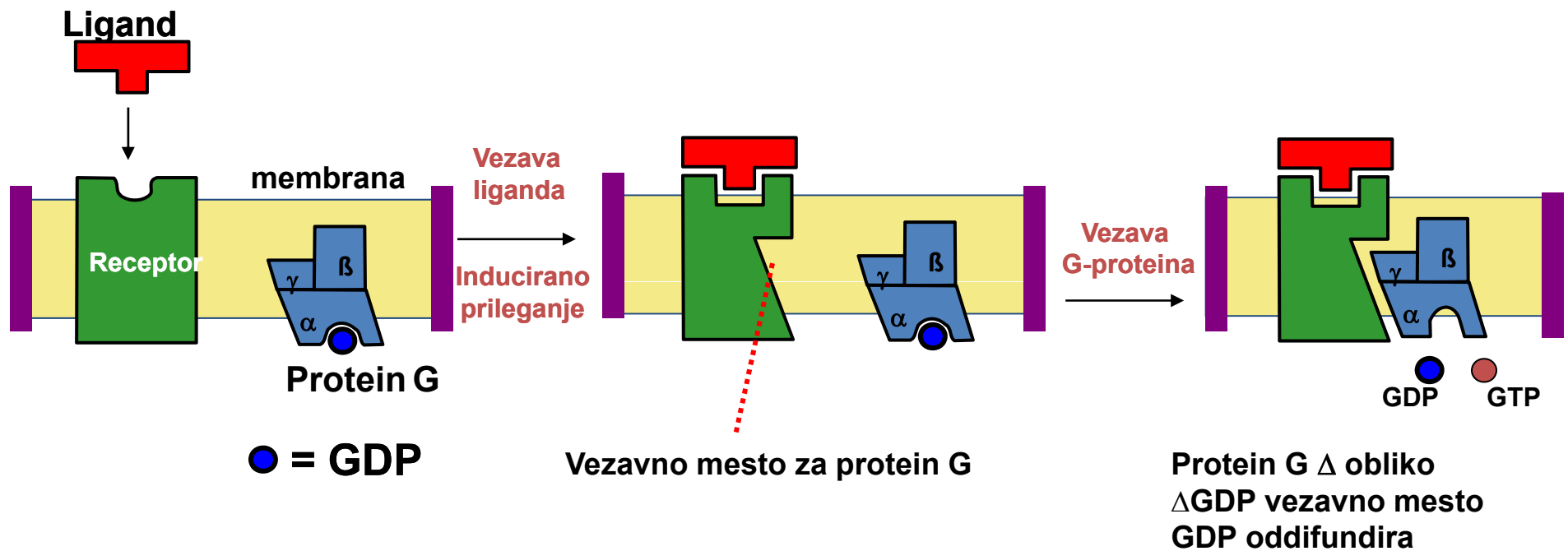
**G<sub>s</sub>-Protein** - membranski protein iz 3 podenot ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ )  
-  $\alpha$ -podenota nekovalentno veže GDP/GTP

**G<sub>s</sub>-Protein** - sklopljen z encimi, ki sintetizirajo sekundarne glasnike



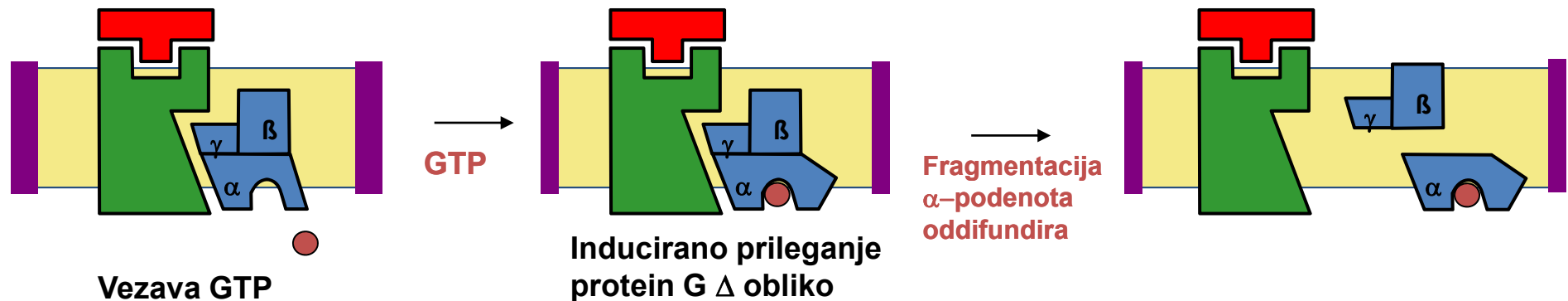
# Receptorji sklopljeni s proteinom G

Mehanizem prenosa signala preko proteina G:



# Receptorji sklopljeni s proteinom G

Mehanizem prenosa signala preko proteina G :

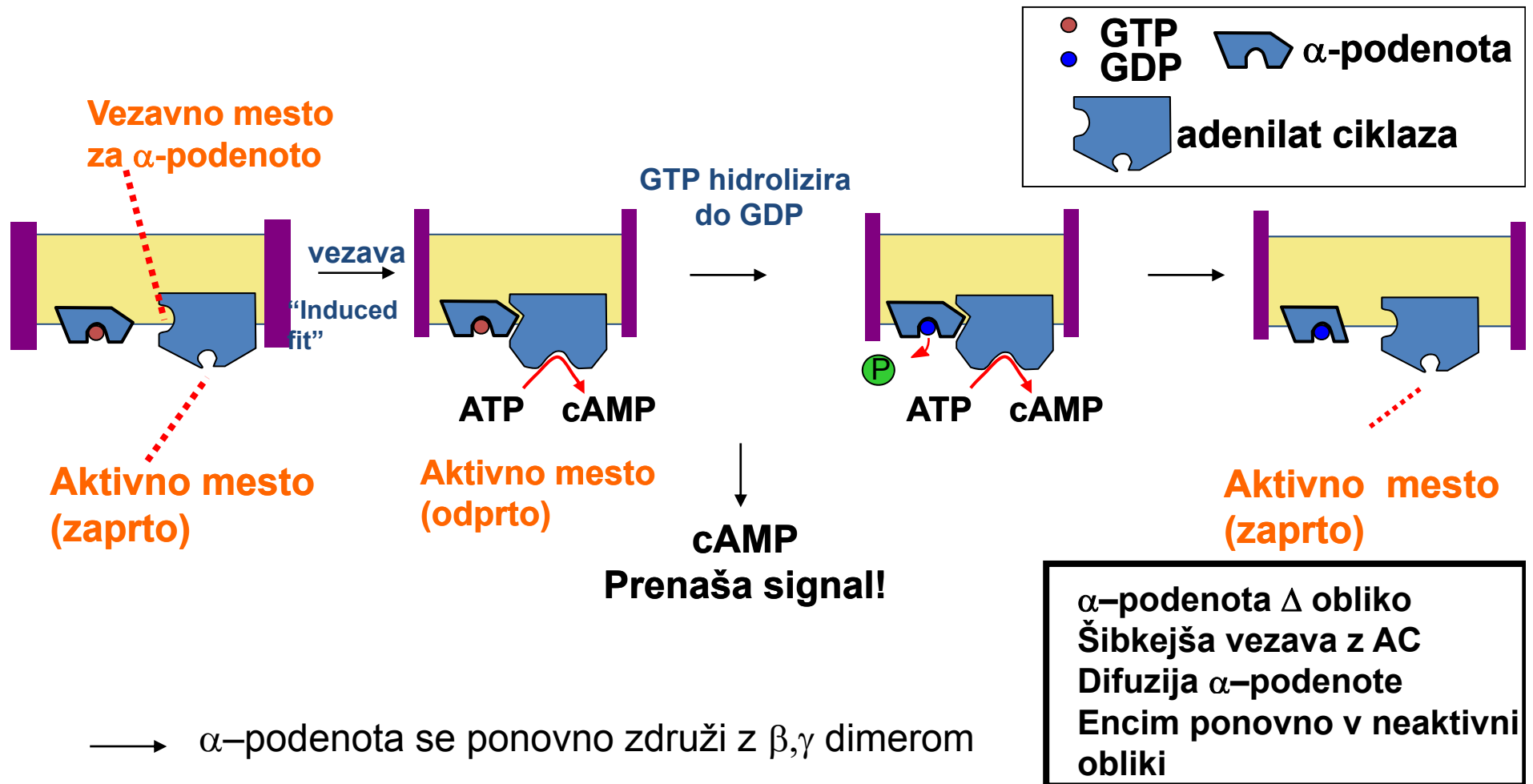


## posledice:

- proces se ponavlja dokler je vezan ligand
- amplifikacija signala – 1 ligand aktivira več proteinov G
- $\alpha$ -podenota ali dimer  $\beta, \gamma$  prenašajo signal naprej

# Receptorji sklopljeni s proteinom G

Mehanizem prenosa signala preko proteina G :



# Receptorji sklopljeni s proteinom G

Mehanizem tvorbe sekundarnih glasnikov:

[http://www.youtube.com/watch?v=ZF2\\_ItzzVbs&feature=related](http://www.youtube.com/watch?v=ZF2_ItzzVbs&feature=related)

<http://www.youtube.com/watch?v=DGkh7SGacgk&feature=related>

# Receptorji sklopljeni s proteinom G

## Ligandi:

- Monoamini (adrenalin, dopamin, histamin, serotonin)
- Glutamat
- Nukleotidi
- Lipidi
- Peptidni hormoni
- $\text{Ca}^{2+}$

# Receptorji sklopljeni s proteinom G

Enak ligand lahko sproži različen odgovor po vezavi na različne podtipe receptorja:

- Tipi/podtipi receptorjev različno porazdeljeni po tkivih
- Selektivnost na tip/podtip vodi do tkivne selektivnosti

**Srčna mišica**

**$\beta_1$  adrenergični receptorji**

**Maščobne celice**

**$\beta_3$  adrenergični receptorji**

**Mišice bronhijev**

**$\alpha_1$  &  $\beta_2$  adrenergični receptorji**

**GIT**

**$\alpha_1$   $\alpha_2$  &  $\beta_2$  adrenergični receptorji**



# Receptorji sklopljeni s proteinom G

Mehanizem prenosa signala preko proteina G:

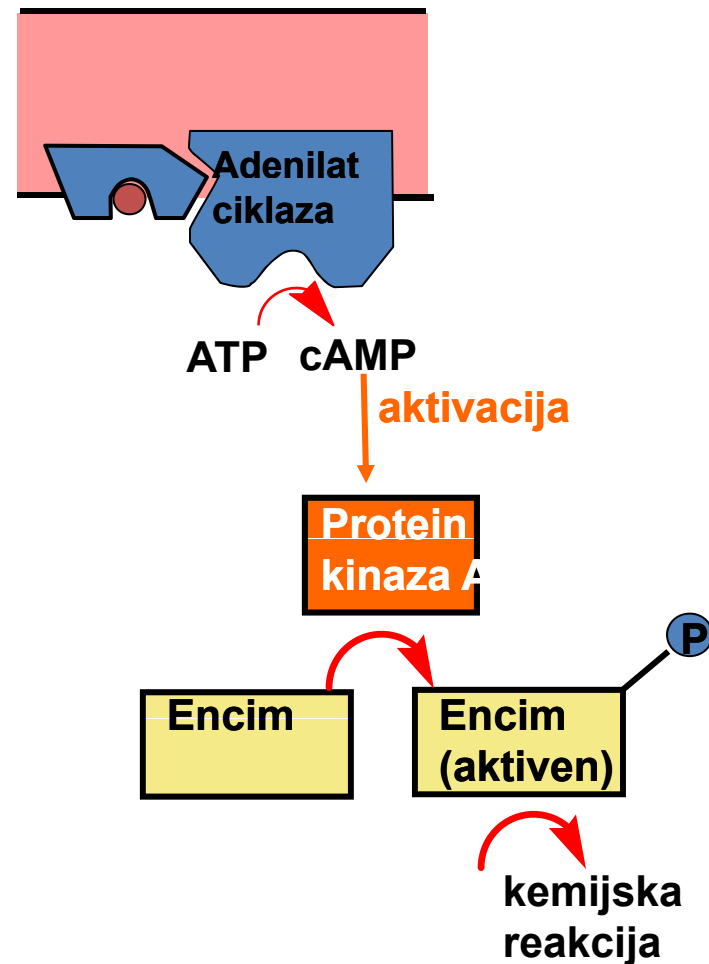
- Več 100 molekul ATP se pretvori v cAMP pred difuzijo GDP
- Amplifikacija signala!
- cAMP sekundarni glasnik v citoplazmi

**ZGODBA SE TUKAJ NE KONČA!**

# Receptorji sklopljeni s proteinom G

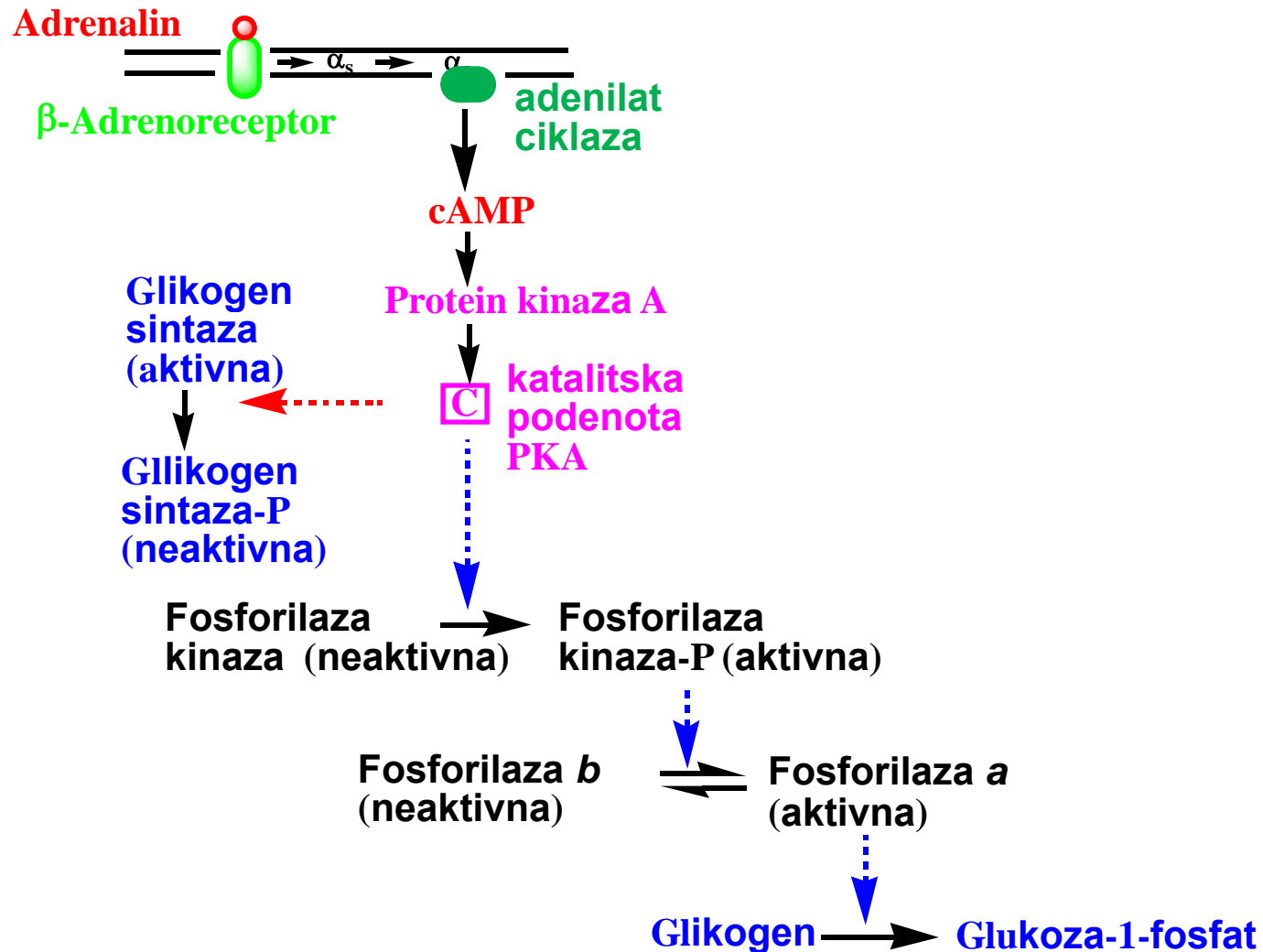
Mehanizem prenosa signala preko proteina G :

- cAMP aktivira protein kinazo A (PKA)
- Katalizira fosforilacijo serinskih in treoninskih ostankov proteinskih substratov, ATP kot kofaktor



# Receptorji sklopljeni s proteinom G

- Adrenalin sproži metabolizem glikogena



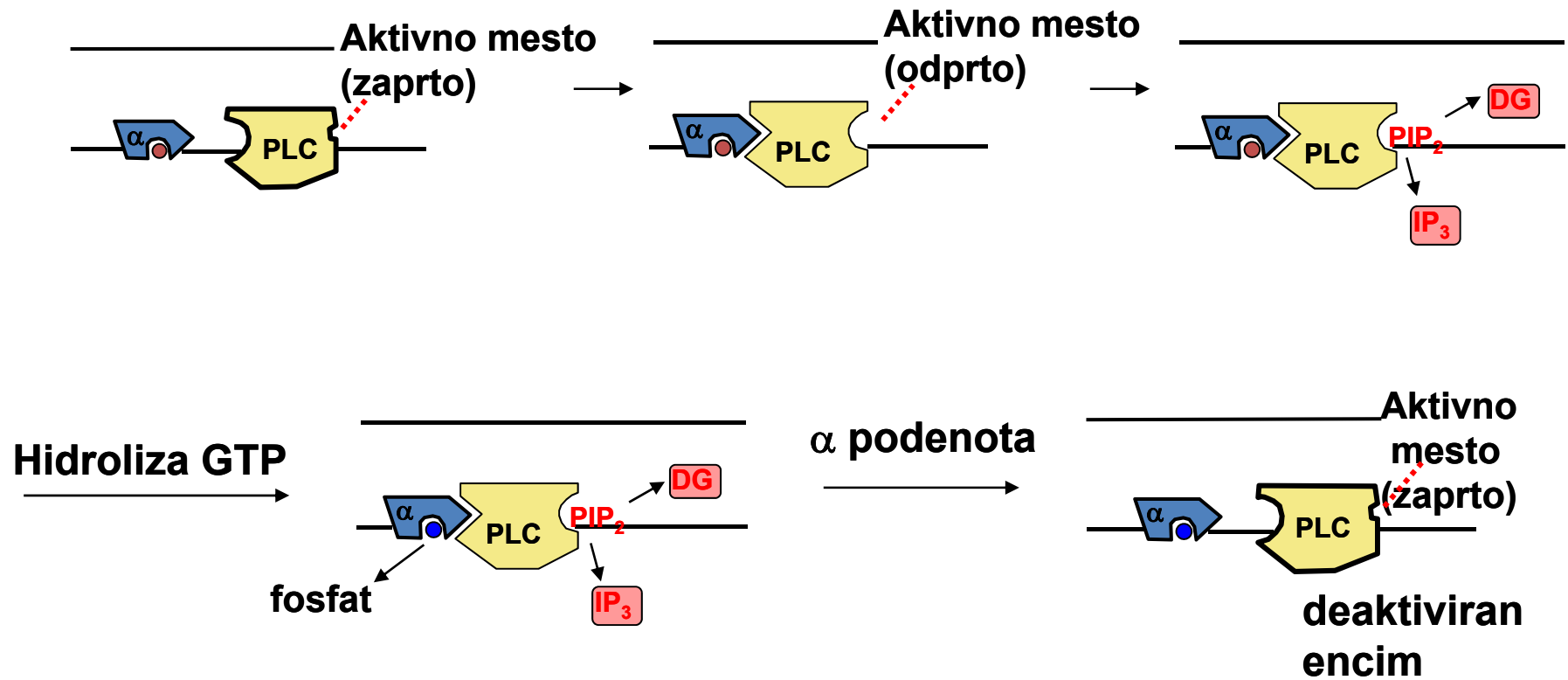
# Receptorji sklopljeni s proteinom G

Primer – adrenalin aktivira napetostno odvisne kalcijeve kanalčke preko proteina G

<http://www.blackwellpublishing.com/matthews/neurotrans.html>

# Receptorji sklopljeni s proteinom G

## Prenos signala preko fosfolipaze C (PLC)



# Receptorji sklopljeni s proteinom G

**Prenos signala preko fosfolipaze C (PLC)**

# Receptorji sklopljeni s proteinom G

## Diacilglicerol

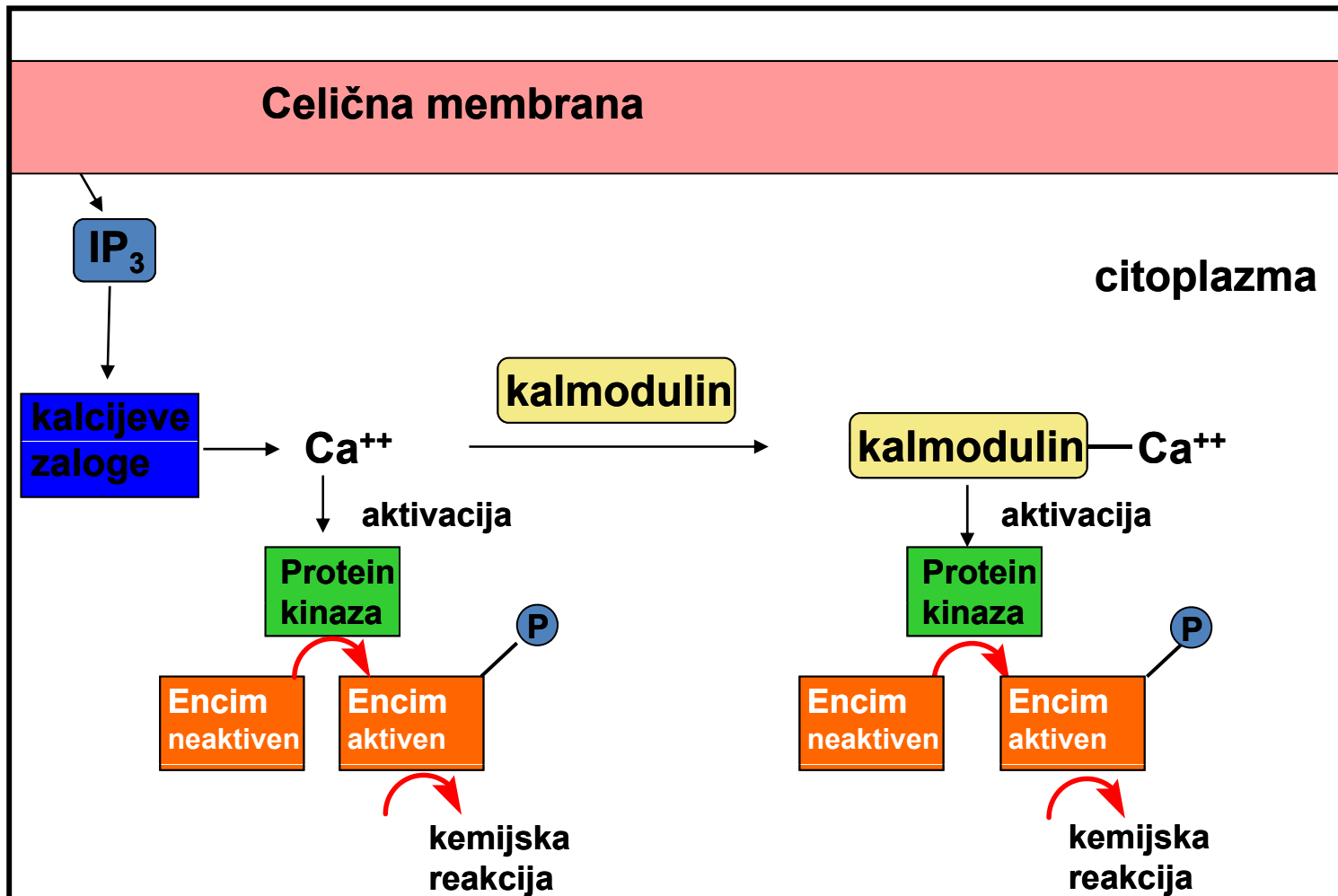
- Sekundarni glasnik v membrani
- Aktivira protein kinazo C (PKC)
- Aktivnost gladkih mišic, vnetna reakcija, tumorska propagacija

## Inozitol trifosfat

- Sekundarni glasnik v citoplazmi
- Mobilizira  $\text{Ca}^{2+}$  z odpiranjem  $\text{Ca}^{2+}$  kanalov
- $\text{Ca}^{2+}$  aktivira kalmodulin, številni učinki!

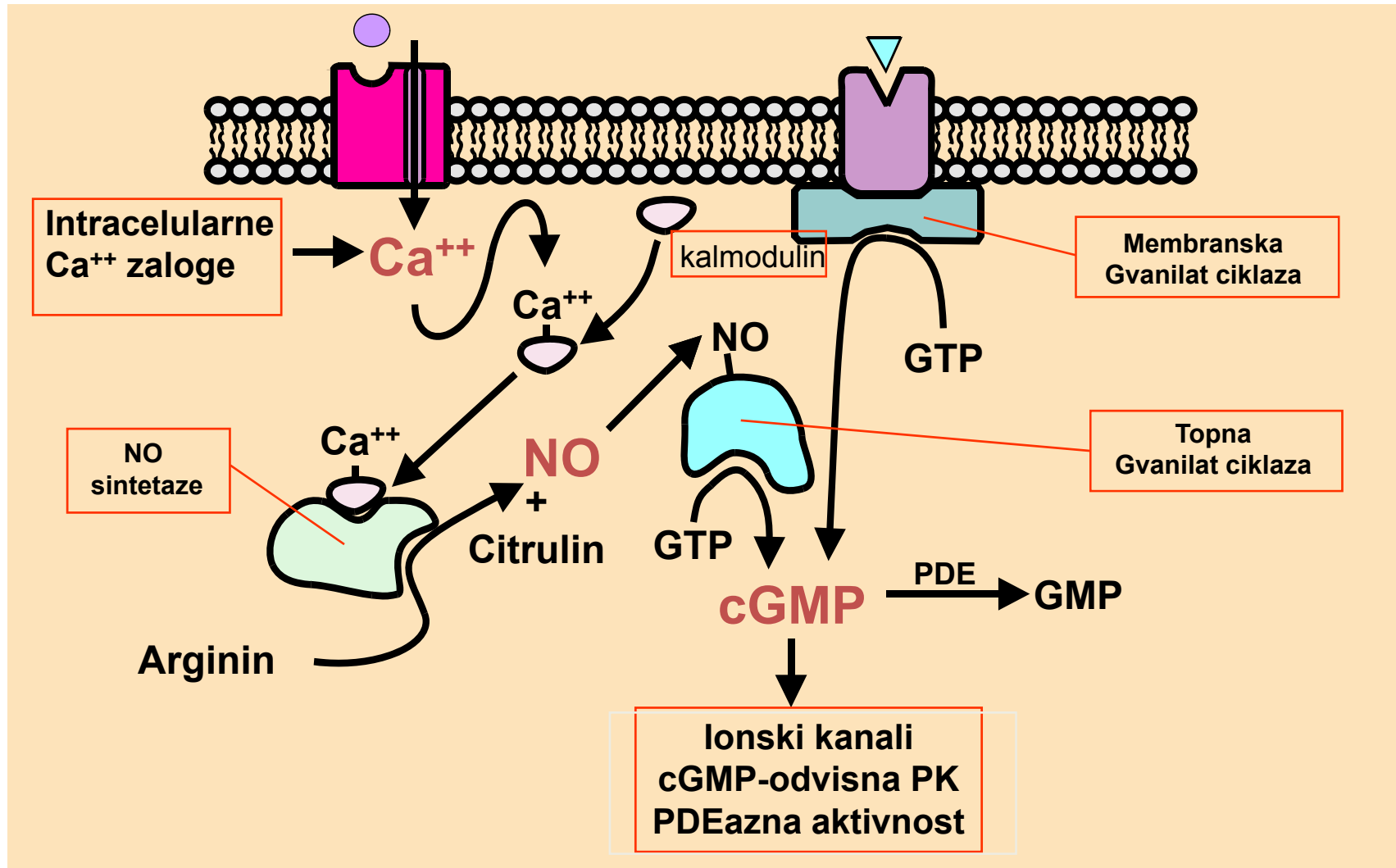
# Receptorji sklopljeni s proteinom G

## Inozitol trifosfat





# NO kot prenašalec - cGMP





# Receptorji sklopljeni s proteinom G

## Povzetek

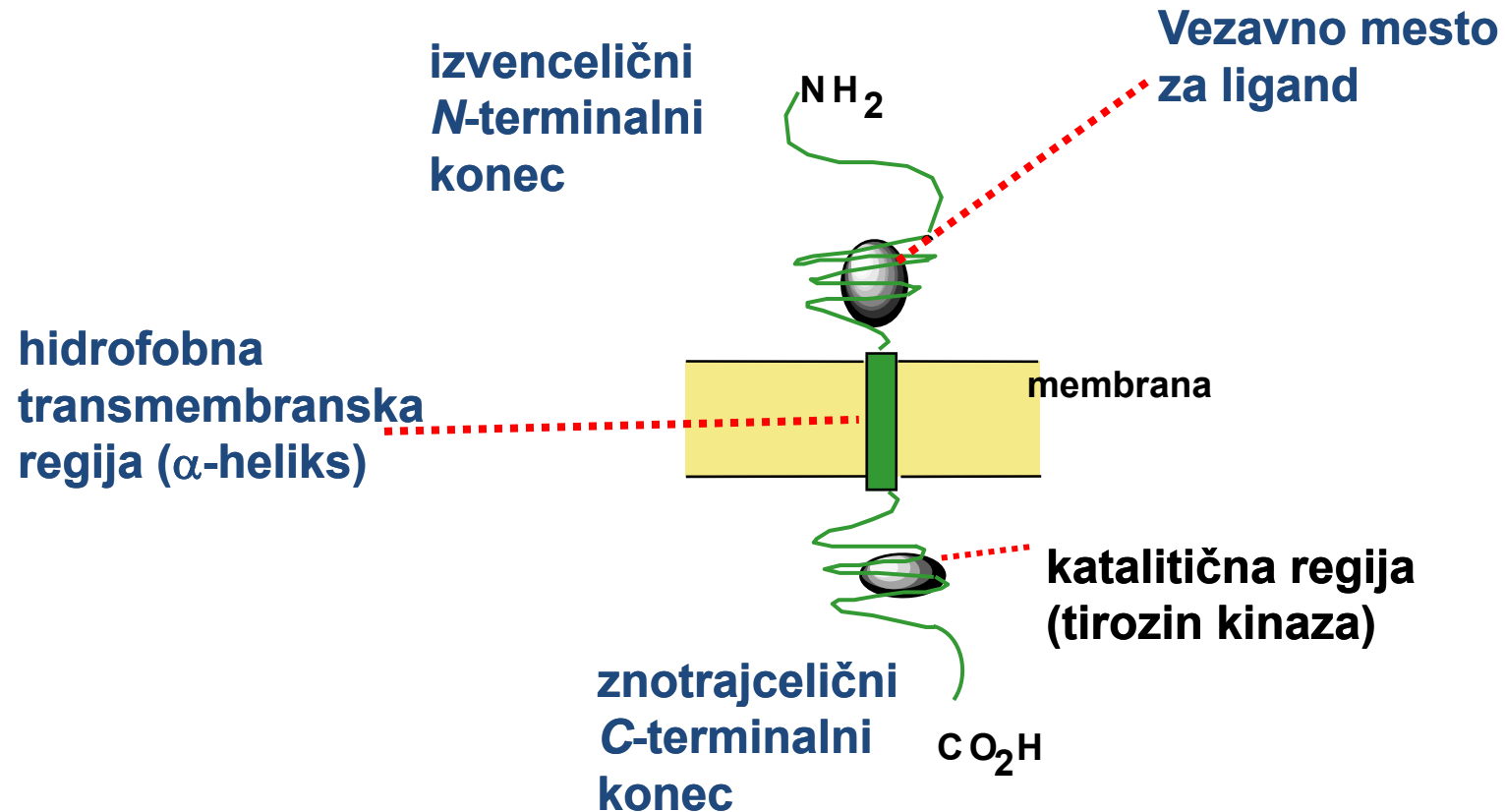
- Receptorji so transmembranski proteinski kompleksi
- Mehanizem prenosa signala preko sekundarnih glasnikov – **METABOTROPNI RECEPTORJI** za nevrotansmitorje
- Odziv v sekundah
- Odgovori so indirektni, relativno počasni, kompleksni, podaljšani in pogosto difuzni
- **AMPLIFIKACIJA!**

# Receptorji tirozin kinaze

- Receptorji za rastne faktorje, insulin
- Bifunkcionalen receptor/encim
- Avtokatalitična aktivnost
- Prevelika ekspresija na tumorskih celicah

# Receptorji tirozin kinaze

- Struktura – 1TM

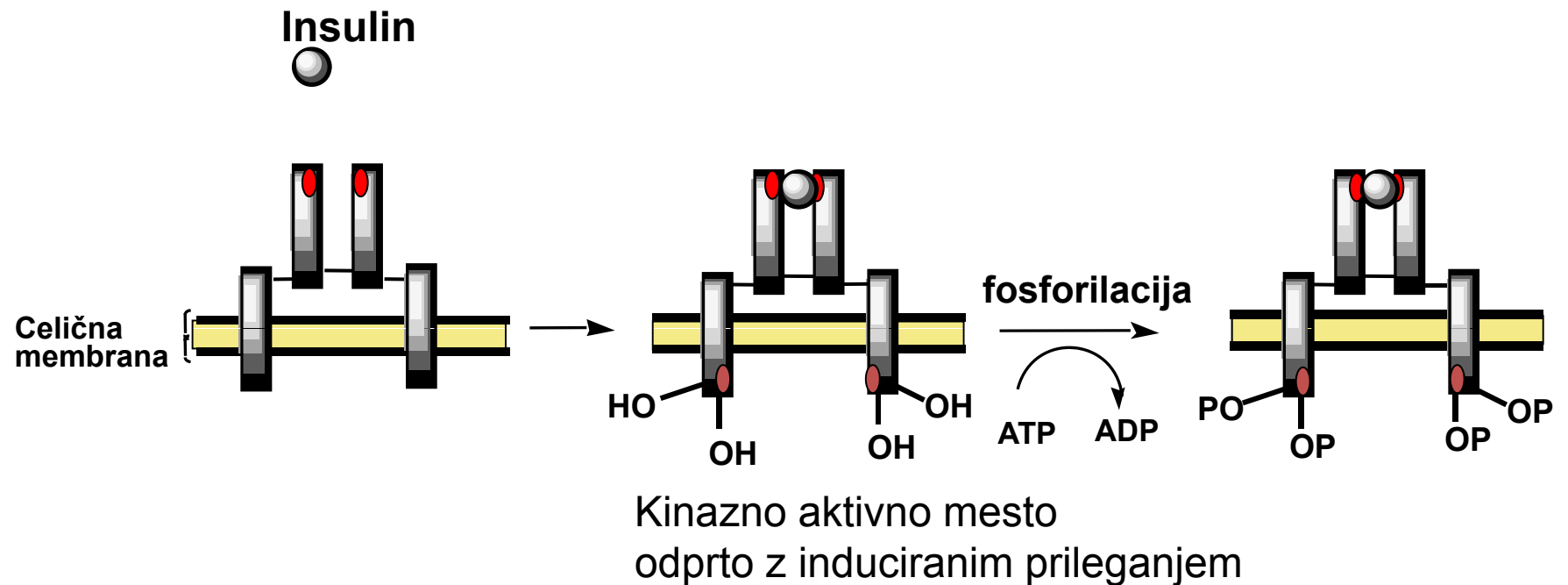


# Receptorji tirozin kinaze

- Katalitična aktivnost tirozin kinaze

# Receptorji tirozin kinaze

## Primer - insulinski receptor



- Vezavno mesto za insulin
- Aktivno mesto kinaze

# Receptorji tirozin kinaze

<http://www.youtube.com/watch?v=FkkK5ITmBYQ>



# Receptorji tirozin kinaze

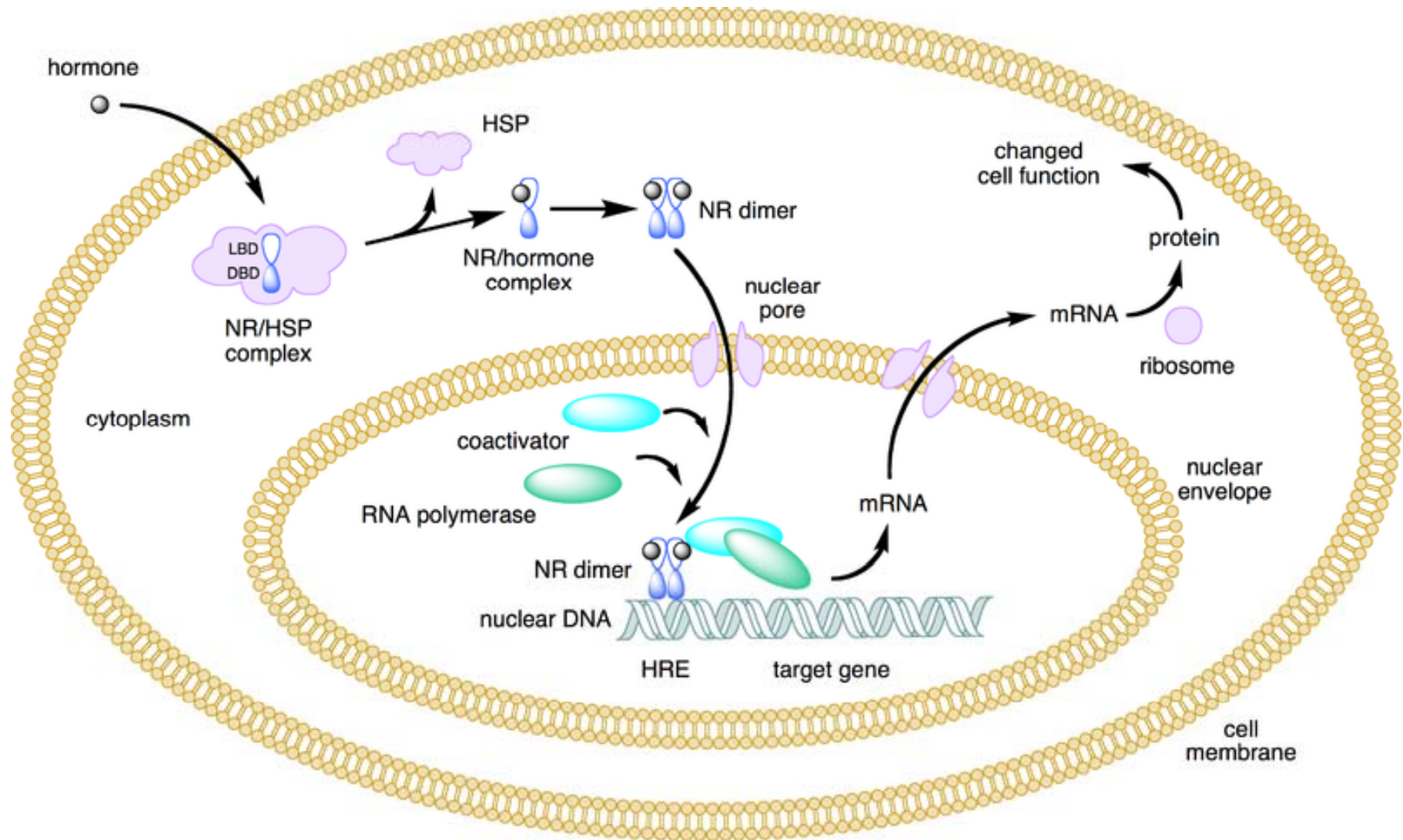
## Pomembno

- Dimerizacija ključna/lahko že obstajajo v obliki di- ali tetramera
- Fosforilirana tirozin kinaza – nadaljnje fosforilacije
- kaskada reakcij – prenos v celico
- Receptorji za rastne faktorje (receptorji za VEGF):  
[http://www.youtube.com/watch?v=zE4BkAw\\_IL4&feature=related](http://www.youtube.com/watch?v=zE4BkAw_IL4&feature=related)

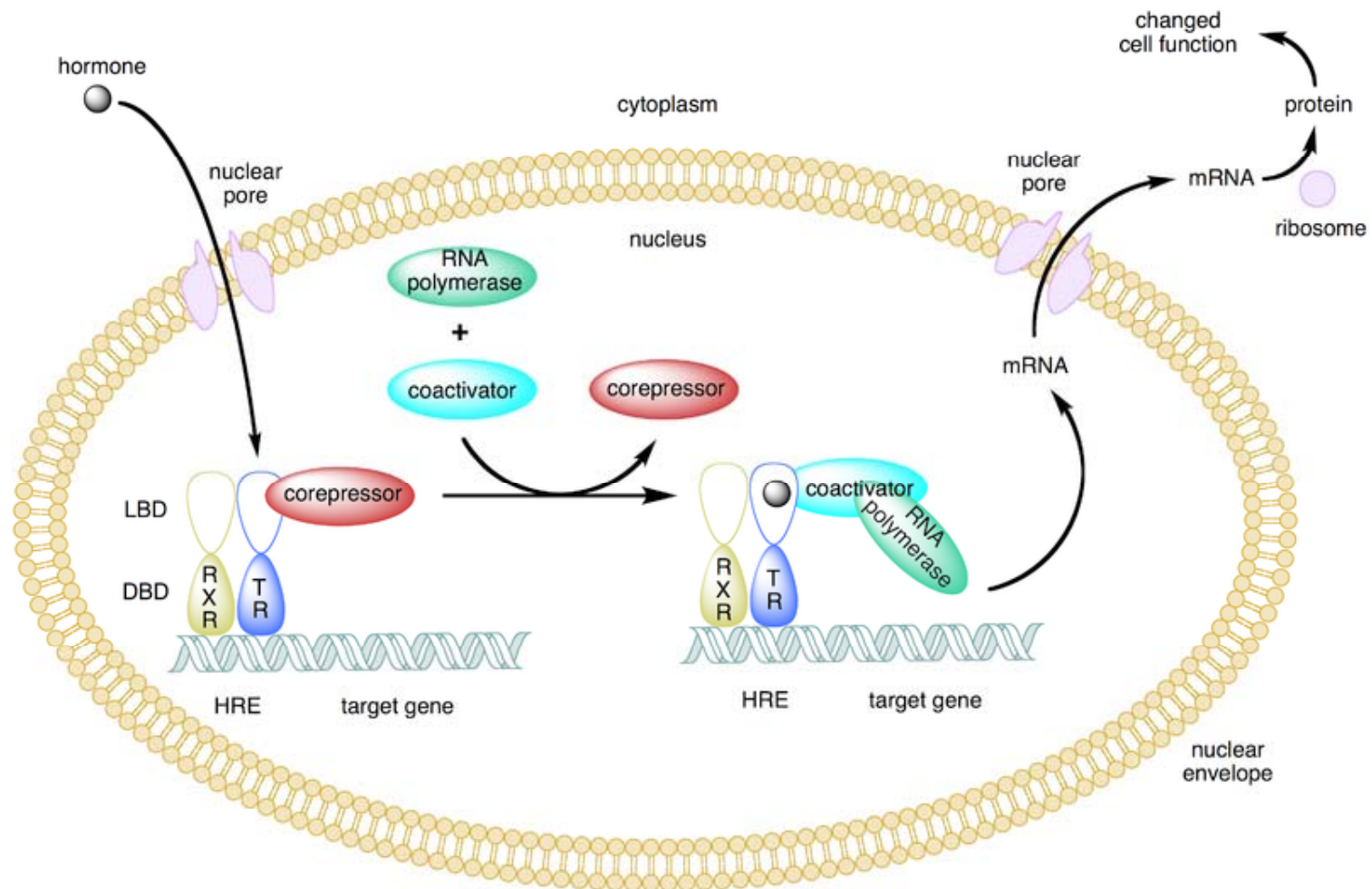
# Receptorji za steroidne hormone

- V notranjosti celice!
- Ligandi/prenašalci morajo biti dovolj lipofilni
- Vežejo steroide (estrogeni, androgeni, ...)
- Transkripcijski faktorji – vezava na DNA na HRE – “hormone response elements”!

# 1. Razred – receptorji za steroide

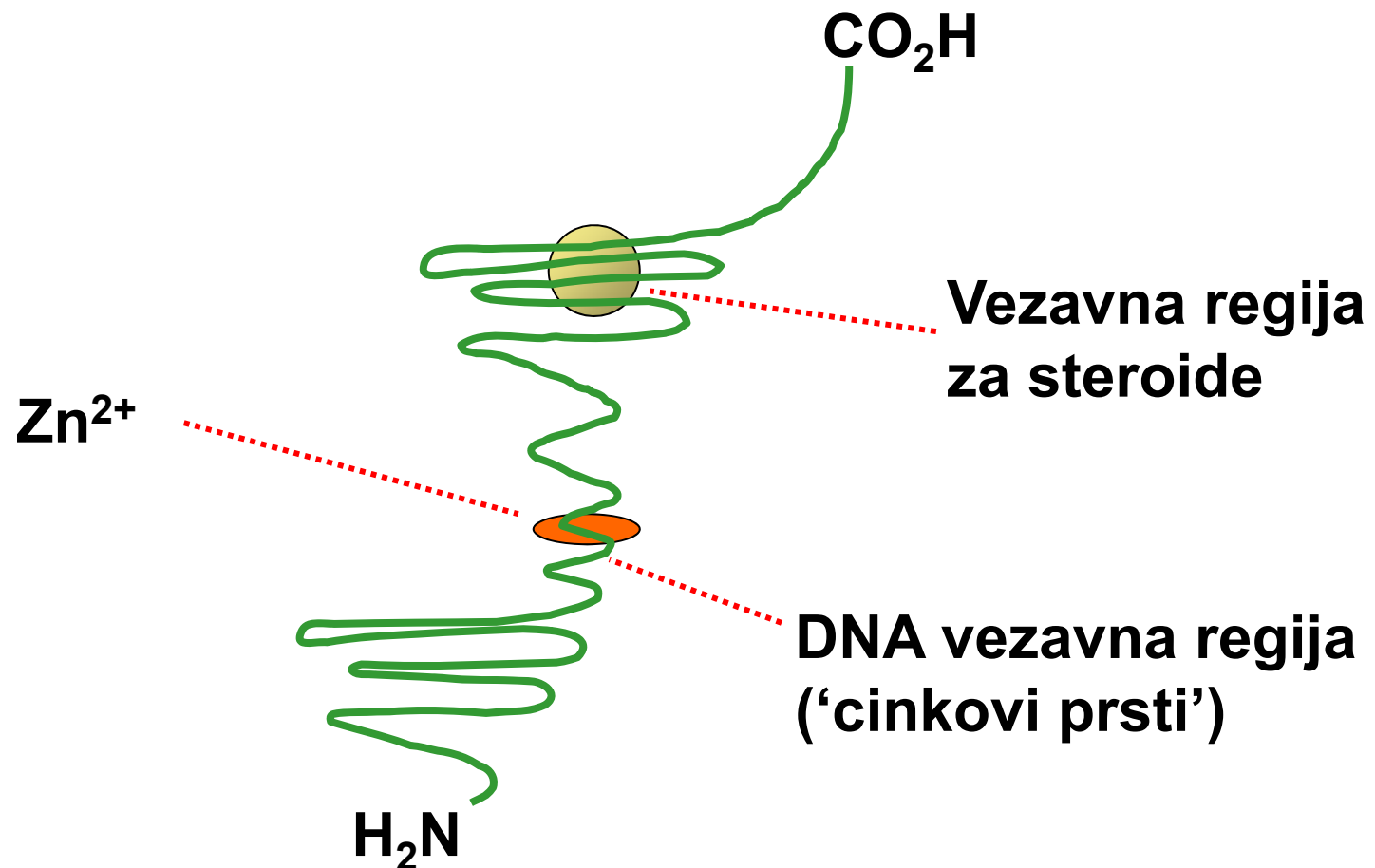


## 2. Razred – metabolni senzorji



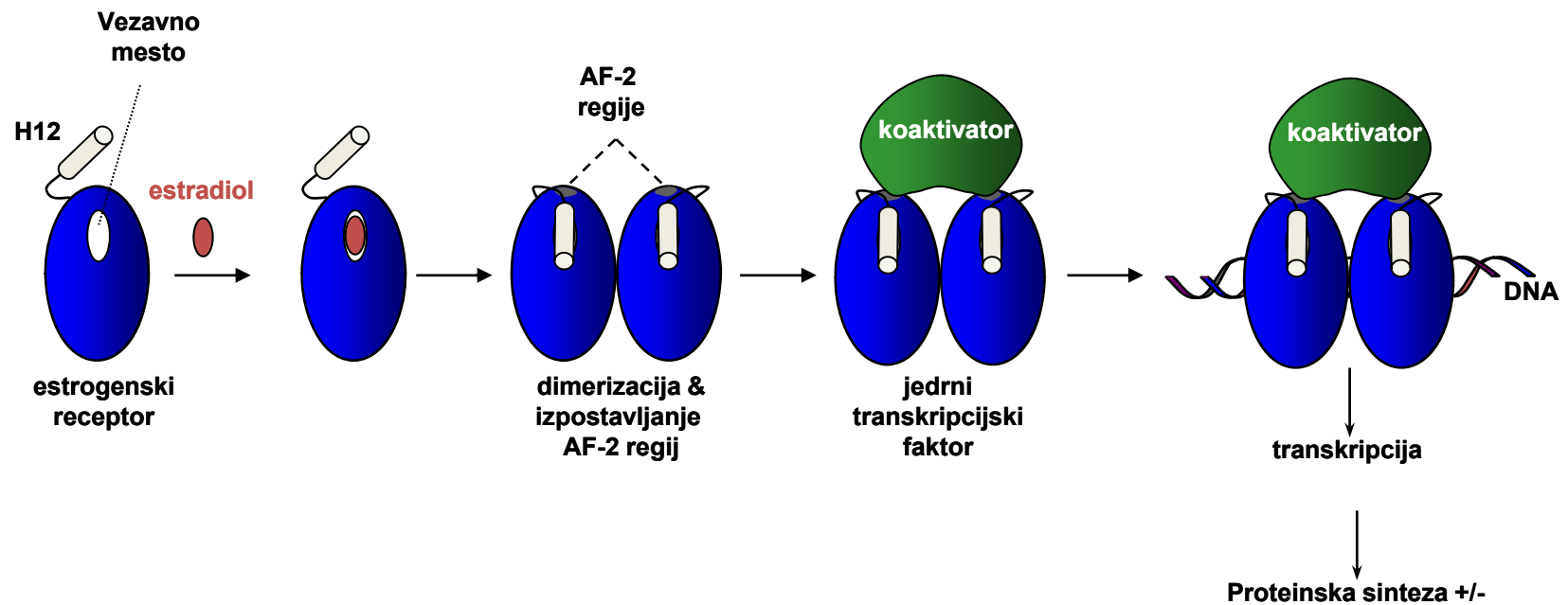
# Receptorji za steroidne hormone

## Struktura



# Receptorji za steroidne hormone

## Primer receptorja za estrogene



# Receptorji za steroidne hormone

<http://www.youtube.com/watch?v=oOj04WsU9ko&feature=related>



- Heidi Kreiger



- Andreas Kreiger





# Dober biznis?

- <http://www.rtv slo.si/crna-kronika/slovenca-osumljena-prodaje-steroidov-cakata-odlocitev-o-izrocitvi-zda/274093>

## Literatura predavanj

G. L. Patrick: An introduction to medicinal chemistry,  
Oxford University press, 4. izdaja:

- 4. in 5. poglavje

Foye's Principles of Medicinal Chemistry, 5. izdaja:

- 4. poglavje