

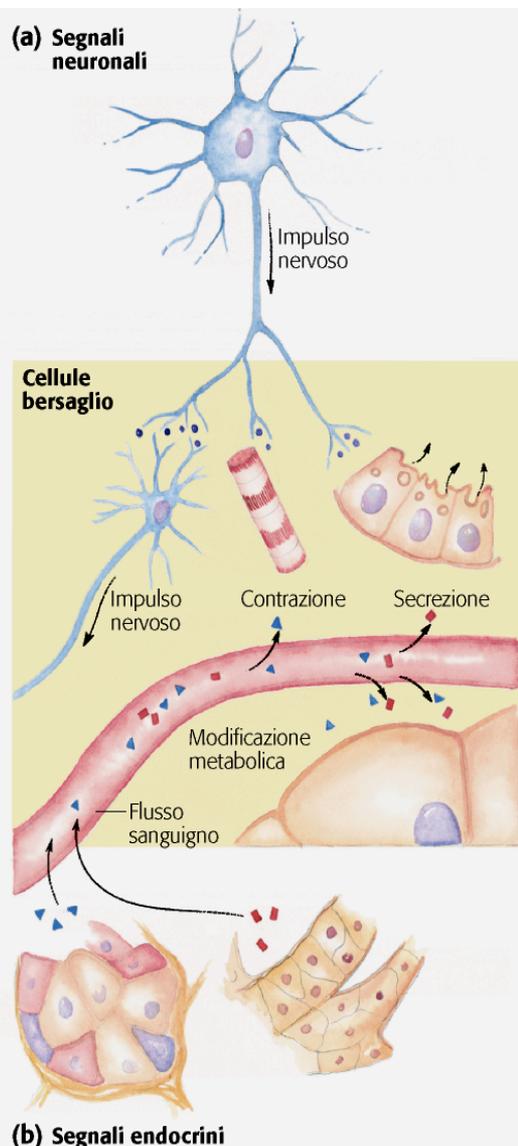
BIOSEGNALAZIONE

La ricezione e
la trasmissione delle
informazioni extracellulari
Parte I



La coordinazione delle attività metaboliche nei diversi tessuti e organi dei mammiferi avviene mediante il sistema neuroendocrino

Le singole cellule di un tessuto specializzato percepiscono le modificazioni nell'ambiente che circonda l'organismo e rispondono secernendo un messaggero chimico extracellulare che passa a una cellula bersaglio dove si lega a un recettore specifico e innesca una modificazione dell'attività della cellula bersaglio

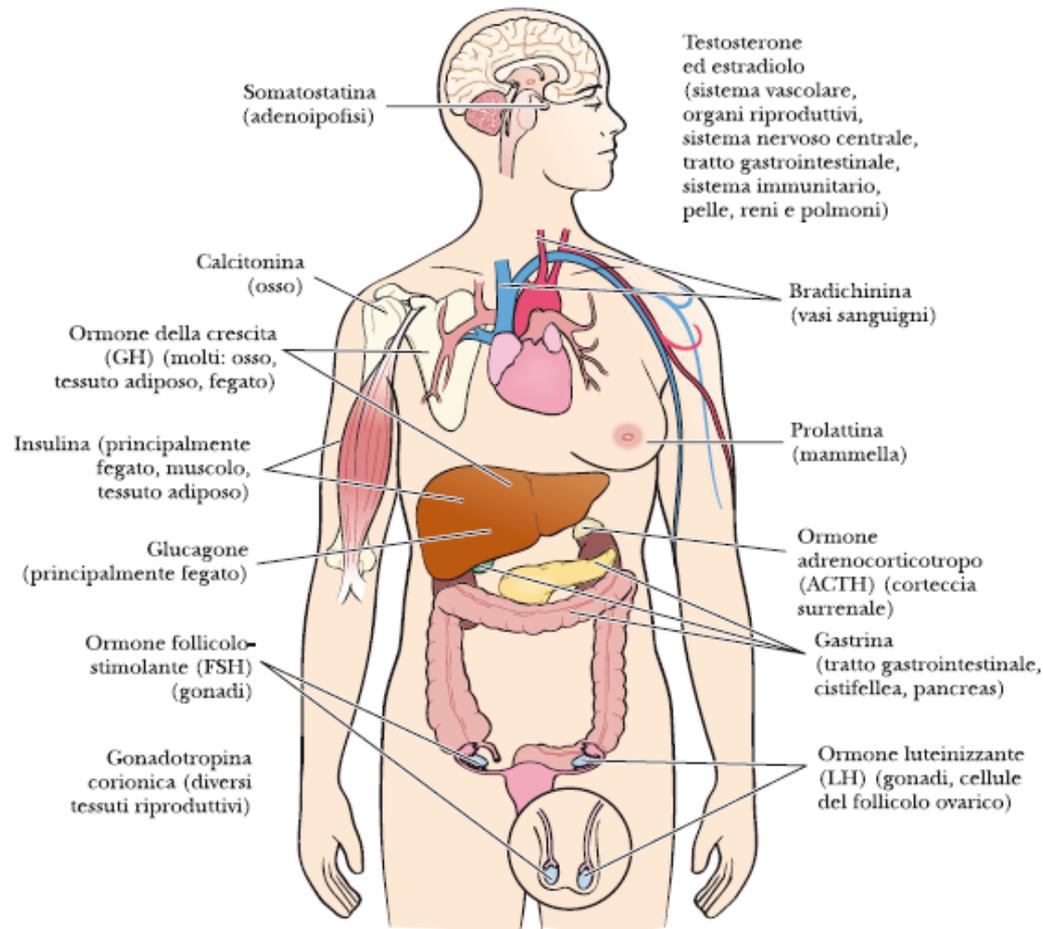


(a) Trasmissione di segnali neuronali: i segnali elettrici (impulsi nervosi) si originano nel corpo cellulare e sono inviati fino alla terminazione di un assone, dove il neurotrasmettitore viene rilasciato e diffonde verso la cellula bersaglio (un altro neurone, un miocita, una cellula secretoria)

Neurotrasmettitori ed ormoni interagiscono con recettori specifici sulla superficie o dentro le cellule bersaglio, inducendo una risposta metabolica

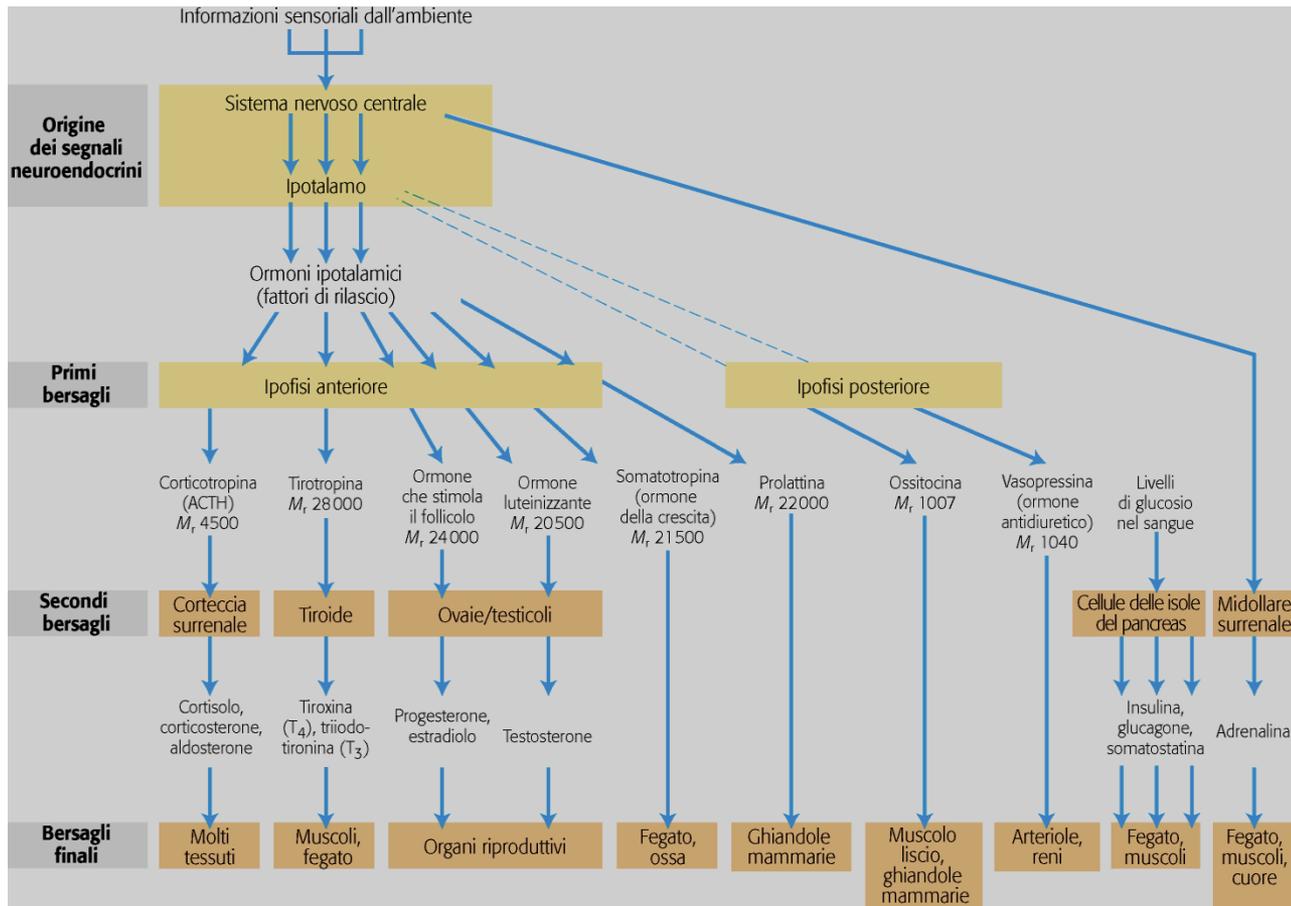
(b) Trasmissione di segnali endocrini: gli ormoni sono secreti da cellule specializzate nel flusso sanguigno che li trasporta ai tessuti bersaglio

Gli ormoni circolano nel sangue in basse concentrazioni (1nM o meno) e si legano con elevata affinità ai loro recettori proteici

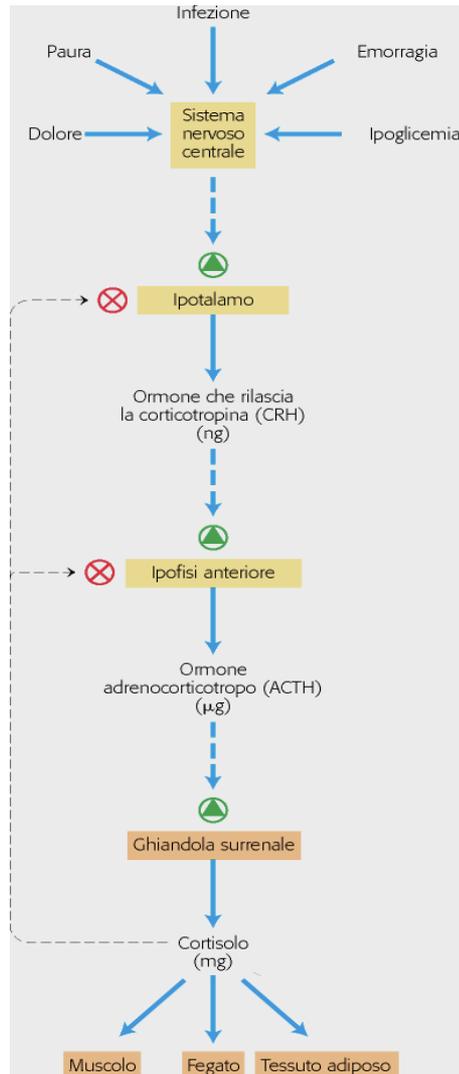


Gli ormoni funzionano in un complesso gerarchico

L'ipotalamo, centro di coordinazione del sistema endocrino, è posto in cima alla piramide gerarchica composta da molti tessuti che producono anch'essi ormoni.



Le cascate ormonali generano una grande amplificazione del segnale iniziale e consentono una fine regolazione della secrezione dell'ormone finale



Cascata di rilascio di ormoni in seguito all'arrivo di un segnale dal sistema nervoso centrale all'ipotalamo

Uno stimolo prodotto dal livello superiore viene ricevuto, amplificato e produce il rilascio dell'ormone successivo nella cascata

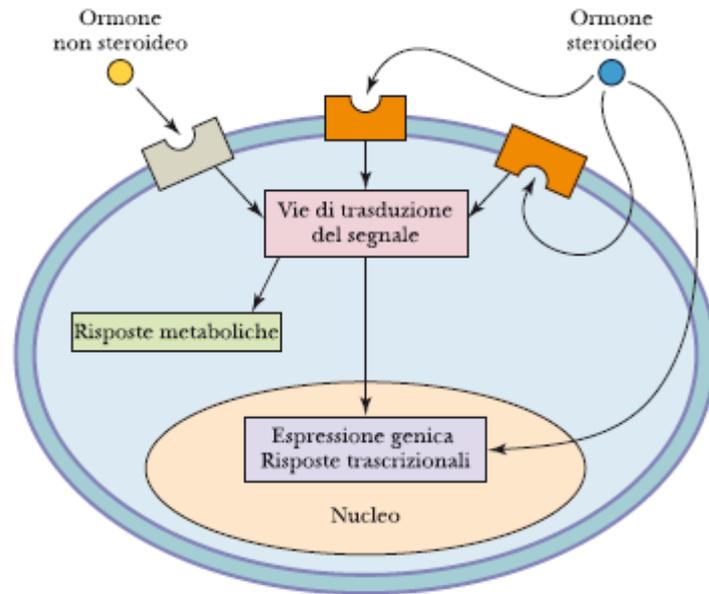
La cascata è regolata a diversi livelli mediante regolazione a feedback da parte dell'ormone finale

Quindi, come nelle vie biosintetiche all'interno di una singola cellula, il prodotto finale controlla la sua stessa produzione

Gli ormoni sono classificati sulla base della loro struttura chimica e del loro meccanismo d'azione

TABLE 23-1 Classes of Hormones

Type	Example	Synthetic path	Mode of action
Peptide	Insulin, glucagon	Proteolytic processing of prohormone	Plasma membrane receptors; second messengers
Catecholamine	Epinephrine	From tyrosine	
Eicosanoid	PGE ₁	From arachidonate (20:4 fatty acid)	
Steroid	Testosterone	From cholesterol	Nuclear receptors; transcriptional regulation
Vitamin D	1,25-Dihydroxycholecalciferol	From cholesterol	
Retinoid	Retinoic acid	From vitamin A	
Thyroid	Triiodothyronine (T ₃)	From Tyr in thyroglobulin	Cytosolic receptor (guanylate cyclase) and second messenger (cGMP)
Nitric oxide	Nitric oxide	From arginine + O ₂	



Attraverso meccanismi diversi gli ormoni

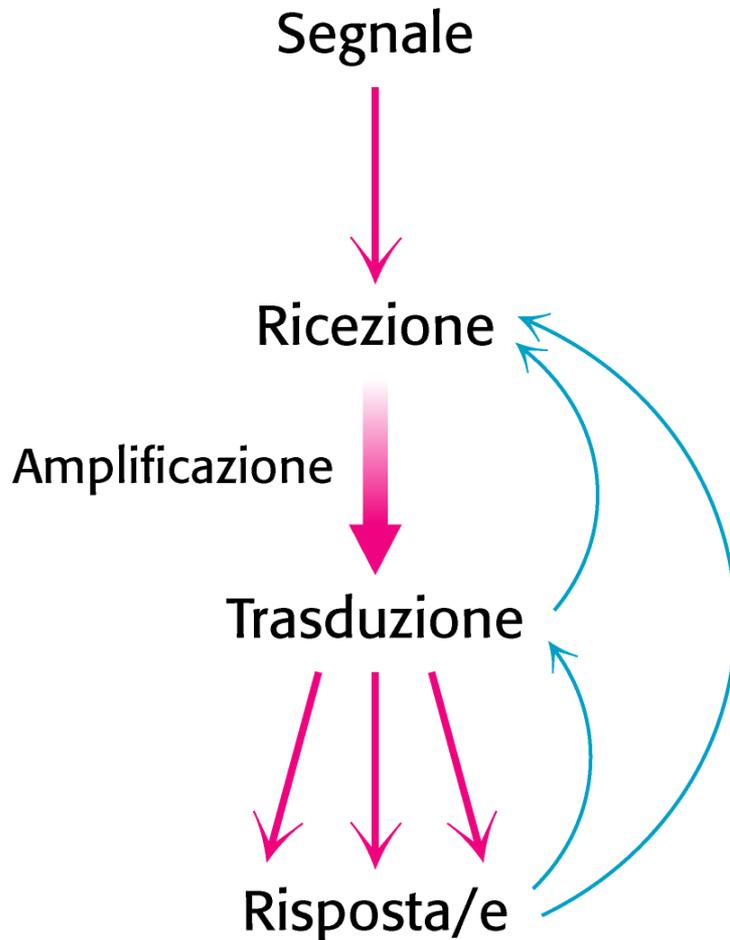
- regolano i processi metabolici
- facilitano e controllano crescita, differenziamento cellulare, processi riproduttivi, apprendimento e memoria
- aiutano l'organismo a far fronte ai cambiamenti delle condizioni e agli stress ambientali

La regolazione ormonale dipende dalla **trasduzione del segnale** ormonale attraverso la membrana plasmatica fino a specifici siti intracellulari.

CHE COS'E' LA TRASDUZIONE DEL SEGNALE?

- ✧ è la conversione di segnali extracellulari in una risposta intracellulare
- ✧ è una proprietà universale delle cellule viventi e un processo fondamentale per la vita

Fasi della segnalazione:



-rilascio del primo messaggero

-interazione del primo messaggero con il suo recettore

-trasferimento del messaggio all'interno della cellula tramite il secondo messaggero

-attivazione di effettori che alterano la risposta fisiologica

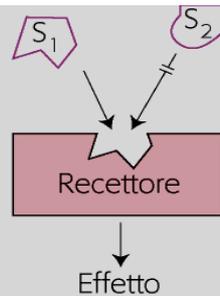
-spegnimento del segnale, ritorno della cellula allo stato precedente

MECCANISMI MOLECOLARI DI TRASDUZIONE DEL SEGNALE

Caratteristiche fondamentali dei sistemi di trasduzione del segnale

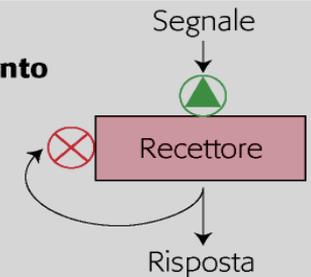
(a) Specificità

Alcune molecole segnale sono complementari al sito di legame sul recettore; altre non possono adattarsi al sito



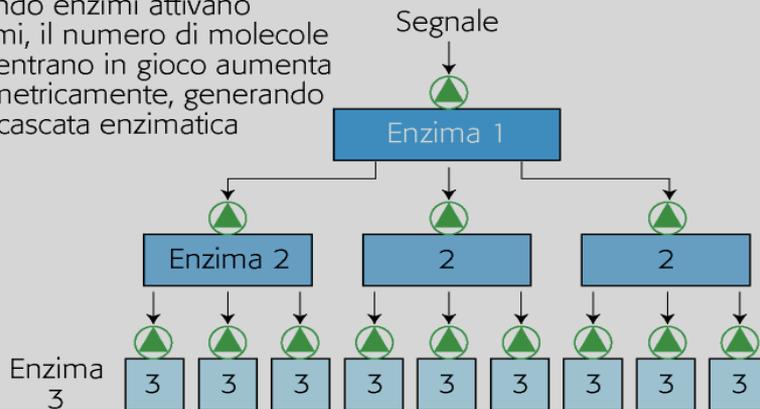
(c) Desensibilizzazione/adattamento

L'attivazione del recettore innesca un circuito retroattivo che spegne il recettore o lo rimuove dalla superficie



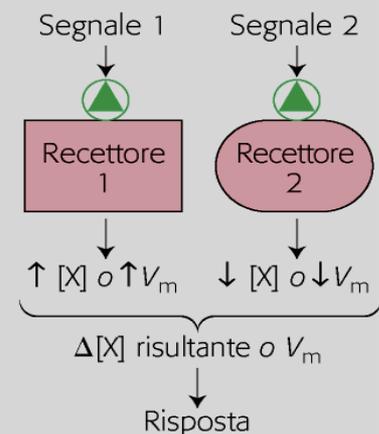
(b) Amplificazione

Quando enzimi attivano enzimi, il numero di molecole che entrano in gioco aumenta geometricamente, generando una cascata enzimatica



(d) Integrazione

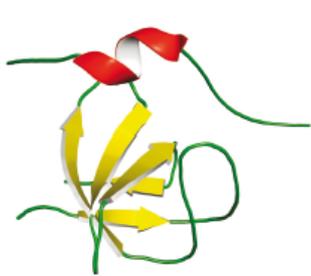
Quando due segnali hanno effetti opposti su una caratteristica metabolica, come la concentrazione di un secondo messaggero X o il potenziale di membrana V_m , il risultato finale è un segnale integrato da entrambi i recettori



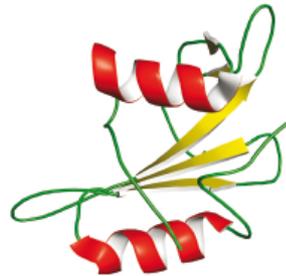
Caratteristiche generali comuni a tutte le vie di trasduzione del segnale:

- Comunicazioni transmembrana dei segnali ormonali tramite **proteine recettoriali**
- Raggruppamento dei recettori di membrana e dei loro ligandi in grandi aggregati denominati **signalosomi**
- **Modificazioni covalenti reversibili** che regolano la funzione di alcune proteine e lipidi (fosforilazione, metilazione, acetilazione, ubiquitinazione, idrossilazione, proteolisi limitata)
- **Domini d'interazione proteica** che riconoscono selettivamente specifici motivi strutturali, e vi si legano con elevata affinità e specificità
- **Secondi messaggeri** che si legano a specifici bersagli, cambiando la loro attività e il loro comportamento
- **Vie di segnalazione** intracellulare che spesso coinvolgono una cascata di enzimi (es. protein chinasi), che connettono i recettori ai loro bersagli funzionali localizzati a valle

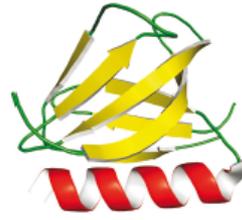
Le vie di segnalazione dipendono da interazioni molecolari multiple mediate da **domini di interazione proteica (PID)**



SH3



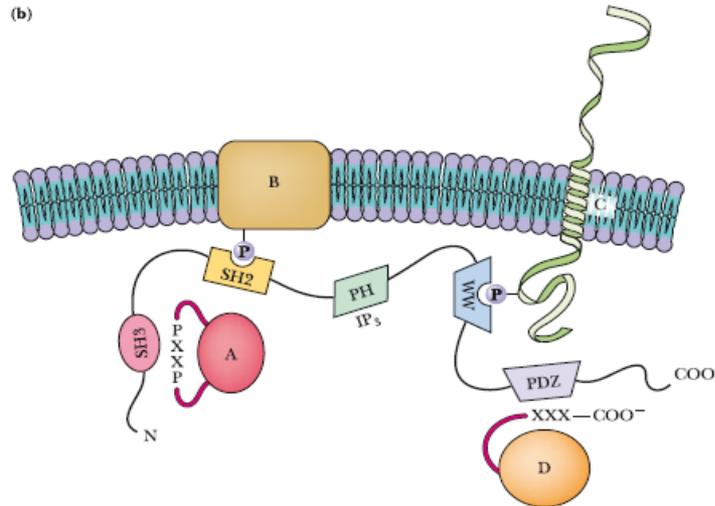
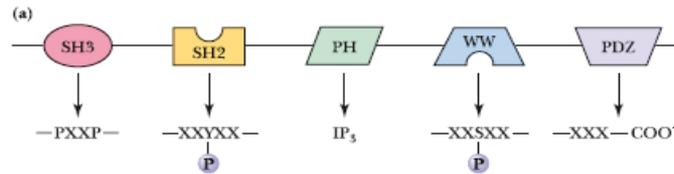
SH2



PH



PDZ (dimero)



Molte proteine coinvolte nella trasduzione del segnale sono formate dalla combinazione di PID, ciascuno con una specifica funzione enzimatica o di legame. Queste proteine con siti di interazione multipla possono funzionare da impalcatura per l'assemblaggio dei signalosomi

Tipi generali di trasduttori di segnali

Recettori accoppiati alle proteine G

Il legame di un ligando esterno (S) al recettore (R) attiva una proteina intracellulare che lega il GTP (G), che a sua volta regola un enzima (Enz), che genera un secondo messaggero intracellulare, X

Recettore con attività tirosina chinasi

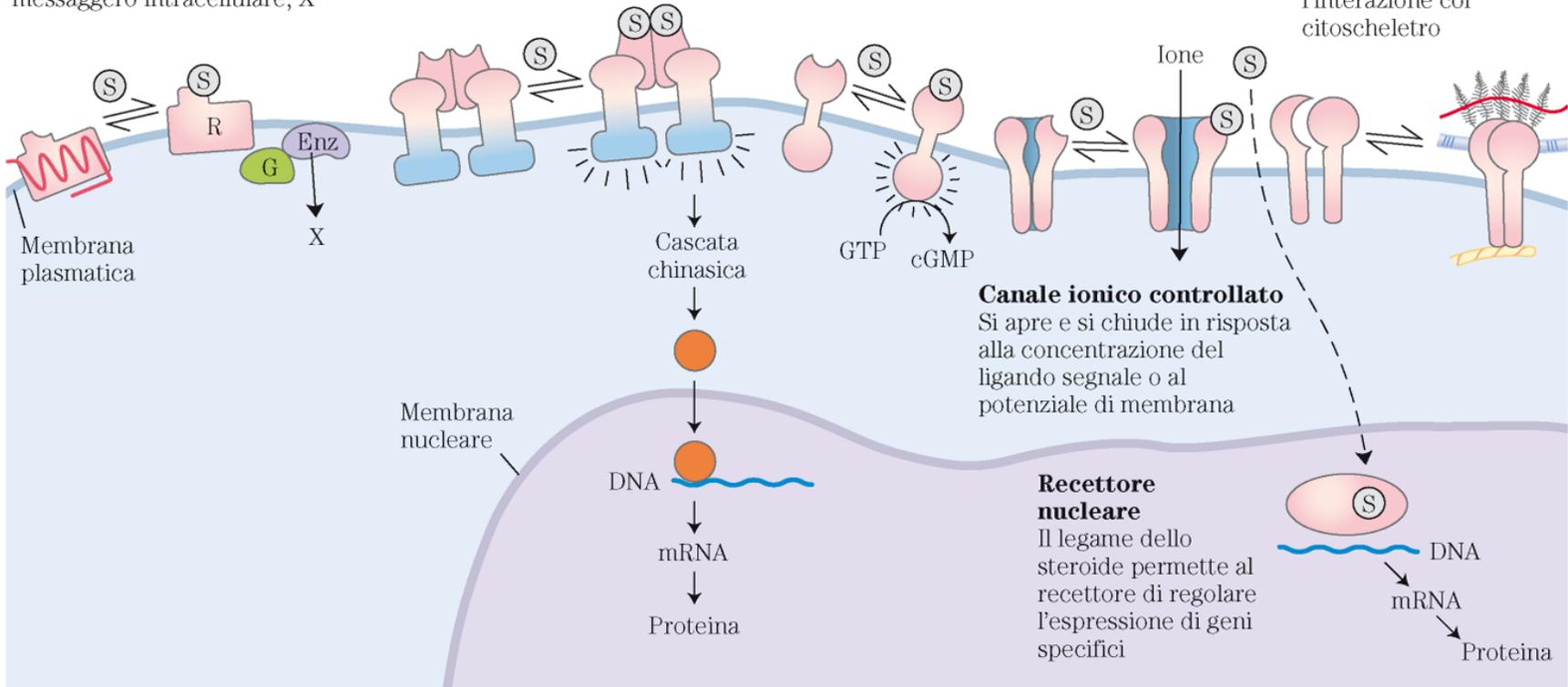
Il legame del ligando innesca l'attività tirosina chinasi per autofosforilazione

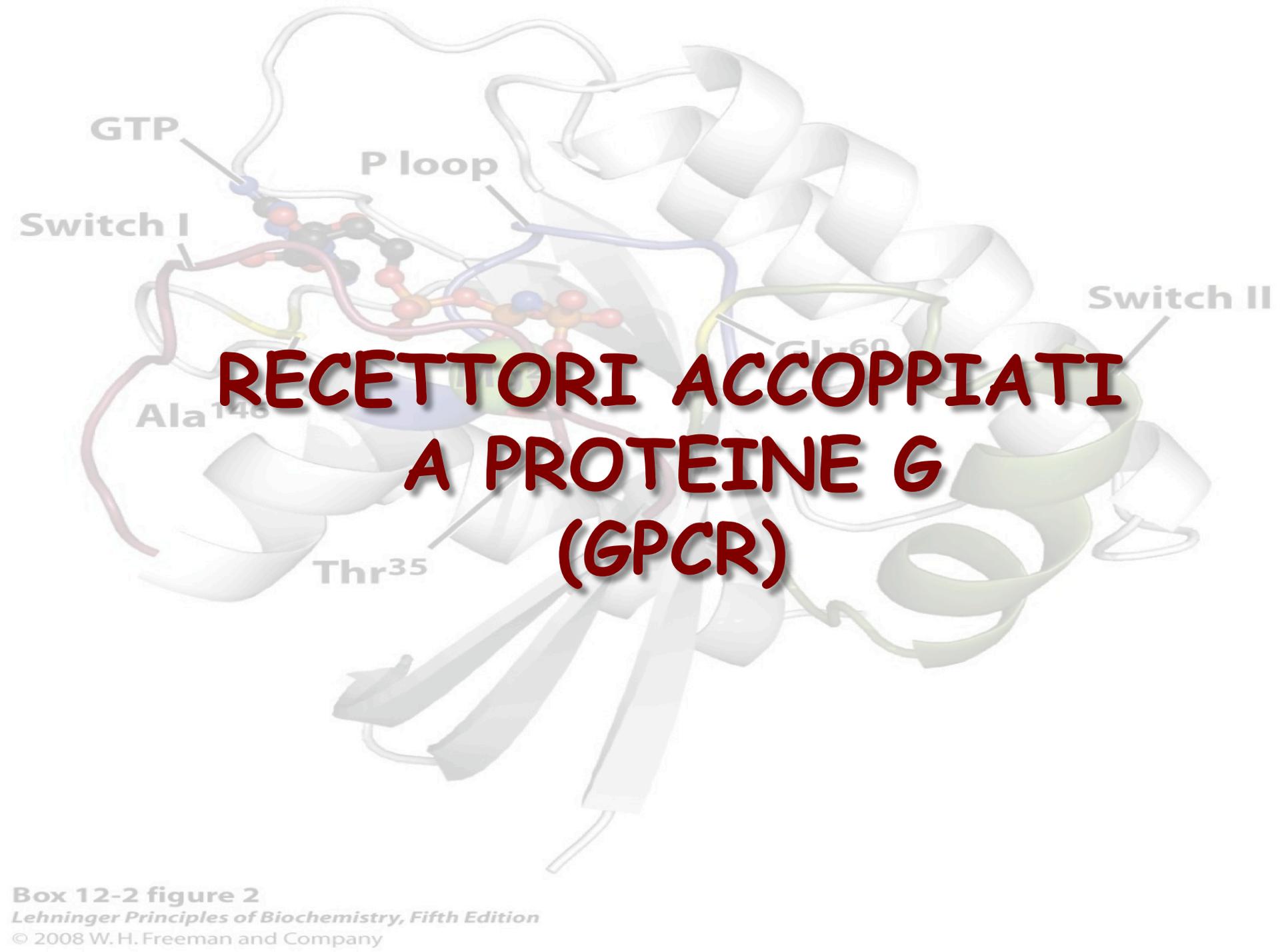
Recettore con attività guanilil ciclasica

Il legame del ligando al dominio extracellulare stimola la formazione del secondo messaggero, il cGMP

Recettore di adesione (integrina)

Legna molecole della matrice extracellulare, cambia la propria conformazione ed altera l'interazione col citoscheletro



A 3D ribbon diagram of a G-protein coupled receptor (GPCR) bound to a G protein. The GPCR is shown in a light grey ribbon representation, with its seven transmembrane helices clearly visible. The G protein is shown in a darker grey ribbon representation, with its alpha, beta, and gamma subunits. A GTP molecule is bound to the alpha subunit, shown as a ball-and-stick model with blue, red, and black atoms. The P loop is highlighted in blue. Switch I and Switch II are highlighted in pink and yellow, respectively. Specific residues are labeled: Ala148, Thr35, and Gly60. The text "RECETTORI ACCOPPIATI A PROTEINE G (GPCR)" is overlaid in large, bold, red letters with a drop shadow.

**RECETTORI ACCOPPIATI
A PROTEINE G
(GPCR)**

Box 12-2 figure 2

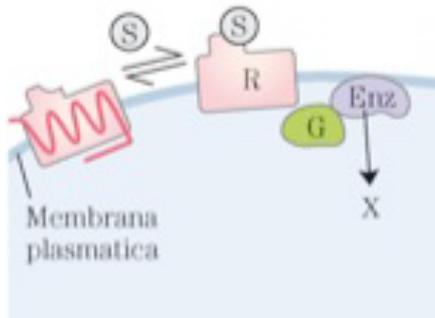
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition

© 2008 W. H. Freeman and Company

Componenti essenziali della trasduzione del segnale via GPCR

Recettori accoppiati alle proteine G

Il legame di un ligando esterno (S) al recettore (R) attiva una proteina intracellulare che lega il GTP (G), che a sua volta regola un enzima (Enz), che genera un secondo messaggero intracellulare, X



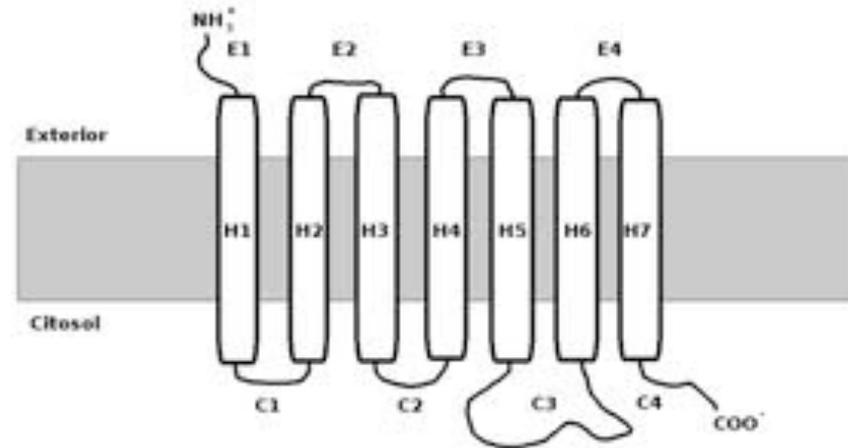
- Primo messaggero
- Recettore a serpentina (sette domini transmembrana)
- Proteina G eterotrimerica
- Sistema effettore di membrana
- Secondo messaggero

Coinvolti in molte patologie umane (allergie, depressione, cecità, diabete, malattie cardiovascolari)

Quasi la metà di tutti i farmaci presenti attualmente sul mercato ha come bersaglio un recettore GPCR

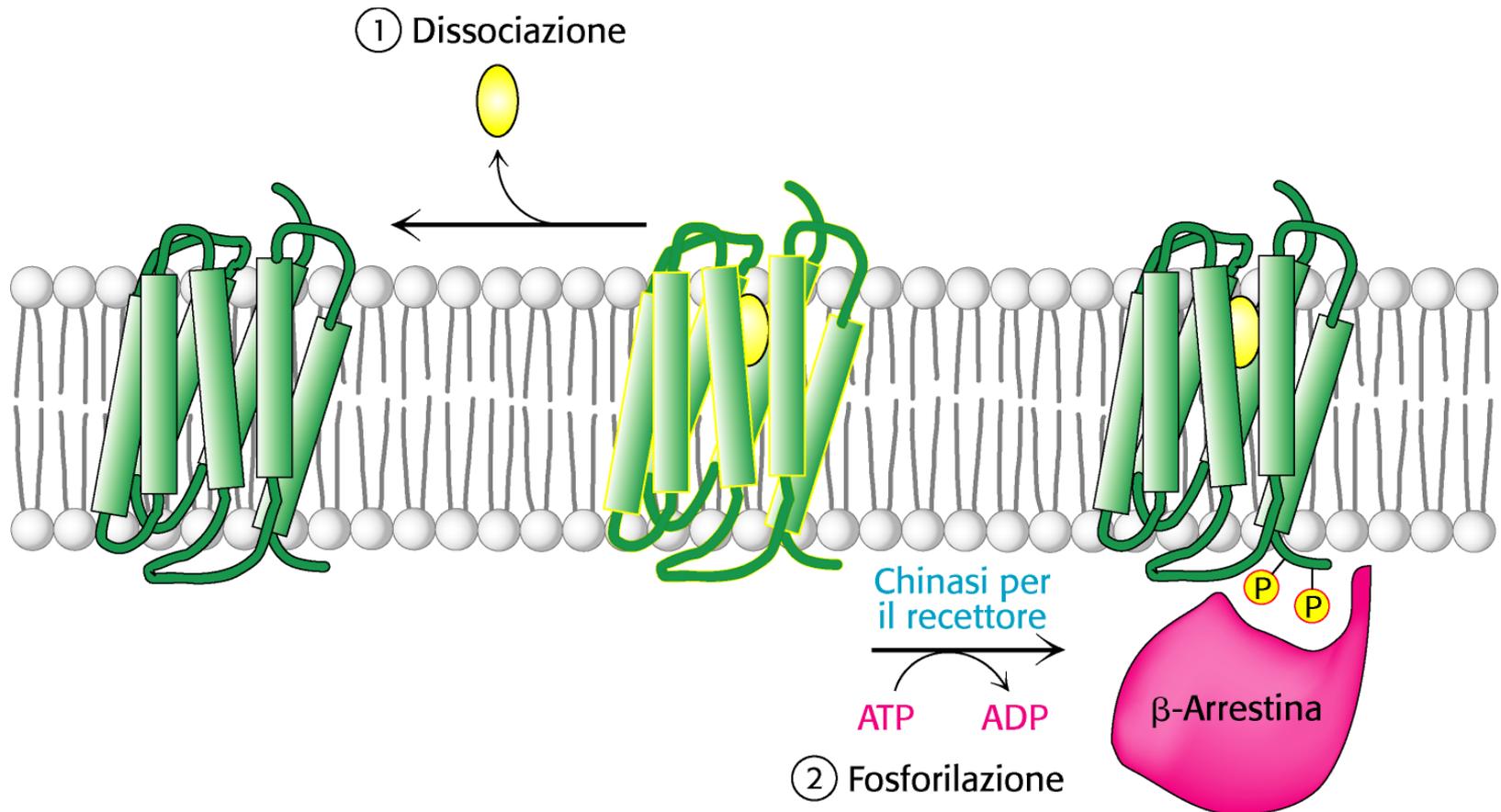
Almeno 150 dei circa 350 GPCR codificati dal genoma umano sono **recettori orfani**, cioè non si conosce la loro funzione biologica in quanto i loro ligandi fisiologici non sono stati ancora individuati

Struttura dei recettori GPCR



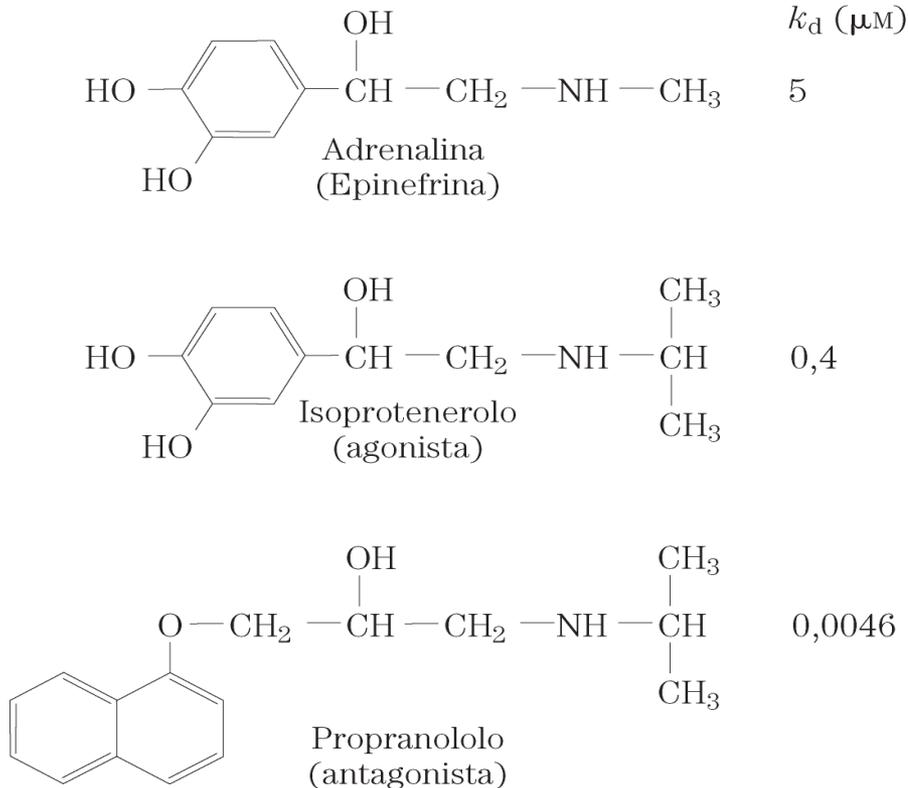
Famiglia dei recettori GPCR:
colinergici muscarinici
adrenergici
dopaminergici
serotonergici
cannabinoidi
oppiacei
purine

Lo spegnimento del segnale può avvenire secondo due modalità:



Il complesso recettore/ β -arrestina viene internalizzato per endocitosi. Nelle vescicole endocitotiche l'arrestina si dissocia, mentre il recettore defosforilato ritorna sulla membrana plasmatica

Il recettore β -adrenergico è il prototipo di tutti i recettori GPCR

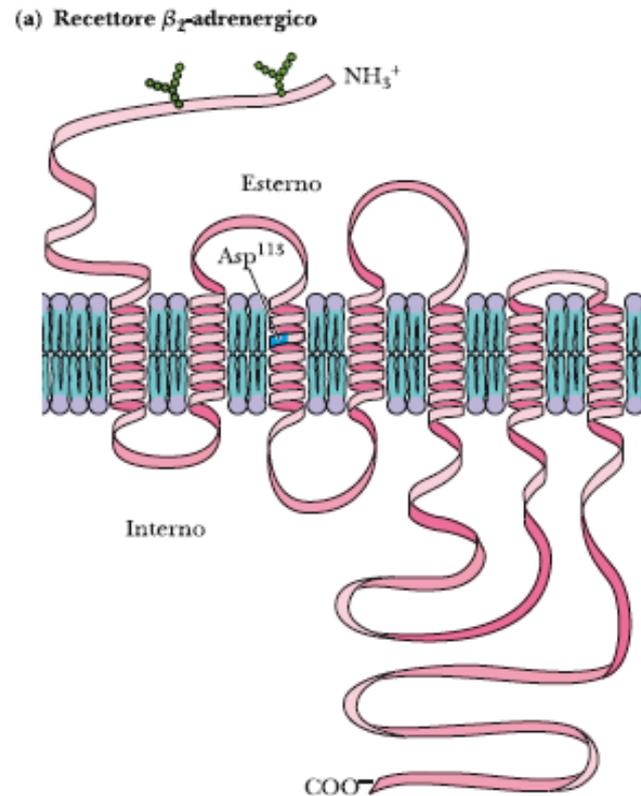


L'adrenalina viene rilasciata dalla corteccia surrenale e regola la produzione di energia nel metabolismo di muscolo, fegato e tessuto adiposo. Svolge anche la funzione di neurotrasmettitore a livello dei neuroni.

I recettori adrenergici (α_1 , α_2 , β_1 e β_2) si trovano in differenti tessuti bersaglio e mediano risposte intracellulari diverse

I recettori β -adrenergici si trovano a livello di muscolo, fegato e tessuto adiposo

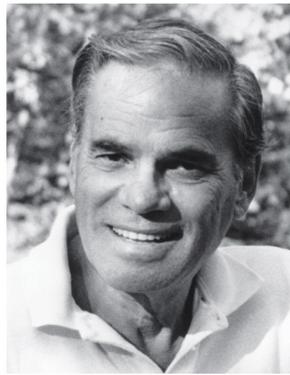
Il recettore β_2 adrenergico



La sostituzione di Asp¹¹³ nel terzo dominio idrofobico con Asn o Gln causa notevole diminuzione dell'affinità nei confronti sia di agonisti che di antagonisti. Asp¹¹³ è conservato in tutti i GPCR che legano ammine biogene ed è assente nei GPCR i cui ligandi non sono ammine. Asp¹¹³ sembra essere il controione della parte amminica dei ligandi adrenergici.



Alfred G. Gilman



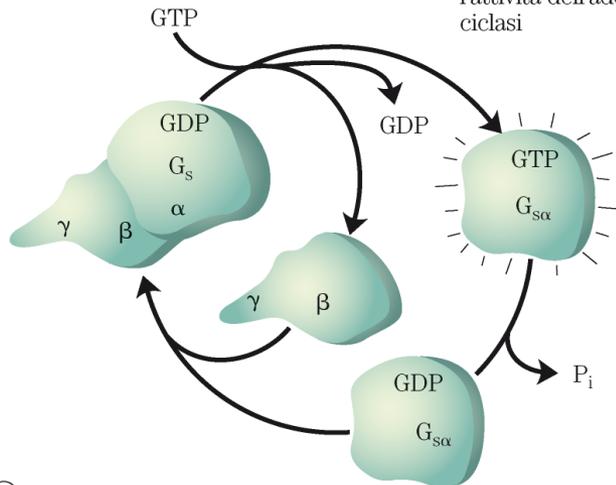
Martin Rodbell

Le proteine G sono interruttori molecolari sia in condizioni normali che patologiche

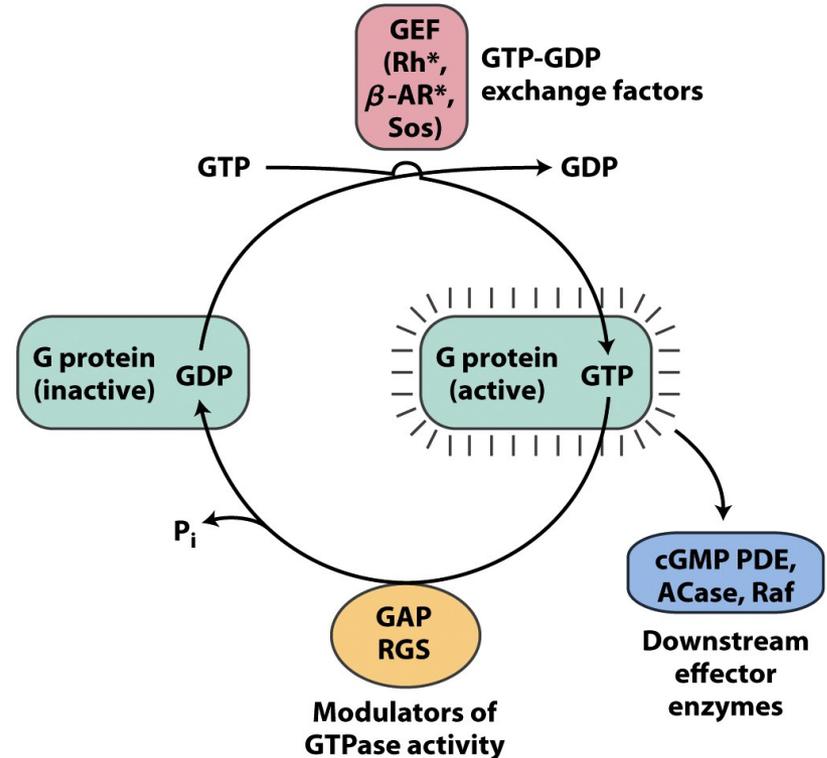
Box 12-2 figure 1
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W. H. Freeman and Company

Nobel in medicina 1994

- ① G_s con legato il GDP è spenta; essa non può attivare l'adenilil ciclasi
- ② Il contatto di G_s con il recettore-ormone determina la sostituzione di GDP con GTP
- ③ G_s con legato il GTP si dissocia nelle subunità α e $\beta\gamma$. La subunità $G_{s\alpha}$ con il GTP è attiva e può stimolare l'attività dell'adenilil ciclasi



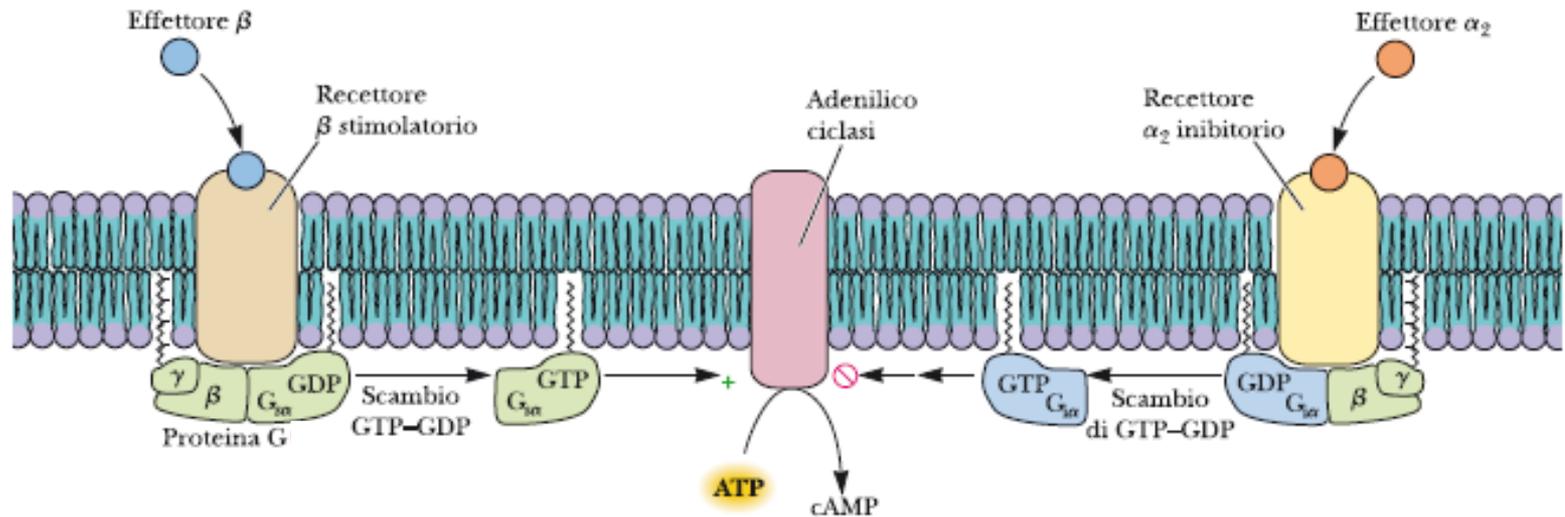
- ④ Il GTP legato a $G_{s\alpha}$ viene idrolizzato da un'attività GTPasica intrinseca alla stessa proteina $G_{s\alpha}$; in questo modo questa proteina si autospegne. La subunità α inattiva si riassocia alle subunità β e γ



Box 12-2 figure 4
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W. H. Freeman and Company

TABELLA 32.2 Proteine G e loro effetti fisiologici				
Proteina G	Localizzazione	Stimolo	Effettore	Effetto
G_s	Fegato	Adrenalina, glucagone	Adenilico ciclasti	Degradazione del glicogeno
G_s	Tessuto adiposo	Adrenalina, glucagone	Adenilico ciclasti	Degradazione dei grassi
G_s	Rene	Vasopressina (ADH)	Adenilico ciclasti	Conservazione dell'acqua
G_i	Muscolo cardiaco	Acetilcolina	Canali per il potassio	Diminuzione del battito cardiaco e del gettito cardiaco
G_i/G_o	Neuroni del cervello	Encefaline, endorfine, oppioidi	Adenilico ciclasti, canali per il potassio, canali per il calcio	Cambiamenti nell'attività elettrica dei neuroni
G_q	Cellule della muscolatura liscia nei vasi sanguigni	Angiotensina	Fosfolipasi C	Contrazione muscolare, elevazione della pressione sanguigna
G_{olf}	Cellule neuroepiteliali del naso	Molecole odoranti	Adenilico ciclasti	Percezione degli odori
Transducina (G_t)	Coni e bastoncelli della retina dell'occhio	Percezione della luce	cGMP fosfodiesterasi	Percezione della luce (visione)

Sistema effettore di membrana - Adenilato ciclasi

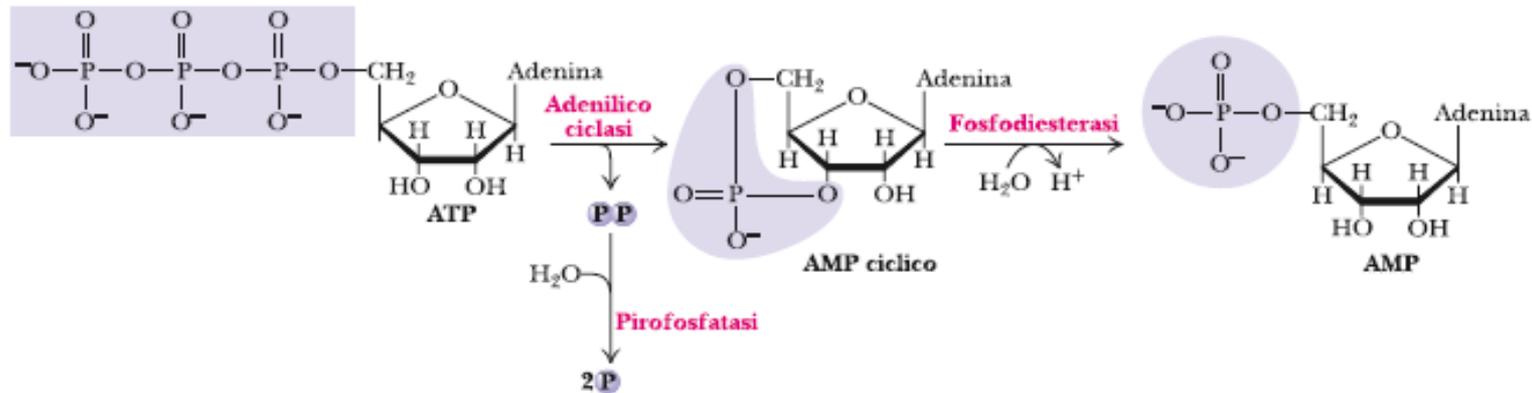


L'attività dell'adenilico ciclasi è modulata dall'interazione con proteine G stimolatorie (G_s) e proteine G inibitorie (G_i). Il legame degli ormoni ai recettori β_1 - e β_2 -adrenergici attiva l'adenilico ciclasi tramite G_s , mentre il legame degli ormoni ai recettori α_2 -adrenergici porta all'inibizione dell'adenilico ciclasi.

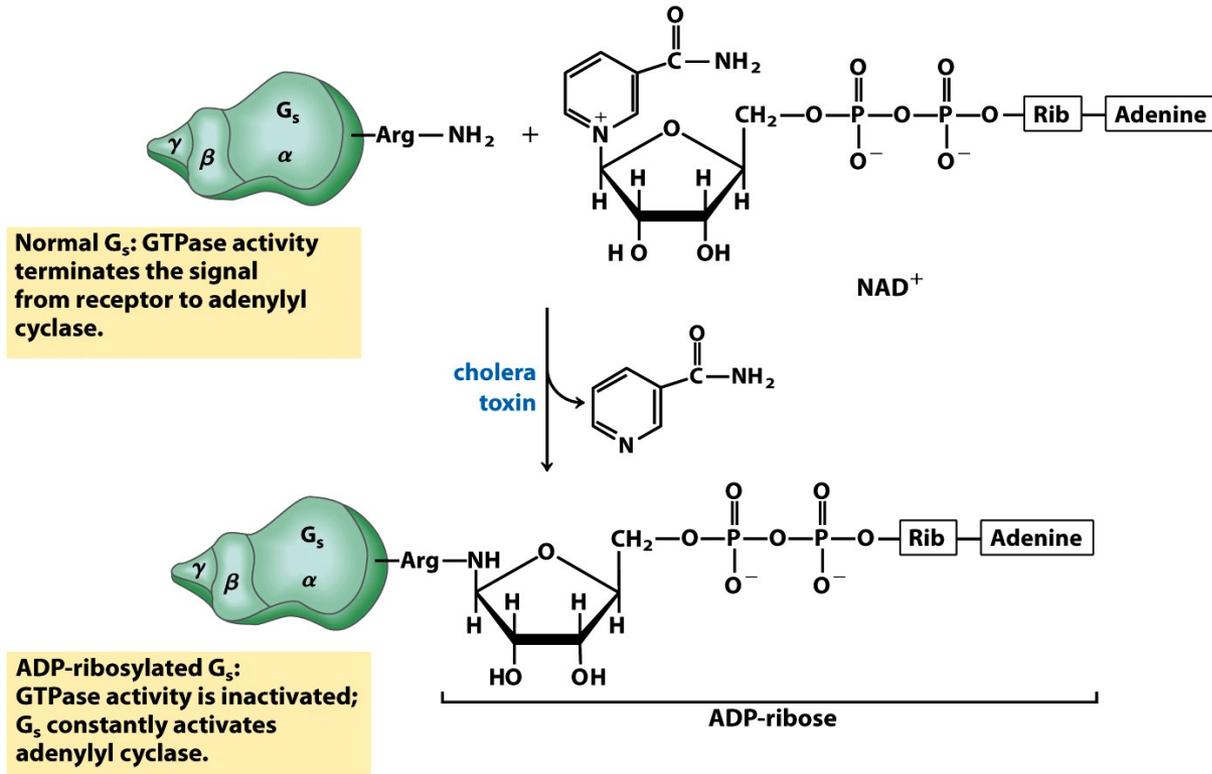
AMP ciclico è un secondo messaggero

I secondi messaggeri esercitano i loro effetti sulla cellula legandosi a una o più molecole bersaglio.

- cAMP attiva la protein chinasi cAMP-dipendente (PKA)
- PKA catalizza la fosforilazione di proteine cellulari modulandone l'attività (risposta cellulare)
- La degradazione di cAMP da parte di cAMP-PDE cessa l'attivazione di PKA



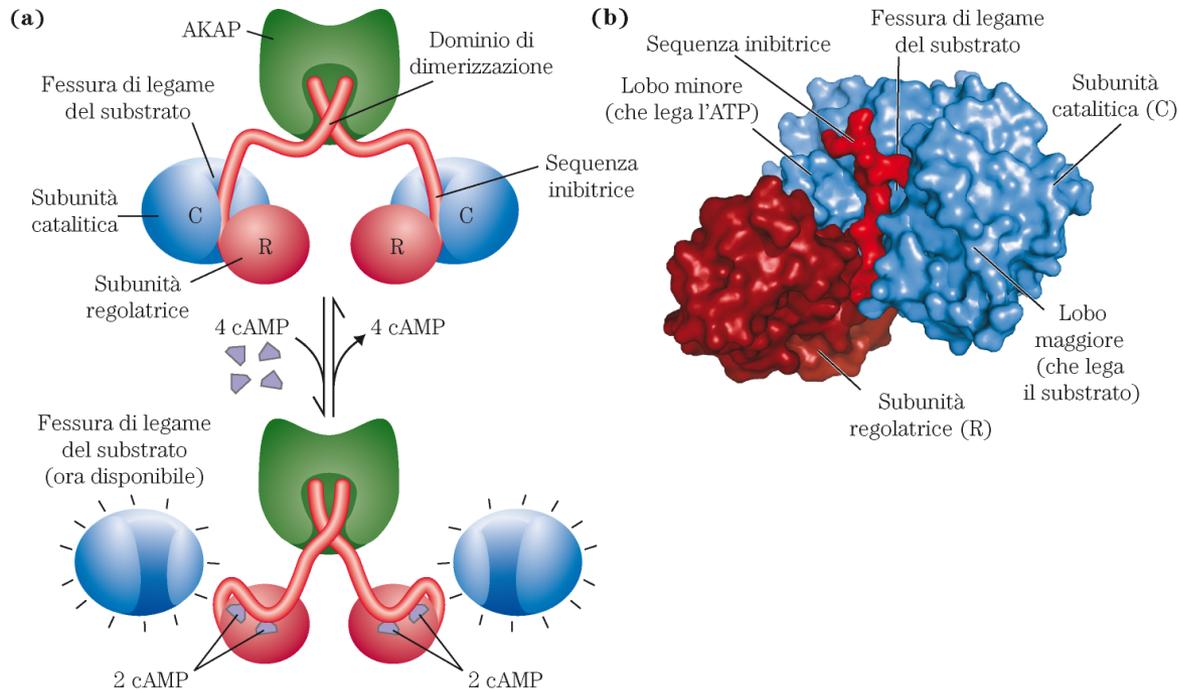
Alcuni batteri patogeni producono tossine che hanno come bersaglio le proteine G, interferendo così nel processo di segnalazione della cellula ospite. Es. tossina del colera secreta da *Vibrio cholerae*.



Box 12-2 figure 5
 Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
 © 2008 W.H. Freeman and Company

La patologia del colera è la conseguenza di una regolazione difettosa di adenilato ciclasi e della sovrapproduzione di cAMP

Le variazioni dei livelli intracellulari di cAMP regolano l'attivazione/disattivazione di PKA



AKAP: A Kinase Anchoring Protein

Le proteine AKAP sono proteine adattatrici multivalenti che ancorano la PKA a strutture specifiche della cellula, confinando la chinasi in una determinata localizzazione subcellulare

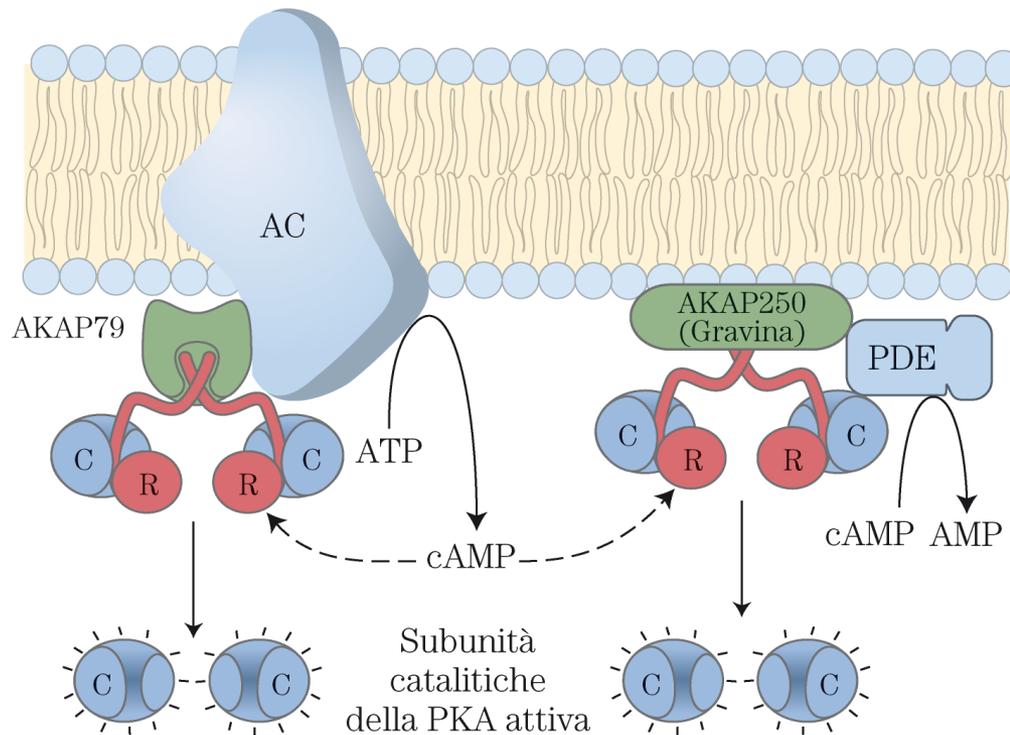


TABLE 12–2

Some Enzymes and Other Proteins Regulated by cAMP-Dependent Phosphorylation (by PKA)

Enzyme/protein	Sequence phosphorylated*	Pathway/process regulated
Glycogen synthase	RA S CTSSS	Glycogen synthesis
Phosphorylase <i>b</i> kinase α subunit β subunit	VEFRRL S I RTKR S GSV }	Glycogen breakdown
Pyruvate kinase (rat liver)	GVLRRAS V AZL	Glycolysis
Pyruvate dehydrogenase complex (type L)	GYLRRAS V	Pyruvate to acetyl-CoA
Hormone-sensitive lipase	PMRR S V	Triacylglycerol mobilization and fatty acid oxidation
Phosphofructokinase-2/fructose 2,6-bisphosphatase	LQRRRG S SIPQ	Glycolysis/gluconeogenesis
Tyrosine hydroxylase	FIGRRQ S L	Synthesis of L-dopa, dopamine, norepinephrine, and epinephrine
Histone H1	AKRKAS G PPVS	DNA condensation
Histone H2B	KKAKAS R KESYSVYVYK	DNA condensation
Cardiac phospholamban (cardiac pump regulator)	AIRRA S T	Intracellular [Ca ²⁺]
Protein phosphatase-1 inhibitor-1	IRRRR P T	Protein dephosphorylation
PKA consensus sequence [†]	xR[R K]x[S T]B	Many

*The phosphorylated S or T residue is shown in red. All residues are given as their one-letter abbreviations (see Table 3–1).

[†]x is any amino acid; B is any hydrophobic amino acid. See Box 3–3 for conventions used in displaying consensus sequences.

Table 12-2

Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition

© 2008 W. H. Freeman and Company

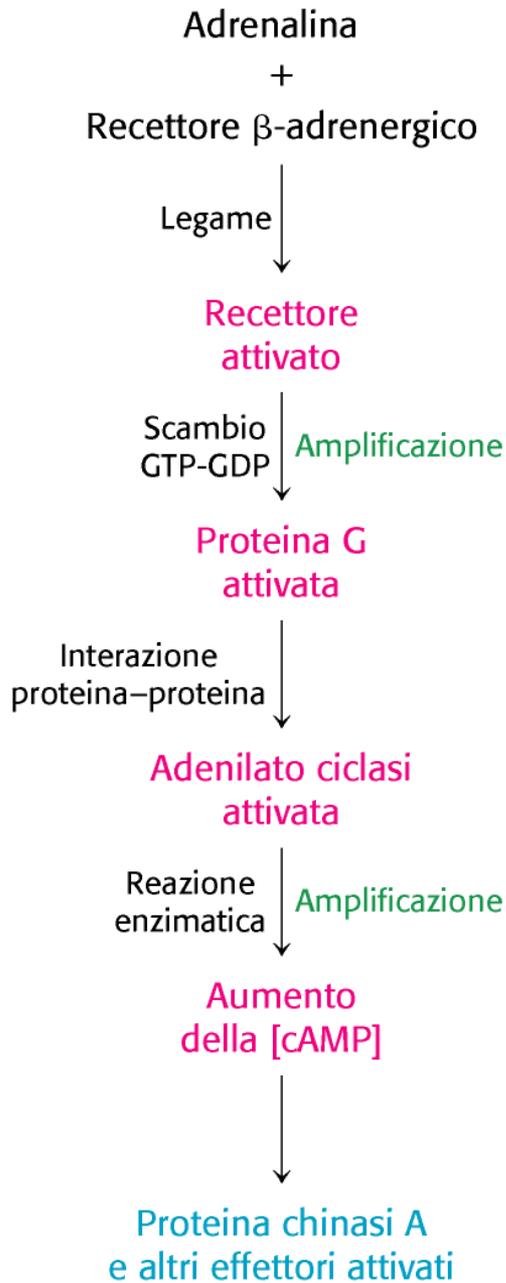


TABLE 12-3

Some Signals That Use cAMP as Second Messenger

Corticotropin (ACTH)
Corticotropin-releasing hormone (CRH)
Dopamine [D₁, D₂]
Epinephrine (β-adrenergic)
Follicle-stimulating hormone (FSH)
Glucagon
Histamine [H₂]
Luteinizing hormone (LH)
Melanocyte-stimulating hormone (MSH)
Odorants (many)
Parathyroid hormone
Prostaglandins E₁, E₂ (PGE₁, PGE₂)
Serotonin [5-HT-1a, 5-HT-2]
Somatostatin
Tastants (sweet, bitter)
Thyroid-stimulating hormone (TSH)

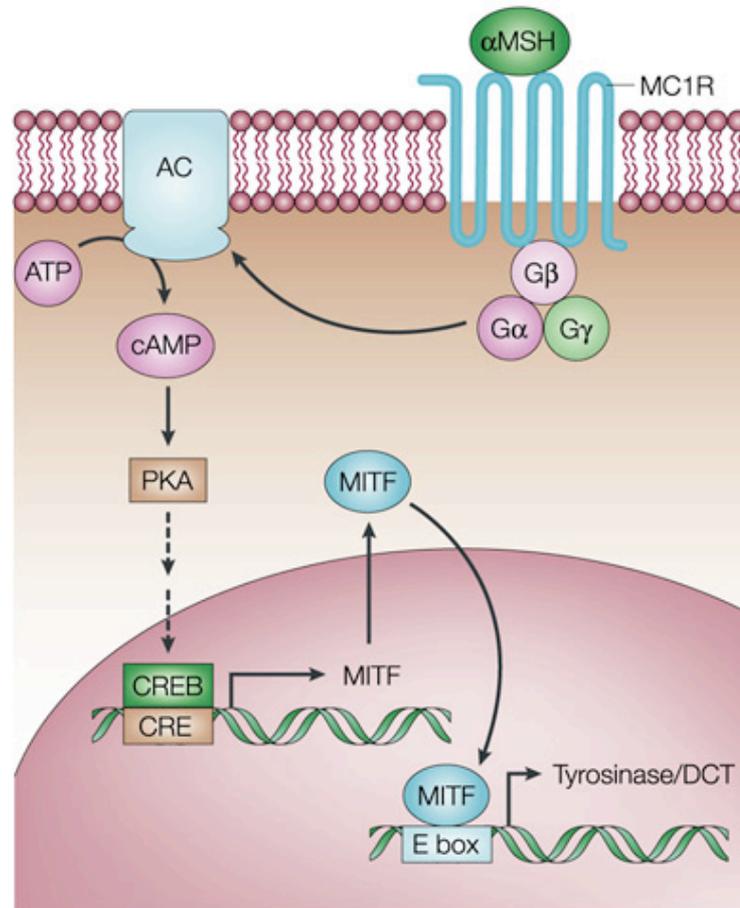
Note: Receptor subtypes in square brackets. Subtypes may have different transduction mechanisms. For example, serotonin is detected in some tissues by receptor subtypes 5-HT-1a and 5-HT-1b, which act through adenylyl cyclase and cAMP, and in other tissues by receptor subtype 5-HT-1c, acting through the phospholipase C-IP₃ mechanism (see Table 12-4).

Table 12-3

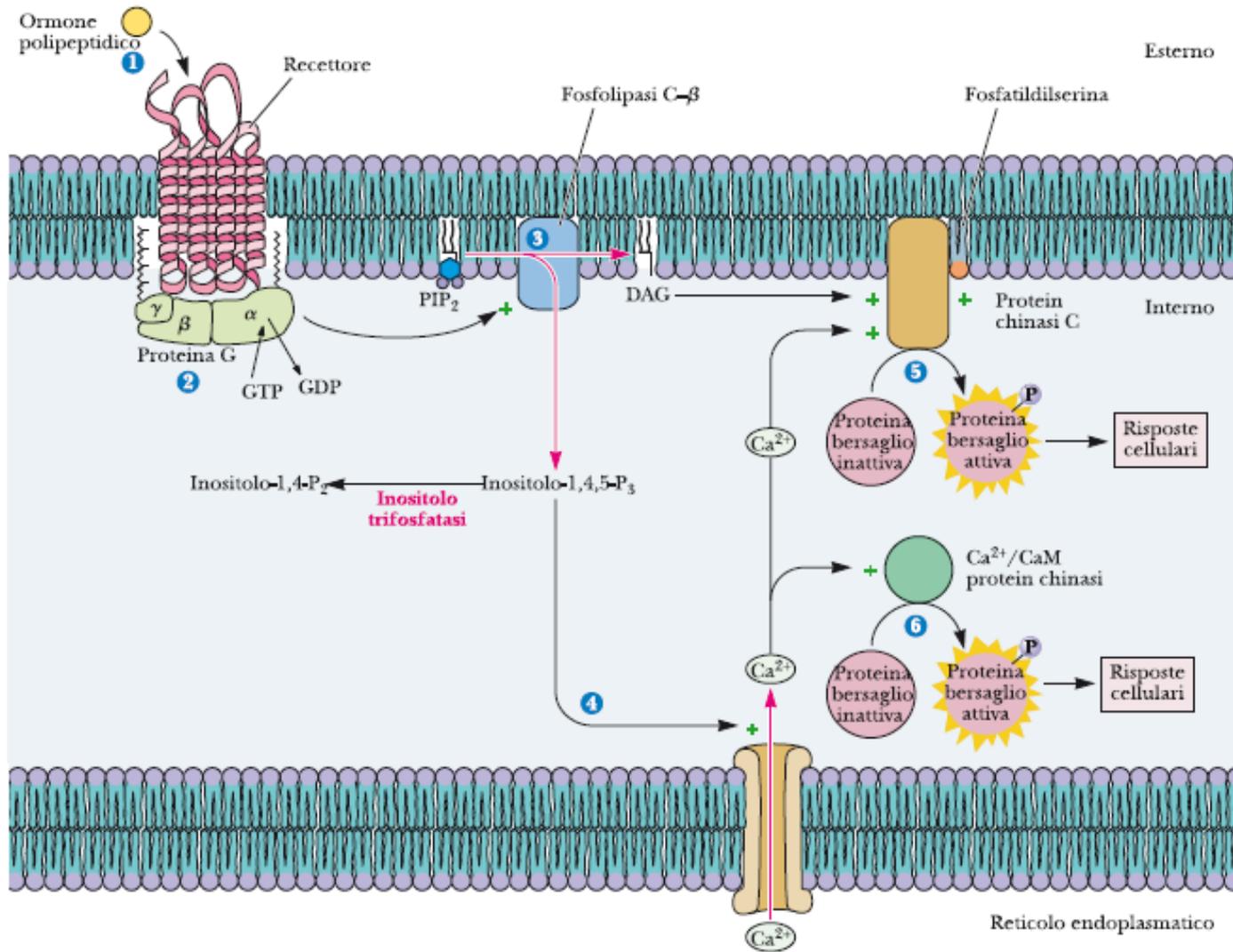
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition

© 2008 W. H. Freeman and Company

In molti tipi cellulari cAMP può mediare la regolazione dell'espressione di alcuni geni



Sistema effettore di membrana - PLC- β



IP₃ e DAG sono due secondi messaggeri

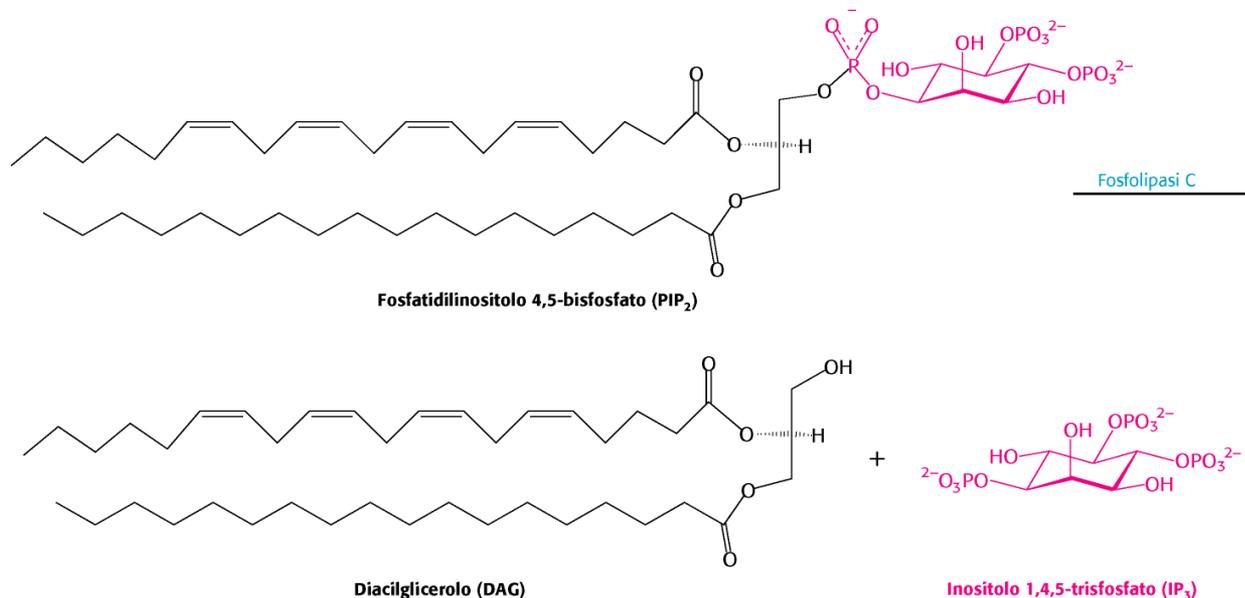


TABLE 12-4

Some Signals That Act through Phospholipase C, IP₃, and Ca²⁺

Acetylcholine [muscarinic M₁]
 α₁-Adrenergic agonists
 Angiogenin
 Angiotensin II
 ATP [P_{2x}, P_{2y}]
 Auxin

Gastrin-releasing peptide
 Glutamate
 Gonadotropin-releasing hormone (GRH)
 Histamine [H₁]
 Light (*Drosophila*)

Oxytocin
 Platelet-derived growth factor (PDGF)
 Serotonin [5-HT-1c]
 Thyrotropin-releasing hormone (TRH)
 Vasopressin

Note: Receptor subtypes are in square brackets; see footnote to Table 12-3.

Table 12-4

Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition

© 2008 W. H. Freeman and Company

Ca⁺⁺ è un secondo messaggero

Alcune proteine specifiche sono sensibili alle variazioni della concentrazione intracellulare di Ca⁺⁺

Si legano a Ca⁺⁺ e regolano una serie di enzimi Ca-dipendenti

Es.: **CALMODULINA**



TABLE 12-5

Some Proteins Regulated by Ca²⁺ and Calmodulin

Adenylyl cyclase (brain)

Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinases (CaM kinases I to IV)

Ca²⁺-dependent Na⁺ channel (*Paramecium*)

Ca²⁺-release channel of sarcoplasmic reticulum

Calcineurin (phosphoprotein phosphatase 2B)

cAMP phosphodiesterase

cAMP-gated olfactory channel

cGMP-gated Na⁺, Ca²⁺ channels (rod and cone cells)

Glutamate decarboxylase

Myosin light chain kinases

NAD⁺ kinase

Nitric oxide synthase

Phosphoinositide 3-kinase

Plasma membrane Ca²⁺ ATPase (Ca²⁺ pump)

RNA helicase (p68)