

Proteine de cuplaj și rolul lor în transducția semnalului biologic

Hormonii din clasa hormonilor hidrosolubili (peptidici, catecolamine) nu pătrund în celule, ci interacționează cu receptori membranari. Fixarea hormonului pe receptor activează un sistem transductor care transformă semnalul extern (mesager prim) într-unul intracelular (mesager secund). Mesagerul secund acționează în interiorul celulei inițiind evenimente care duc la activarea sau inactivarea enzimelor, secreție, contracție, sinteză de noi proteine.

Numărul mesagerilor secunzi este mic: AMPc, GMPC, diacil glicerolul, inozitolul fosfați, calciocalmodulină. AMPc e mediator pentru substanțe paracrine (glucagon, catecolamine, parathormonul, TSH, gonadotropine, ACTH).

Acțiunea hormonilor este mediată intern de sisteme transductoare ale mesajelor externe în mesaje intracelulare. Sistemele transductoare sunt receptori membranari citoplasmatici, nucleari. Sistemele transductoare sunt: receptorul membranar, sistemul de cuplare a complexului hormon-receptor cu sistemul efectore care generează mesagerul intracelular, funcția de cuplare o deține o clasă de proteine denumite proteina G, sistem efectore care generează AMPc. Adenilat ciclaza generează AMPc și fosfolipaza C ce dă naștere la diacilglicerol și inozitol – fosfați. AMPc și diacilglicerolul acționează similar activând protein – kinaze, AMPc activează protein-kinaza A, diacil glicerolul activează protein-kinaza C.

Receptorii cuplați cu proteina G (RCPG) constituie cea mai mare familie de receptori celulari de suprafață. RCPG sunt proteine intramembranare monomerice cu 7 domenii transmembranare având fiecare o structură în α -helix, fiind legate prin trei bucle externe și trei bucle interne. Putem clasifica RCPG în 3 grupe (I, II, III) diferența dintre ele o constituie absența analogiei secvențelor lor primare de aminoacizi.

Prima grupă conține marea majoritate a RCPG. Ea se caracterizează prin prezența unei secvențe de tip DRY (aspartil – arginil – tirozil) la bucla I₂. Această grupă este subîmpărțită în 3 subgrupe I_a, I_b, I_c după localizarea posibilă a situsului de legare a agoniștilor: între domeniile transmembranare pentru I_a, mai spre exterior și implicând domeniul N-terminal pentru I_b și la nivelul N-terminal pentru I_c. Receptorii

grupeii II se disting de grupa I prin absența analogiei de secvență și prin faptul că nu are localizat situsul de legătură al agoniștilor. Grupa III are situsul de recunoaștere a ligandului la nivelul domeniului N-terminal.

Proteinele G oligomerice

Celulele animale conțin un număr de proteine G diferite (proteine ce leagă GTP). Fiecare tip de proteină G leagă un anumit tip de receptor cu un anumit efector enzimatic sau canal ionic. Proteinele G pot fi clasificate în mai multe grupe pe baza structurii și funcției acestora. Proteinele G sunt izolate sub formă de heterotrimeri, compuși din subunitățile α , β și γ . Subunitatea α conține situsul de legare pentru GTP și de activitate catalitică responsabilă de hidroliza acestei nucleotide. Această subunitate conține de asemenea situsuri de interacțiune cu complexul $\beta\gamma$, cu receptorul și cu enzima efectoră sau canalul ionic.

O serie de experimente arată că fiecare subunitate (α , β sau γ) a proteinelor G este atașată la fața citoplasmatică a membranei plasmatică. Nici una dintre subunități nu conține secvențe transmembranare. Subunitatea α este atașată la membrană printr-un rest de cisteină acilat, în apropierea capătului *carboxi* al lanțului polipeptidic. Una dintre funcțiile subunităților β și γ , care prezintă atât secvențe hidrofile cât și hidrofobe, ar fi cea de ancorare subunității α în membrana plasmatică.

Subunitățile α ale diverselor proteine G au secvențe și greutatea moleculare puțin diferite. Aceste mici diferențe structurale ale subunităților α par a fi în principal responsabile de proprietățile diferite ale proteinelor G oligomerice (tabelul nr.8). Există totuși un înalt grad de omologie chiar între subunitățile α (α_s , α_i , α_j) și ras. Regiunea subunității α care pare a interacționa cu lanțul polipeptidic al receptorului este o regiune elicoidală de tip α amfipatică, localizată la nivelul capătului *carboxi* al subunității α . Un situs probabil a interacționa cu complexul $\beta\gamma$ este o secvență de aminoacizi de la capătul *amino*.

Familia	Unii membri ai familiei	Subunitățile α	Funcții
I	Gs	α_s	Activează adenilat ciclaza; Activează canalele de Ca^{2+}
II	Golf	α_{olf}	Activează adenilat ciclaza în neuronii olfactivi

	Gi	α_i	Inhibă adenilat ciclaza; Activează canalele de K^+ ;
	Go	α_o	Activează canalele de K^+ ; Inactivează canalele de Ca^{2+} ; Activează fosfolipaza C- β
	Gt	α_t	Activează fosfodiesteraza GMPc în bastonașe
III	Gq	α_q	Activează fosfolipaza C- β

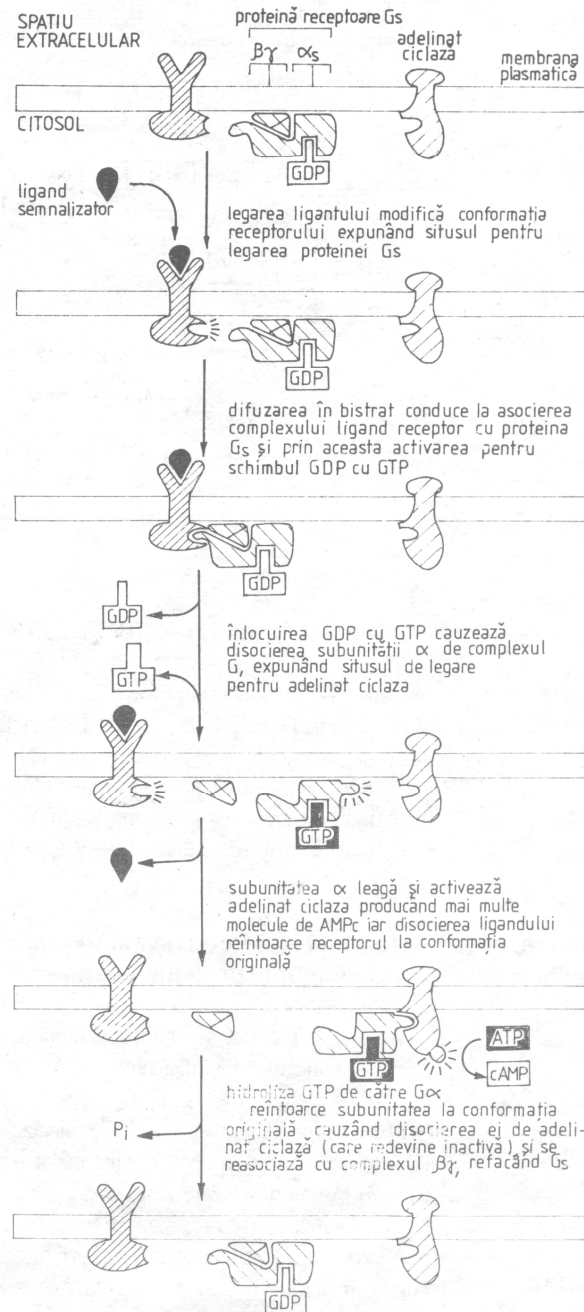
*Familiile sunt determinate de înrudirea secvenței aminoacidice a subunităților α .

La mamifere au fost descrise 21 de subunități α și cel puțin 4 subunități β și 7 subunități γ .

Proteinele G sunt oligomerice și monomerice. Proteina G are rol și în amplificarea semnalului biologic.

În modelul *clasic, cu trei parteneri*, evenimentele inițiale ale activării proteinelor G sunt reprezentate de formarea complexului agonist-receptor și interacțiunea acestui complex cu oligomerul inactiv $\alpha^{GDP}\beta\gamma$. Această interacțiune induce înlocuirea GDP cu GTP și disocierea oligomerului $\alpha\beta\gamma$ în α^{GDP} și complexul $\beta\gamma$. Etapa limitantă a procesului este disocierea GDP. În timpul acestei secvențe de procese subunitatea α suferă o transformare conformațională la o formă α' care interacționează cu enzima efectoră și induce o modificare a conformației și activității acesteia. Conformația activă a subunității α este convertită la conformația inactivă prin hidroliza GTP. Această reacție este catalizată de subunitatea α însăși și este urmată de combinarea α^{GDP} cu complexul $\beta\gamma$ pentru a re-forma $\alpha^{GDP}\beta\gamma$. Fiecare moleculă α^{GTP} se găsește probabil în conformația activă timp de câteva secunde înainte ca GTP să fie hidrolizat. Complexul agonisi- receptor ar acționa ca și catalizator în timpul activării proteinelor G, astfel încât la nivel molecular, un complex ar interacționa cu mai mulți oligomeri $\alpha\beta\gamma$ pe o durată de câteva secunde. În membranele plasmatică ale unor tipuri celulare numărul moleculelor subunității α depășesc cu mult numărul moleculelor complexului $\beta\gamma$. În aceste sisteme, un complex $\beta\gamma$ ar putea cataliza legarea ATP la mai multe subunități α . În plus, fiecare α^{GTP} ar putea interacționa cu mai mulți efectori pe durata existenței sale.

Unele date experimentale arată că subunitățile α^{GTP} sunt eliberate din membrana plasmatică în spațiul citoplasmatic ca urmare a cuplării unui agonist la receptorul său. Astfel, în plus față de activarea enzimelor efectoare atașate suprafeței citoplasmatică membranare, α^{GTP} eliberate de la nivelul membranei plasmatică ar difuza în spațiul citoplasmatic și ar interacționa cu alte enzime efectoare localizate în acest spațiu. Totuși, dovezile în acest sens nu sunt foarte puternice.



Un model actual aratand modul in care proteinele receptoare pot fi cuplate functional la AC prin intermediul proteinei Gs.

Interactiunea α^{GTP} cu proteinele efectoare a fost studiată cel mai mult în două sisteme: activarea fosfodiesterazei dependente de GMP_C de către lumină și reglarea activității AC de către hormoni și neurotransmițători. Absorbția luminii modifică conformația rodopsinei, astfel încât o parte a domeniului citoplasmatic al

acestei molecule interacționează cu transducina. Această interacțiune catalizează la rândul ei activarea subunității α a transducinei.

Conformația activată a subunității α , α^{GTP} , activează fosfodi-esteraza dependentă de GMP_C .

În cele mai multe celule, AC se poate cupla cu receptori diferiți, unii crescând formarea AMP_C , alții scăzând formarea AMP_C . Această cuplare este realizată prin intermediul proteinelor G_s sau G_i . Inhibarea de către un agonist este aproape întotdeauna observată în prezența unui al doilea agonist care stimulează AC. În cele mai multe membrane, cantitatea de G_i , este mult mai mare decât cea a G_s . Specia moleculară care interacționează cu AC este α_s^{GTP} . Etapa inițială a mecanismului prin care agonistii inhibă AC este disocierea $\alpha_i^{GTP}\beta_i\gamma_i$. Aceasta eliberează subunitatea α în conformația activată, α_i^{GTP} , și complexul $\beta_i\gamma_i$. Inhibiția AC se produce probabil prin două mecanisme.

Complexele $\beta_i\gamma_i$ eliberate din $\alpha_i\beta_i\gamma_i$ s-ar putea cupla cu α_s^{GTP} și ar inhiba activarea enzimei prin intermediul acestei subunități. AC ar putea fi inhibată de asemenea direct de către α_i^{GTP} .

Modelul clasic, cu trei parteneri, pentru funcționarea proteinelor G, a fost recent completat cu un al patrulea partener. Acesta este un membru al unei noi familii de proteine denumite RGS (*reglator al semnalizării proteinelor G*). Prima proteină descrisă a acestei noi familii a fost GAIP (proteina ce interacționează cu $G\alpha$), fiind asociată cu $G_{i3}\alpha$. Proteinele RGS includ actualmente cel puțin 25 membri (la mamifere), toate prezentând un domeniu central de 130 resturi foarte bine conservat (domeniul RGS), responsabil de interacțiunea cu subunitățile $G\alpha$. Proteinele RGS se comportă ca reglatori negativi ai semnalizării dependente de proteinele G, accelerând activitatea GTP-azică a subunităților $G\alpha$. Rolul lor este astfel analog celui al proteinelor GAP (proteine activatoare ale GTP-azei), ce intervin în ciclul de inactivare al proteinelor G mici (monomeric), de tip ras. Proteinele RGS accelerează de 100 până la 1000 ori hidroliza GTP de pe subunitățile $G\alpha$ și prezintă o specificitate de acțiune față de acestea. De exemplu, RGS cel mai bine caracterizate (RGS 1 și RGS4) funcționează ca activatori ai activității GTP-azice a subunităților G_0 , G_z , G , și G_q , dar nu au nici o acțiune asupra subunităților G_s și G_{i2} .

agonist – proteine – proteine
reglatoare receptoare G_s sau G_i



Adenilat ciclaza, AMP_C

5

agonist – proteine – proteine
reglatoare receptoare G_q



fosfolipaza C, inozitol trifosfat,
diaciglicerol
 Ca^{2+} /proteine specifice

proteinkinaza C,
proteinkinaza Ca/protein-dependentă

Mesagerii primi, mesagerii secunzi ai informației celulare și fenomenele metabolice responsabile de răspunsul celular (enzimele acționate primar – enzime efectoare – sunt subliniate)

Proteinele G se clasifică: G_s (responsabile de stimularea adenilat ciclazei), G_i (care inhibă adenilat ciclaza, proteinele G_q (care stimulează fosfolipaza C).

Principalele proteine G cuplate cu receptori membranari

Proteinle G	Receptorii care le cuplează	Enzimele și canalele membranare acționate
G_s	r. adrenergici beta r. dopaminergici D_1, D_5 r. serotoninergici 5-HT ₄ r. Histaminergici H_1	$\uparrow Ac \rightarrow \uparrow AMPc,$ \uparrow curent Ca^{2+}
G_i	r. muscarinici M_1 r. adrenergici α_2 r. dopaminergici D_2, D_3, D_4 r. serotoninergici 5-HT ₁ r. opioizi	$\downarrow Ac \rightarrow \downarrow AMPc,$ \uparrow curent K^+
G_q	r. muscarinici M_1 r. adrenergici α_1 r. dopaminergici D_1 r. serotoninergici 5-HT ₂ r. histaminergici H_2	$\uparrow PLC \rightarrow \uparrow IP_3, DAG \rightarrow \uparrow Ca^{2+}$ ($\uparrow PLD, \uparrow PLA_2$)
G_o	r. muscarinici M_1, M_2, M_3 r. adrenergici α_2 r. dopaminergici D_2, D_3, D_4 r. opioizi	\uparrow Curent Ca^{2+}

Substanțe cu efect terapeutic care acționează asupra proteinei G sunt: oxotremarina, pirenzepina, metocramina, hexahidroxidifenidol, fenilefrină, metoxamină, prozolin, clonidină, oximetazolină, iohimbina, dobutamină, metoprolol, terbutalina, spiperonă, haloperidol, risperidină, domperidonă, clozapină, apomorfină, pirebidil, bromocriptină.

BIBLIOGRAFIE

1. **BENGA GH.** - *“Biologie celulară și moleculară”*, Cluj, Ed. Dacia, 1985;
2. **CRUCE MIHAI** – *“Biologie moleculară a semnalizării celulare”*, Craiova, Ed. Aius, 1998;
3. **STROESCU VALENTIN** – *“Bazele farmacologice ale practicii medicale”*, București, Ed. Medicală, 1998;
4. **COSTULEANU MARCEL** – *“Comunicarea intracelulară. Fundamente fiziopatologice”* Ed. Cantes, Iași, 2002;
5. **POPESCU AURORA, ELENA CRISTEA –POPA, DINU VEONICA, TRUȚIA E.** - *“Tratat de biochimie medicală, vol I”*, Ed. Medicală, București, 1991.