

Recettori accoppiati a proteine G

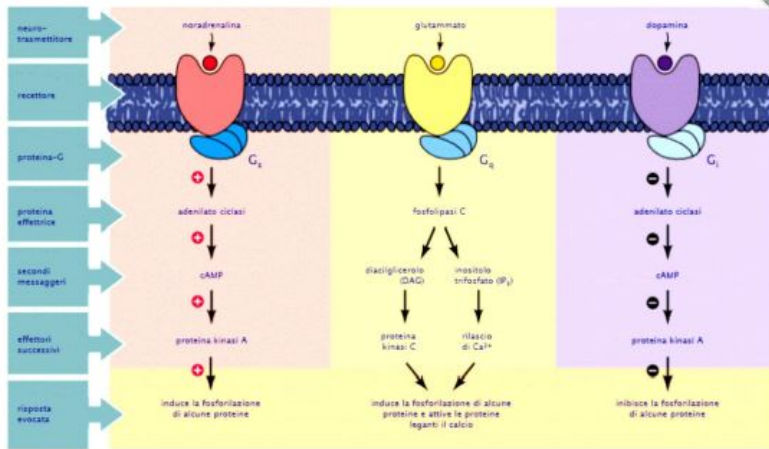
Il recettore viene rappresentato con r e poi c'è quel cerchietto nero che rappresenta il neurotrasmettitore, per quanto riguarda il mediatore abbiamo detto che in genere si tratta di mediatori idrofili perché si tratta di recettori di membrana che quindi raccolgono quello che è il segnale del primo messaggero che ha una struttura chimica con caratteristiche tali che non riesce questo mediatore ad attraversare la membrana e quindi ha necessità di trasferire il segnale alla cellula attraverso questi recettori. Questi recettori sono costituiti da un unico filamento peptidico che attraversa varie volte la membrana e poi ha dei nuclei, 3 nuclei extracellulari e 3 cellulari, il terzo nucleo insieme al tratto carbossi-terminale è intracellulare ed ha interazione con la proteina G. Le proteine G sono strutture eterotrimeriche e questo significa tre proteine di natura diversa che vengono indicate con la lettere alpha, beta o gamma e poi esistono 6 subunità beta e 10 subunità gamma che se mettiamo insieme in tutte le combinazioni possibili ci rendiamo conto della numerosità di proteine G e quindi della numerosità dei recettori accoppiati a proteine G. La proteina G prima che possa arrivare il segnale del primo messaggero quindi del mediatore è associata al terzo gruppo e al tratto carbossi-terminale quando arriva il segnale da parte del mediatore quindi la proteina G subisce una modifica conformazionale, quando è associata la proteina G al recettore la subunità alpha è legata ad una molecola GDP, nel momento in cui arriva il segnale del mediatore in seguito a questa modifica conformazionale la proteina alpha perde affinità per la molecola del GDP e si dissocia dal GDP e si associa ad una molecola GTP ossia guanosintrifosfato. Nel momento in cui si lega al GTP subisce una modifica conformazionale per cui perde affinità per la struttura beta-gamma e si dissocia. Legata al GTP la subunità alpha acquisisce quella modifica conformazionale tale per cui ha affinità per un effettore, chi sono gli effettori? Gli effettori sono dei sistemi enzimatici ma possono anche essere dei canali ionici in genere canali ionici del calcio e del potassio altrimenti si tratta di sistemi enzimatici tra cui essenzialmente l'adenilatociclastasi, la fosfolipasi e la guanilatociclastasi. Nel momento in cui la subunità alpha legata al GTP si lega all'effettore, l'effettore viene attivato ed essendo un enzima svolge la sua funzione, nel caso dell'adenilatociclastasi si forma o il GMPciclico o AMPciclico ossia guanosinmonofosfato ciclico o adenosinmonofosfato ciclico, questi ultimi due rappresentano il secondo messaggero. La subunità alpha è caratterizzata anche da un'attività GTPasica intrinseca cioè è in grado di idrolizzare i legami fosfato, alla fine l'adenosintrifosfato o la guanosintrifosfato si trasformano in ADP o GDP, ma noi abbiamo detto che la subunità alfa ha affinità per il GTP quindi in questo momento si associa di nuovo al GTP e nel momento in cui si associa al GTP la subunità alpha acquisisce di nuovo una conformazione di alta affinità per la struttura dimerica beta-gamma, quindi si riassocia e ritorna al suo stato iniziale.

Tipi di proteine G

Ci sono 4 tipi di proteine G ossia la proteina G di tipo stimolatorio, inibitorio, proteine G che attivano le fosfolipasi e proteine G che attivano il GMPciclico fosfodiesterasi. Nel caso della noradrenalina vediamo che si tratta di una proteina G di tipo stimolatorio quindi favorisce l'attivazione dell'adenilatociclastasi che porta alla formazione dell'AMPciclico e va a inibire le fosfatasi. Nel caso del glutammato abbiamo una proteina G che attiva le fosfolipasi e questo significa che il secondo messaggero non è più l'AMPciclico ma è l'inositolo trifosfato perché le fosfolipasi sono responsabili del metabolismo dei fosfolipidi di membrana portando alla formazione del diacilglicerolo e dell'inositolo trifosfato, nello specifico qui il secondo messaggero è l'inositolo trifosfato. Per quanto riguarda la dopamina abbiamo una proteina G di tipo inibitorio quindi significa che viene ridotta la produzione di AMPciclico. Qui viene riportato lo schema con cui l'adenilatociclastasi porta alla formazione dell'AMPciclico, l'adenilatociclastasi è una proteina che attraversa la membrana quindi è una proteina di membrana ma ha attività enzimatica e deve essere attivata. Abbiamo detto che ci sono proteine G stimolatorie e proteine G inibitorie per cui l'adenilatociclastasi può essere stimolata quindi attivata affinché si possa produrre AMPciclico oppure può essere inibita per cui può essere

ridotta la produzione dell'AMPciclico. Nel caso in cui si tratta di una proteina G stimolatoria una volta che

I diversi tipi di proteine G: G_s , G_q , G_i



Esistono quattro classi di proteine G.

G_s: attivano l'adenilato ciclasi, quindi la sintesi dell'AMP ciclico (cAMP)

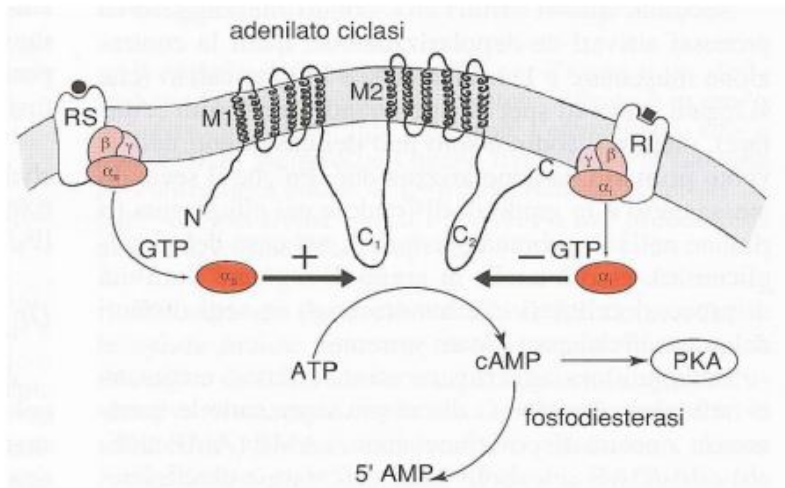
G_i: inibiscono l'adenilato ciclasi

G_q: attivano le fosfolipasi

G_t: attiva la cGMP Fosfodiesterasi

hanno la funzione di andare a fosforilare il substrato e noi già abbiamo detto che nel momento in cui il substrato viene fosforilato abbiamo l'attivazione del substrato e da lì scaturisce una risposta cellulare che per noi nel caso del farmaco sarebbe la risposta terapeutica desiderata perché se noi andiamo a mediare quella che è la funzione di un mediatore che come abbiamo visto prima può attivare una proteina che può essere un sistema enzimatico che può favorire la formazione dell'AMPciclico, dell'inositolo trifosfato oppure può andare ad inibire l'adenilato ciclasi quindi avremo una certa risposta a seconda se andiamo a bloccare o inibire. Se noi ipotizzassimo una volta che si è formato l'AMPciclico questo resterebbe duraturo all'interno della cellula quindi ci troveremo con una risposta ripetuta, ma in realtà l'AMPciclico una volta che si è formato con tutti i processi che avvengono all'interno della cellula poi ci sono delle attività biochimiche che ci consentono di andare a spegnere l'AMPciclico, l'AMPciclico in questo caso viene spento da una fosfodiesterasi che appartiene alla famiglia delle idrolasi quindi va a scindere un legame fosfato e passiamo dall'AMPciclico all'AMP5primo cioè adenosinmonofosfato in posizione cinque di questo sistema. A noi interessa la struttura chimica perché conoscendo la struttura chimica dei primi messaggeri come neurotrasmettitori, ormoni possiamo andare a farmacomodulare quella struttura e otteniamo dei farmaci. Noi possiamo intervenire, nel caso dei recettori bisogna generare una molecola che sia un equivalente del neurotrasmettitore endogeno, in questo caso abbiamo visto che possiamo intervenire sul mediatore endogeno primo messaggero, adesso si è formato il secondo messaggero AMPciclico possiamo verificare se possiamo fare le farmacomodulazioni perché noi possiamo anche decidere non di attivare il recettore con una molecola strutturalmente correlata al primo messaggero ma in questo caso potremmo anche andare a mimare l'effetto del secondo messaggero. Qui abbiamo il nostro adenosintrifosfato, l'adenilato ciclasi trasforma l'adenosintrifosfato in AMPciclico, qui c'è un legame estereo tra il fosforo e l'ossidrile quindi è andata via una molecola di acqua e dopo di che le fosfodiesterasi sono in grado di scindere questo legame, sono delle idrolasi e ci portano all'AMP e così si spegne il segnale del secondo messaggero e quindi noi possiamo intervenire anche a tale livello per garantirci una risposta. In questo caso la molecola che caratteristiche chimico-fisiche dovrebbe avere se vogliamo mimare l'effetto dell'AMPciclico? L'AMPciclico sta all'interno della cellula quindi deve avere delle caratteristiche in modo da poter passare attraverso la membrana cellulare, il vero messaggero agisce all'esterno perché è idrofilo.

alla subunità alpha si è legato il GTP e questo fa in modo che la subunità alpha abbia alta affinità per l'adenilato ciclasi, si lega all'adenilato ciclasi ed essendo questo un enzima trasforma adenosintrifosfato in AMPciclico, nel momento in cui l'AMPciclico è stato prodotto inizia un'ulteriore cascata di eventi attraverso l'attivazione di una proteina chinasi. Le proteine chinasi



Sistema dell'adenilato ciclasti.

Sono rappresentati la struttura dell'enzima e i principali meccanismi della sua regolazione da parte di recettori stimolatori (RS) e inibitori (RI). **Agonisti o antagonisti di molti recettori stimolatori, quali i recettori adrenergici β ed inibitori, come i recettori adrenergici α_2 e i dopaminergici D_2 sono estensivamente usati come farmaci.** Le subunità α delle proteine G sono rappresentate nel citoplasma solo per chiarezza del disegno e la loro posizione rispetto alla molecola dell'adenilato ciclasti è arbitraria. Stimolazione e inibizione sono indicate con + e - e sono indotte da interazioni con GTP- α_s o GTP- α_i , rispettivamente. La stimolazione dell'adenilato ciclasti porta ad aumento della concentrazione intracellulare di cAMP e a conseguente attivazione della PKA ed inibizione delle fosfatasi. Il secondo messaggero cAMP è infine idrolizzato dalle fosfodiesterasi.

Proteine chinasi

Abbiamo detto che una volta che si è formato il secondo messaggero dobbiamo andare ad attivare un effettore, l'effettore in questo caso è la proteina chinasi A PKA dove k sta per proteina chinasi e la lettera

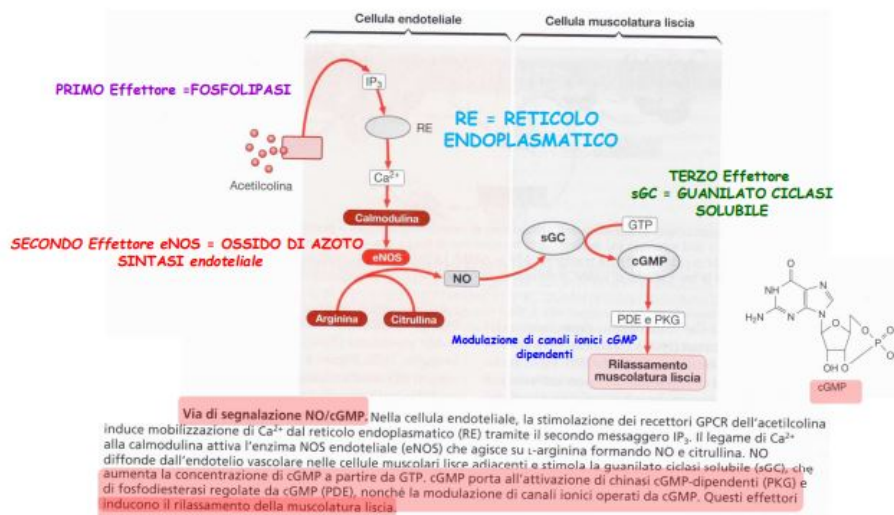


successiva indica la tipologia, queste proteine chinasi sono delle strutture eterotrimeriche cioè sono costituite da due proteine e sono associate nella forma inattiva della proteina chinasi tra loro cioè hanno una conformazione tale da poter essere associate. Queste due unità proteiche che costituiscono la struttura eterotrimerica vengono identificate come subunità catalitiche e subunità regolatorie, quando stanno associate significa che la subunità regolatoria blocca l'attività catalitica della proteina chinasi, quindi la proteina chinasi

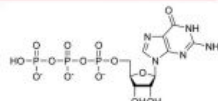
in questo stato ossia associata con la subunità regolatoria non è in grado di fosforilare il substrato. Nel momento in cui viene prodotto in seguito al segnale del primo messaggero l'AMPciclico, l'AMPciclico o il GMPciclico a seconda delle varie proteine G che vengono considerate si associa alla subunità regolatoria, la subunità regolatoria subisce una modifica conformazionale quindi non ha più affinità per la subunità

catalitica e la struttura eterotrimerica si dissocia, nel momento in cui la struttura eterotrimerica si dissocia noi abbiamo che la subunità catalitica va a fosforilare il substrato e quindi quel substrato è responsabile di attivare un processo che garantisce una risposta da parte delle cellule. Attraverso questi processi chimici possiamo avere reazioni metaboliche, secrezione, rilassamento delle cellule muscolari, proliferazione muscolare e contrazione.

Nel momento in cui il substrato è stato fosforilato la risposta del substrato non può essere duratura nel tempo, anche qui c'è uno spegnimento, lo spegnimento ci viene garantito da un altro sistema enzimatico che sono le fosfatasi, ancora una volta si tratta di idrolasi cioè vanno a idrolizzare il legame estereo che è stato generato in seguito alla fosforilazione della subunità catalitica del substrato, in questo modo si ha tutta questa cascata di eventi che poi è responsabile della risposta lenta che in genere è dovuta ad una modifica biochimica all'interno delle cellule, nel caso dei recettori canali in quel caso noi abbiamo una modifica di tipo biofisico. A volte il segnale proprio per dimostrare quanto la risposta sia lenta inizia all'interno di una cellula e poi si trasmette attraverso un secondo messaggero o un terzo messaggero ad un'altra cellula. A livello della muscolatura non è immediato cioè non è sulla fibra muscolare liscia ma l'effetto inizia per rilassamento della muscolatura liscia a livello della cellula endoteliale, arriva l'acetilcolina (recettori muscarinici), l'acetilcolina a seconda delle sue conformazioni o cisoide o transoide va ad interagire perché l'acetilcolina ha semplici legami quindi è flessibile e può assumere più conformazioni e le due conformazioni più attive sono state identificate e sono quelle che interagiscono con il recettore muscarinico e nicotinico sono quella cisoide o transoide, qui stiamo parlando del recettore muscarinico quindi è un recettore accoppiato a proteina G. L'acetilcolina si lega al suo recettore e attiva un effettore, in questo caso è la fosfolipasi, quindi, viene attivato il metabolismo dei fosfolipidi e si ha la formazione dell'inositolo trifosfato che rappresenta il nostro secondo messaggero perché il primo era l'acetilcolina. L'inositolo trifosfato va a mediare quello che è il rilascio di calcio dal reticolo endoplasmatico, siamo all'interno della cellula, si ha liberazione di calcio dal reticolo endoplasmatico il quale calcio va a complessare la calmodulina, il complesso calcio-calmodulina va ad attivare un secondo effettore perché il primo effettore era la fosfolipasi, il secondo effettore è l'ossido di



Il guanosintrifosfato o GTP è un ribonucleotide trifosfato



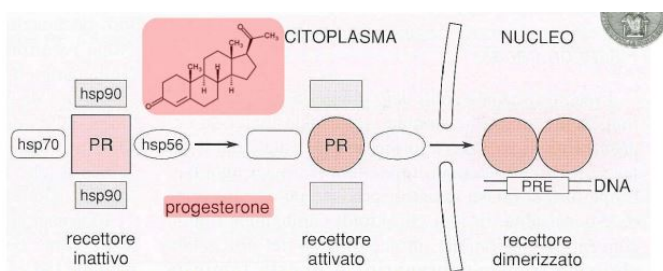
carbonio e idrogeno solforato, quindi, anche l'ossido di azoto che è un gas è un mediatore cellulare. L'ossido di azoto passa dal prodotto della cellula endoteliale ed entra nella cellula muscolare liscia, qui, va ad attivare un terzo effettore che è la guanilato ciclastasi solubile che trasforma il GTP in GMPciclico, nel caso dell'AMPciclico era l'adenosintrifosfato qui invece è la guanosintrifosfato, questo è un altro messaggero della cellula muscolare liscia. Come l'AMPciclico andava ad attivare una fosfodiesterasi A il GMPciclico attiva la fosfodiesterasi E e la proteina chinasi G che poi sono quelle responsabili del rilassamento della

azoto sintasi endoteliale (ENOS), quindi, è una sintasi della cellula endoteliale. Questo secondo effettore è responsabile della conversione dell'arginina in citochina con liberazione di ossido di azoto, l'ossido di azoto è un mediatore gassoso, ad oggi ci sono tre mediatori gassosi esistenti ossia ossido di azoto, ossido di

muscolatura liscia. Ma tutto inizia in un'altra cellula, il segnale mediato dall'acetilcolina che fa rilassare la muscolatura liscia non è diretto sulla fibra muscolare liscia ma sull'endotelio, sulla cellula endoteliale e poi mediante questo mediatore gassoso che è l'ossido di azoto arriviamo alla cellula muscolare liscia. Noi possiamo andare ad agire sui diversi livelli, non è detto che dobbiamo soltanto modificare la struttura dell'acetilcolina per ottenere un agonista o un antagonista sul recettore muscarinico ma possiamo anche andare ad agire a questi altri livelli del processo del segnale dell'acetilcolina sul recettore muscarinico. Qui viene riportata la sintesi dell'ossido di azoto partendo dall'arginina per cui noi potremmo andare a bloccare uno qualsiasi di questi processi per impedire la formazione del mediatore ossido di azoto e quindi ottenere un effetto terapeutico.

Recettori citoplasmatici

I recettori citoplasmatici sono quelli che rispondono al segnale di un mediatore endogeno che ha caratteristiche chimico-fisiche tali da poter entrare all'interno della cellula, nella norma si tratta di ormoni tiroidei, degli estrogeni e degli androgeni che hanno questa capacità di passare attraverso la membrana cellulare, entrare all'interno della cellula e dare una nuova risposta biologica.



Schema del meccanismo di trasduzione del segnale dei recettori per gli **ormoni steroidei**. In questo esempio il recettore per il progesterone (PR) è associato con tre **heat-shock proteins (HSP)** ed è inattivo. Quando il progesterone si lega al recettore, esso cambia conformazione, si dissocia dalle **HSP**, dimerizza ed è quindi trasportato nel nucleo. Qui interagisce con **sequenze specifiche di DNA**, dette **progesteron responding element (PRE)** presenti nel promotore di geni sensibili al progesterone. **In tal modo viene attivata la trascrizione del gene.**

Qui viene riportato l'esempio per il progesterone, a livello citosolico c'è il recettore per quanto riguarda questi ormoni, nello specifico qui viene riportato l'esempio del progesterone, il recettore in assenza del mediatore quindi del primo messaggero che in questo caso è l'ormone e nello specifico il progesterone si trova in una forma inattiva, questa forma inattiva è garantita dal legame

con quattro proteine di cui due uguali quindi in totale sono 3 diverse proteine che formano un complesso **hipshots proteins** cioè sono delle proteine inibitorie quindi formano questo complesso con il recettore e generano una modifica conformazionale nel recettore in modo che esso non è più attivo. Nel momento in cui arriva il primo messaggero ossia il progesterone questo si lega al recettore e nel momento in cui si lega al recettore, il recettore subisce a sua volta una modifica conformazionale che è quella bioattiva e si dissocia dalle **hipshots proteins**, in questo modo vediamo il cambio conformazionale è rappresentato dal quadrato che è la forma inattiva al cerchio che è il recettore del progesterone che è la forma attiva, quindi, si è dissociato dalle proteine inibitorie e abbiamo il nostro recettore. Il recettore a questo punto dimerizza c'è un processo di sintesi da parte della cellula cioè c'è una dimerizzazione, si formano due recettori, con questa forma bioattiva il recettore è capace di entrare all'interno della membrana nucleare quindi entra nel nucleo. Il recettore nella sua forma attiva presenta sia un sito di legame per il mediatore che nello specifico è un ormone il progesterone, ma potrebbe dirsi di tutti gli altri estrogeni ed androgeni ed ormoni tiroidei la stessa cosa, nella sua forma attiva ha un sito di legame per il DNA per cui una volta che il recettore dimerizzato passa attraverso la membrana nucleare, arriva nel nucleo e si va a legare a quelli che



I recettori citoplasmatici hanno un ruolo molto importante nel regolare la **trascrizione genica**. I ligandi per questo tipo di recettori attraversano la membrana cellulare per poterli raggiungere (es., ormoni steroidei, di natura idrofobica). Il **recettore degli steroidi** contiene **un sito di legame per l'ormone e uno per il legame con il DNA**. In seguito al legame con lo steroide il complesso LR dimerizza, entra nel nucleo attraversando la membrana nucleare e lega un sito accettore sul DNA, attivando la trascrizione in mRNA e la **successiva sintesi proteica**.