

Comunicazione intercellulare

Le cellule devono percepire e rispondere correttamente al microambiente perché le loro funzioni si svolgano in maniera efficiente e, soprattutto, controllata.

Gli errori nelle interazioni di segnalazione e nell'elaborazione delle informazioni cellulari sono responsabili di malattie come il cancro, l'autoimmunità e il diabete.

Comprendendo la segnalazione cellulare, le malattie possono essere trattate più efficacemente diagnosticate e curate.

Vietata riproduzione, vendita e
copia

Negli organismi pluricellulari le cellule comunicano
tramite un'ampia varietà di segnali extracellulari
provenienti da:

- un'altra cellula dell'organismo
- agenti esogeni biologici (batteri-virus)
- agenti chimico-fisici (es. Raggi UV, calore, durezza del substrato)

PRINCIPI GENERALI DELLA COMUNICAZIONE TRA CELLULE TRAMITE MOLECOLE SEGNALE

- Sintesi e rilascio di **molecole segnale** da parte della cellula segnalatrice (per esocitosi o per diffusione)
- Trasporto alla cellula bersaglio
- Ricezione dell'informazione da parte della cellula bersaglio tramite una **recettore** proteico
- Conversione del segnale extracellulare in un segnale intracellulare che modifica il comportamento della cellula

- Esistono **recettori specifici** per ogni molecola segnale
- La capacità di una cellula di rispondere ad una molecola segnale dipende dal fatto che possieda o no un recettore per quel segnale
- I recettori possono essere localizzati sulla membrana plasmatica (**molecole segnale idrofiliche**) oppure all'interno della cellula (**molecole segnale idrofobiche**)

La capacità di una cellula di rispondere ad una molecola segnale dipende dal fatto che possieda o no un recettore per quel segnale. Ciò ha rilevanza nella biologia di base come in clinica. Il non possedere un corretto appaiamento recettore-ligando può avere valore patologico ma anche protettivo.

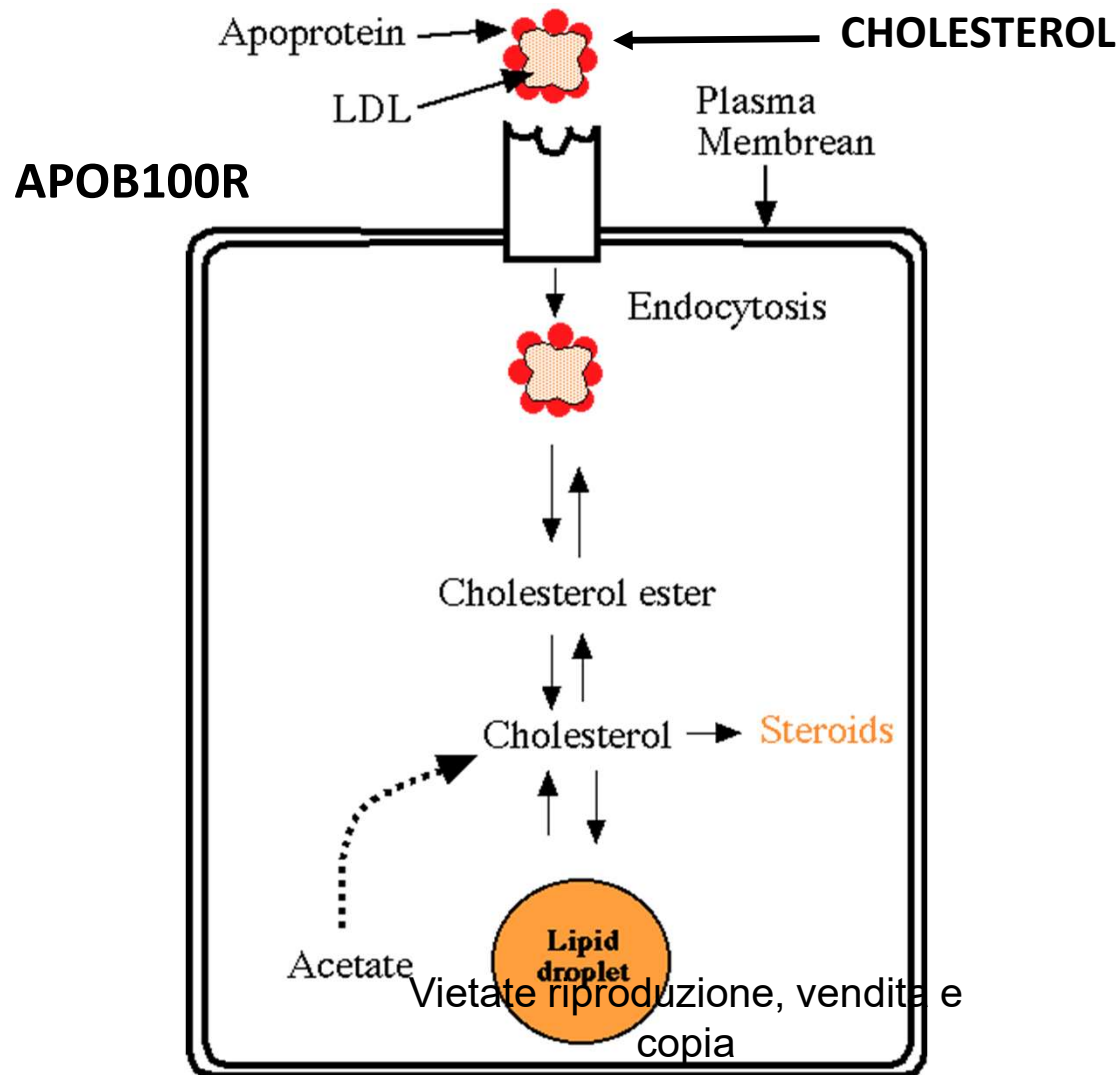
Esempi:

-Ipercolesterolemia familiare

-Trasmissione dell'HIV: varianti di CCR5

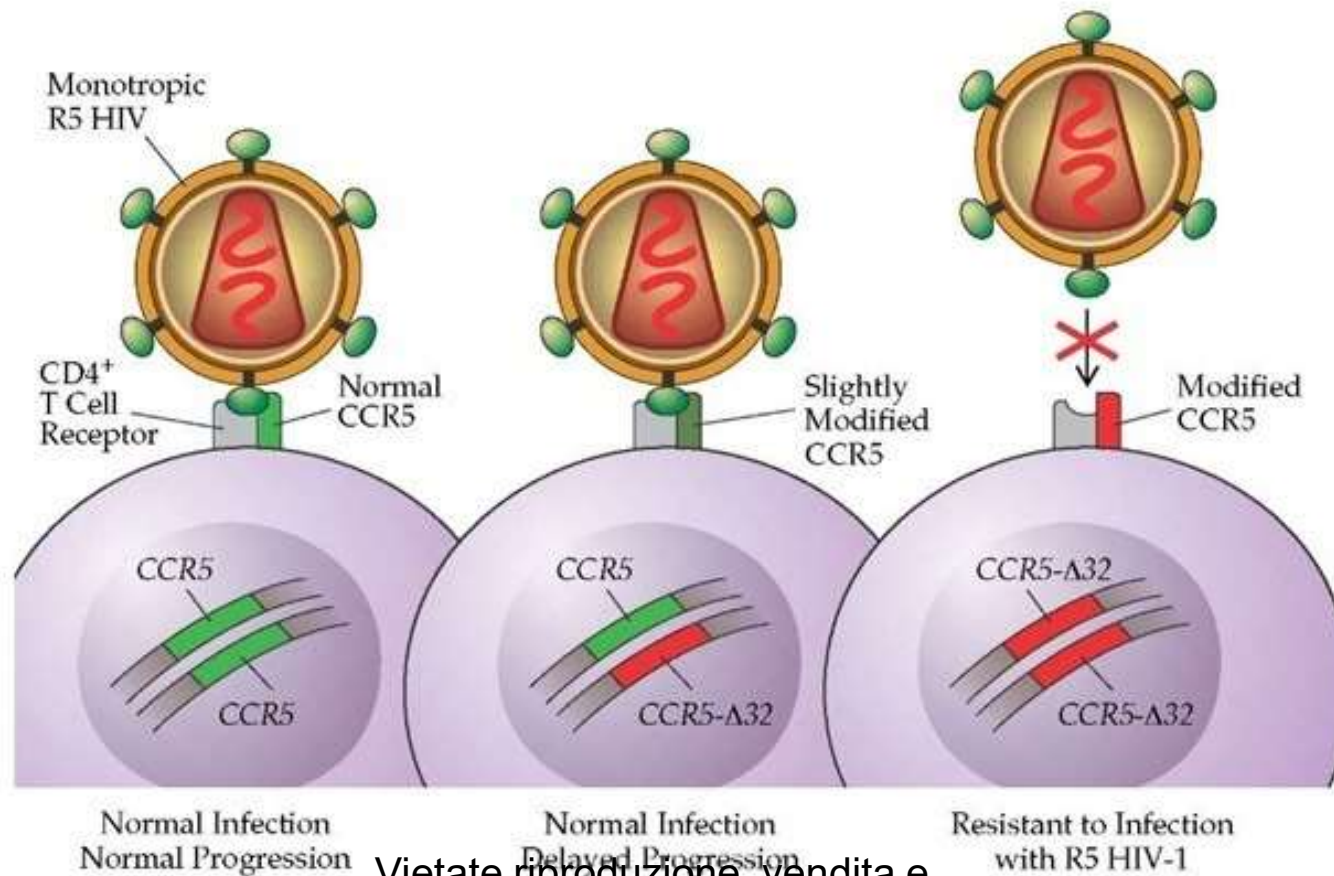
Ipercolesterolemia familiare

E' una patologia a carattere autosomico dominante causata da alterazione della proteina APOB100R, recettore per LDL. Alti livelli di colesterolo permangono nel sangue creando una patologia aterosclerotica precoce (danno arteriosclerotico a livello delle arterie).



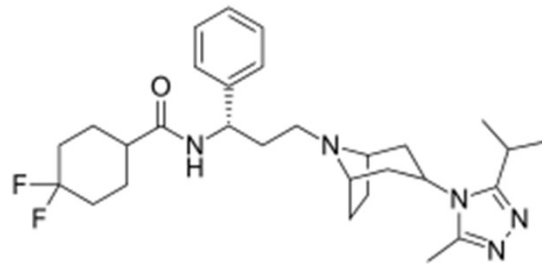
varianti di CCR5 nella trasmissione da HIV

La delezione di **CCR5- Δ 32** porta a un recettore non funzionante, che previene l'ingresso nella cellula dei ceppi virali HIV R5-tropici; la presenza di tale mutazione in **omozigosi** fornisce una forte protezione nei confronti dell'infezione da HIV.



Vietate riproduzione, vendita e
copia

Un nuovo gruppo di **farmaci, gli antagonisti del recettore CCR5**, è stato realizzato con lo scopo di interferire nell'interazione tra HIV e tale recettori; tra questi vi sono PRO140, Vicriviroc, Aplaviroc e Maraviroc

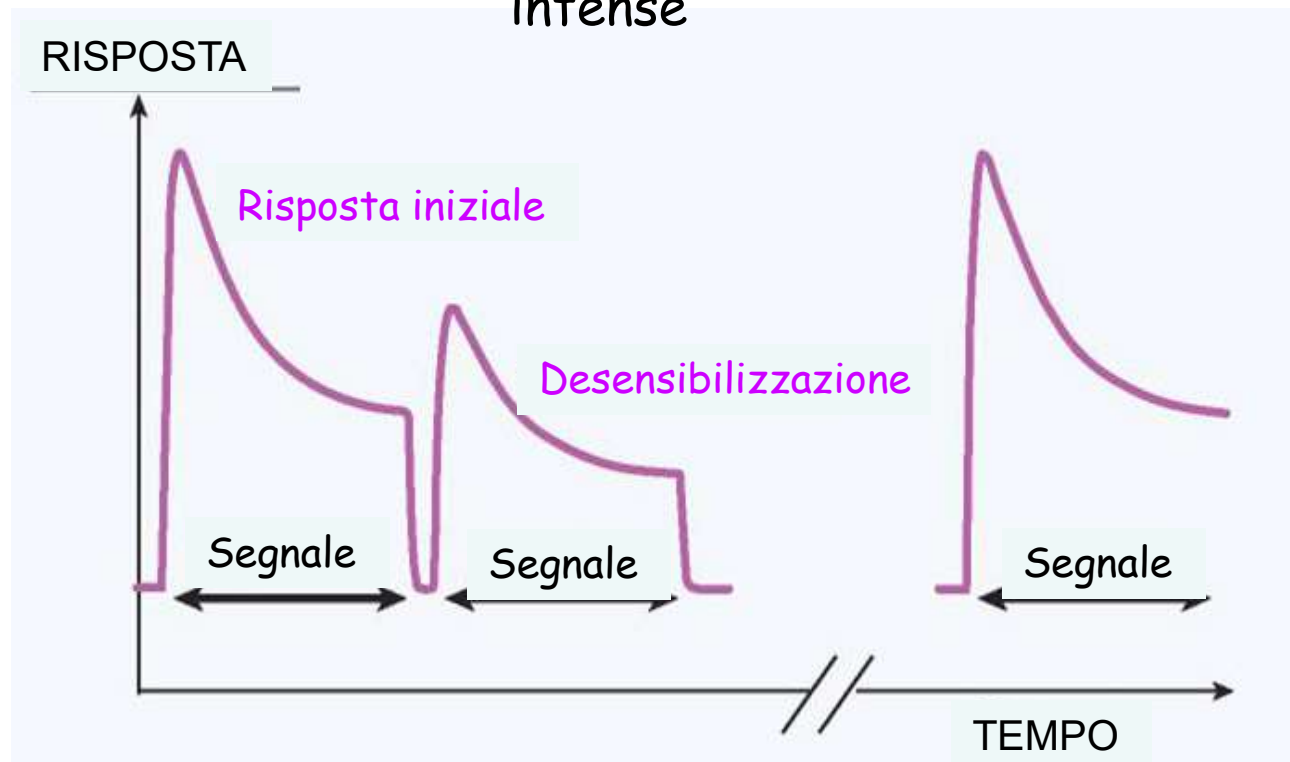


Maraviroc

antagonista del recettore **CCR5** e inibitore di binding: interferisce con il legame, la fusione e l'entrata del virione di HIV in una cellula umana.

- Una proprietà universale delle vie di segnalazione è l'adattamento della cellula allo stimolo, o **desensibilizzazione**

Un segnale inviato continuamente o ad intervalli molto brevi e nella stessa concentrazione dà risposte sempre meno intense



La desensibilizzazione permette alla cellula di rispondere a **variazioni della concentrazione della molecola segnale** piuttosto che alla concentrazione assoluta

Vietata riproduzione, vendita e
copia

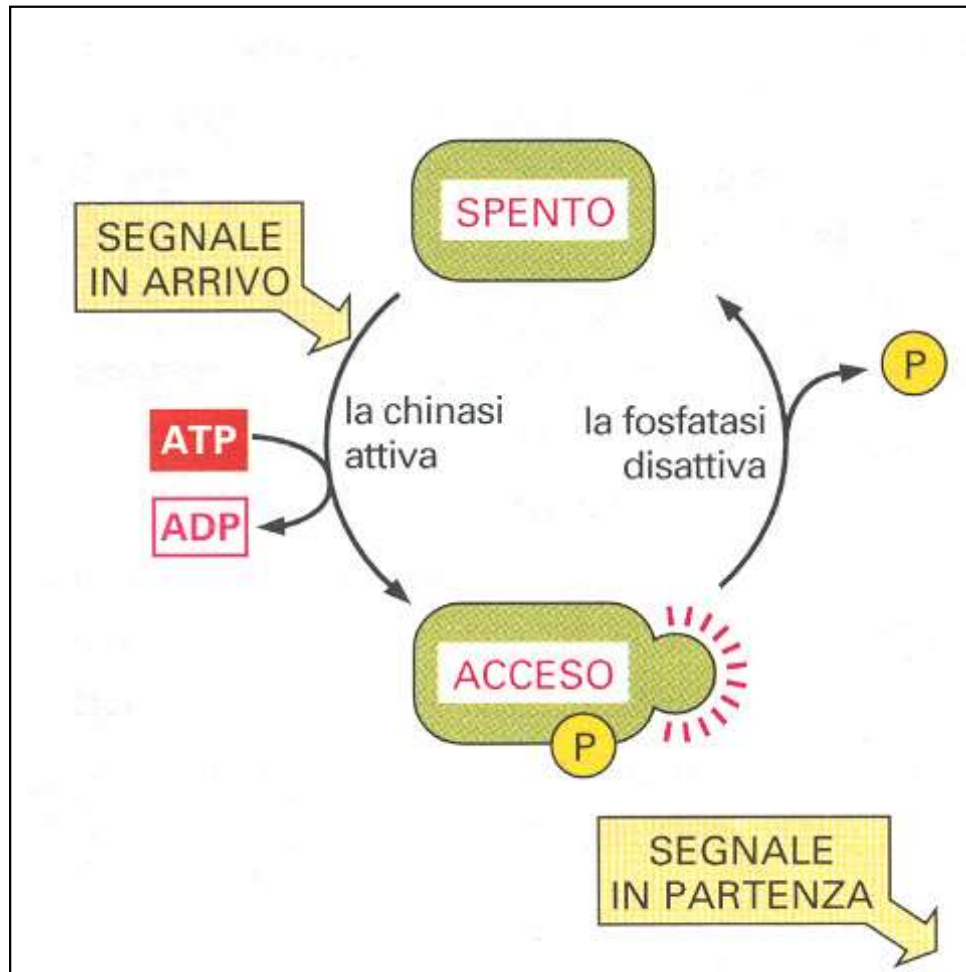
In che modo le cellule bersaglio si desensibilizzano ad una segnalazione costante?



Vietate riproduzione, vendita e
copia

Quali meccanismi molecolari
vengono usati per tradurre il
segnale extracellulare?

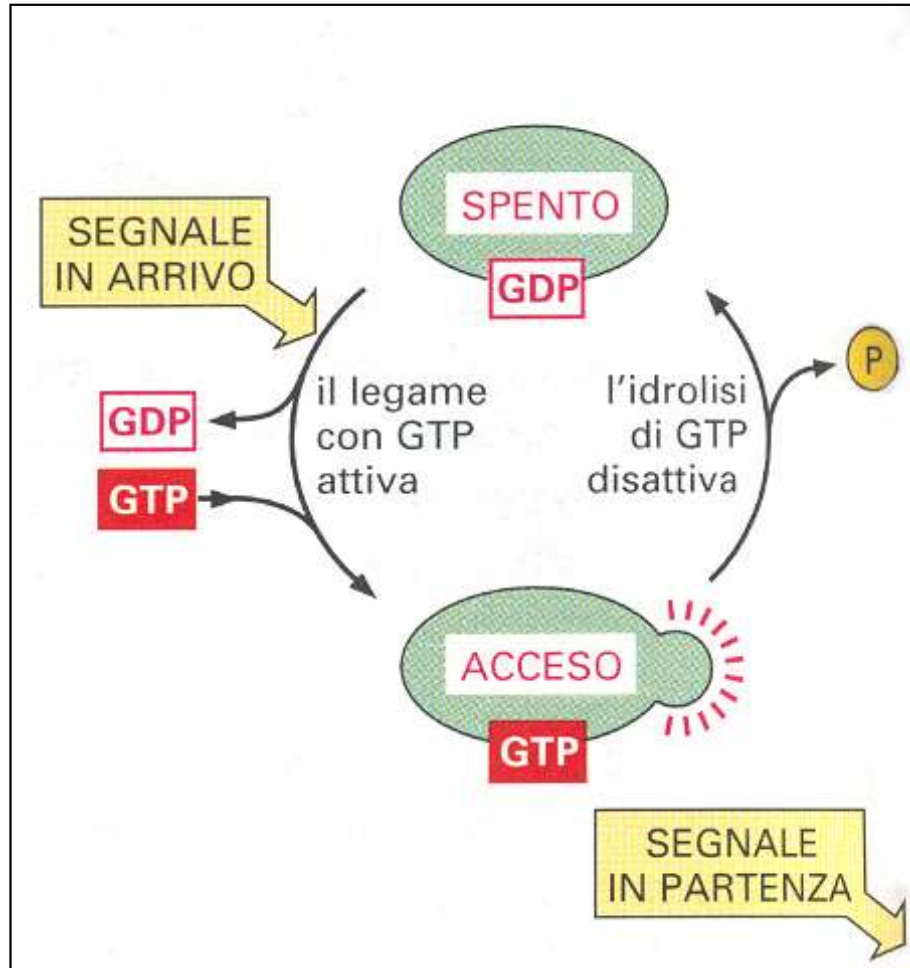
- Molte proteine di segnalazione agiscono su interruttori molecolari basati su **fosforilazione/defosforilazione**



Attivazione per fosforilazione

Vietata riproduzione, vendita e
copia

- o scambio GTP/GDP

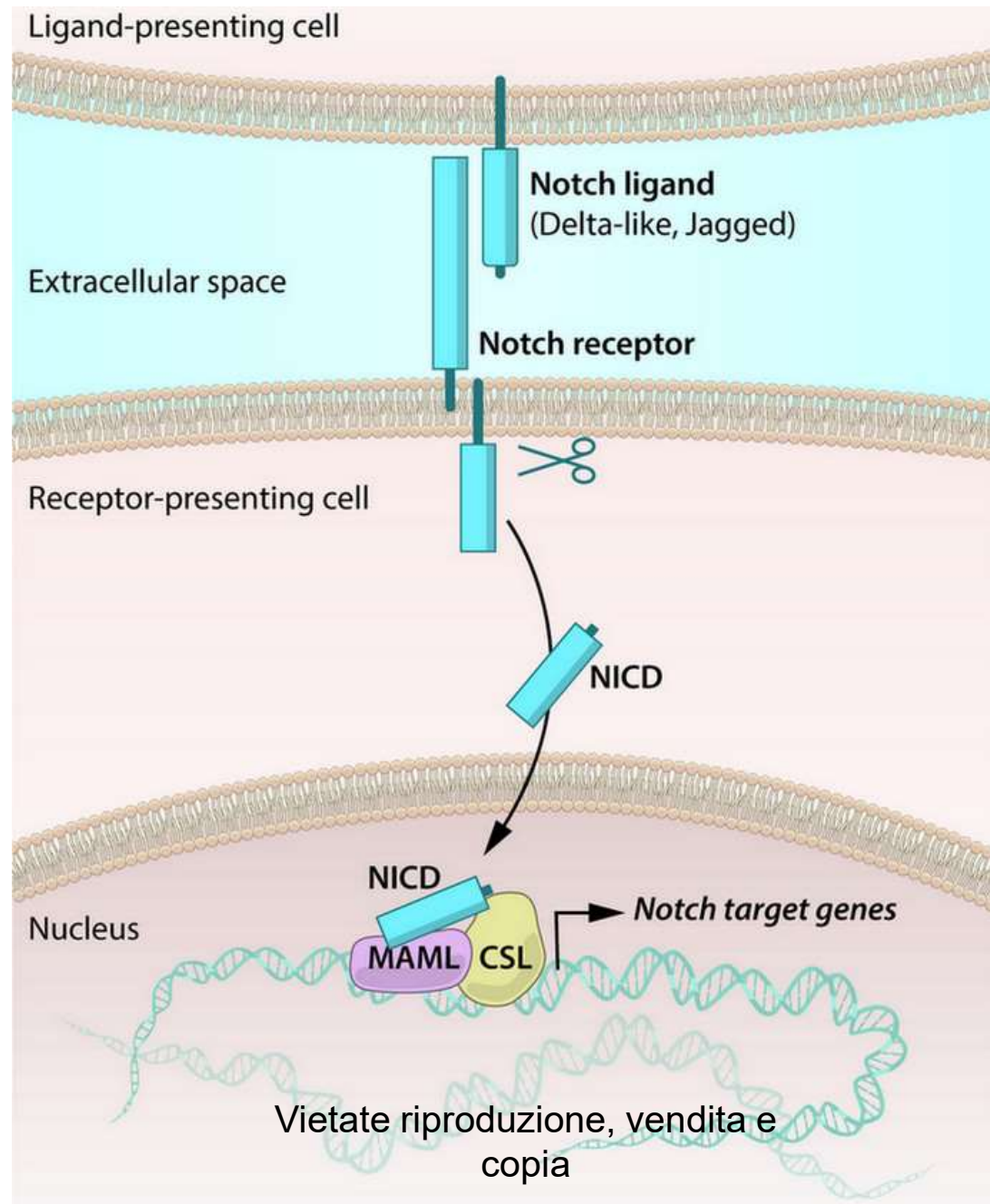


Attivazione per scambio GTP/GDP

Lo spegnimento degli interruttori molecolari è altrettanto importante dell'accensione

Vietate riproduzione, vendita e
 copia

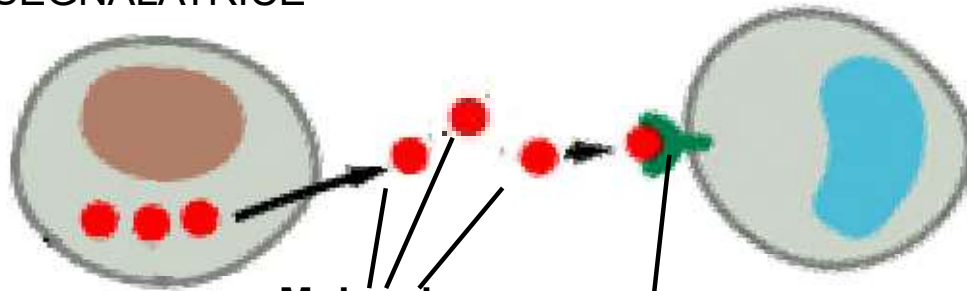
Altro meccanismo di segnalazione è il taglio proteolitico



Modalità di segnalazione

CELLULA
SEGNALATRICE

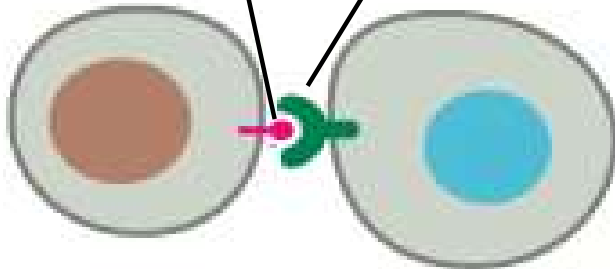
CELLULA
BERSAGLIO



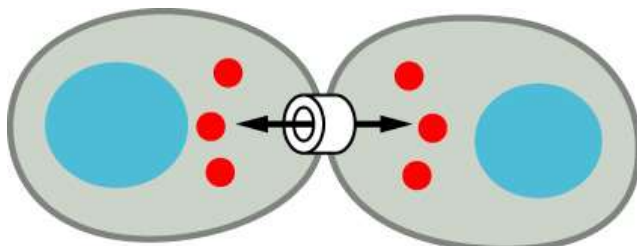
Segnalazione tramite molecole secrete

Molecola
segnale

Recettore



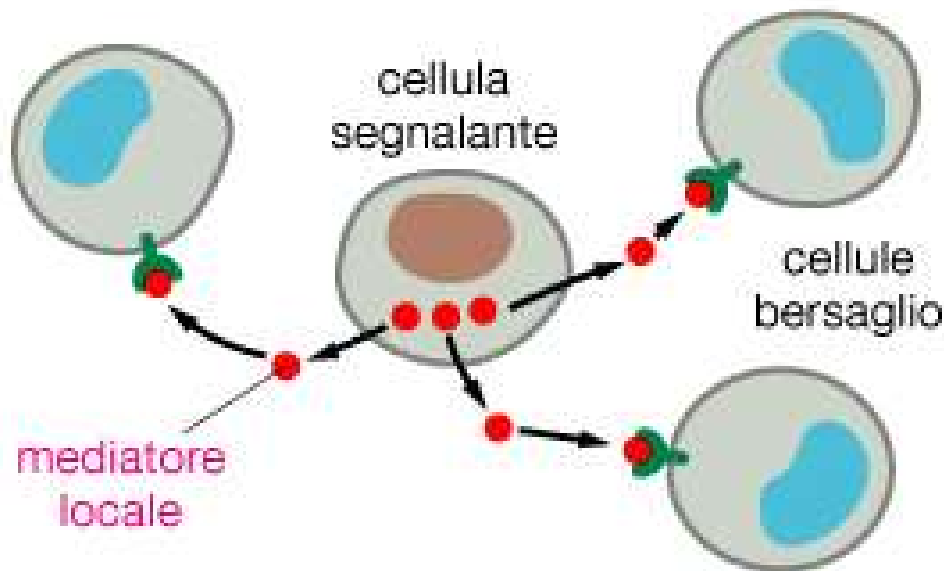
Segnalazione tramite molecole di membrana



Segnalazione tramite giunzioni gap

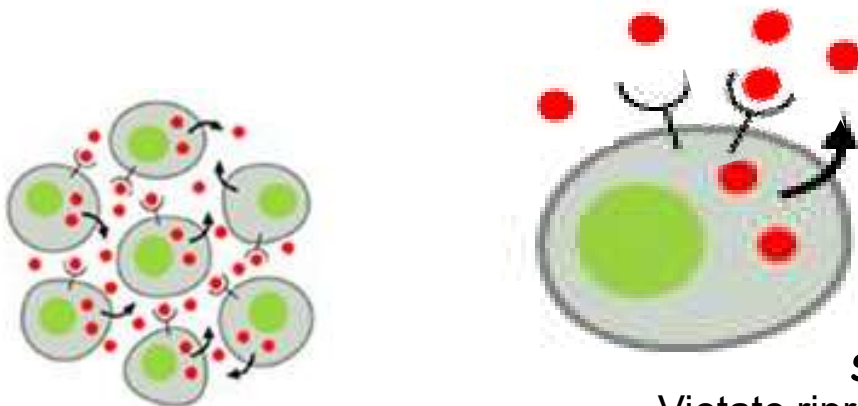
Vietate riproduzione, vendita e
copia

Segnalazione a breve distanza



PARACRINA

Le molecole segnale diffondono localmente nel mezzo extracellulare
(mediatori locali)

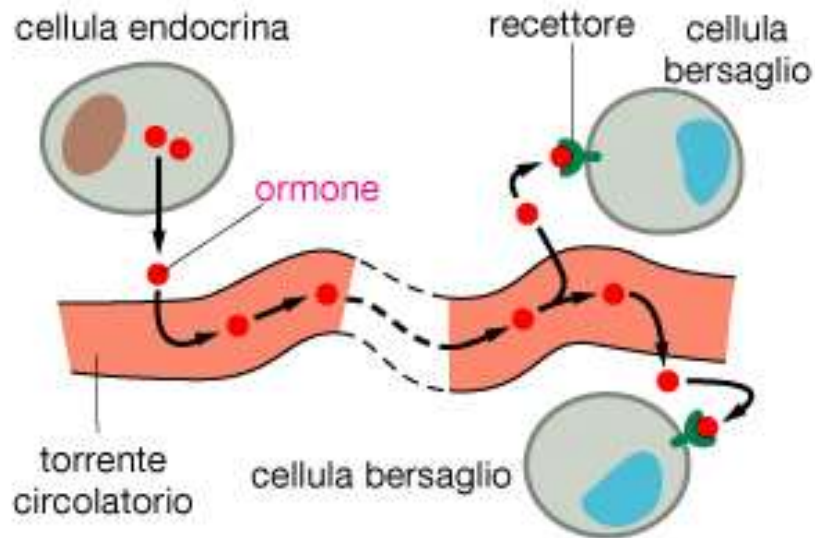


AUTOCRINA

La cellula può inviare segnali a sé stessa o a cellule dello stesso tipo

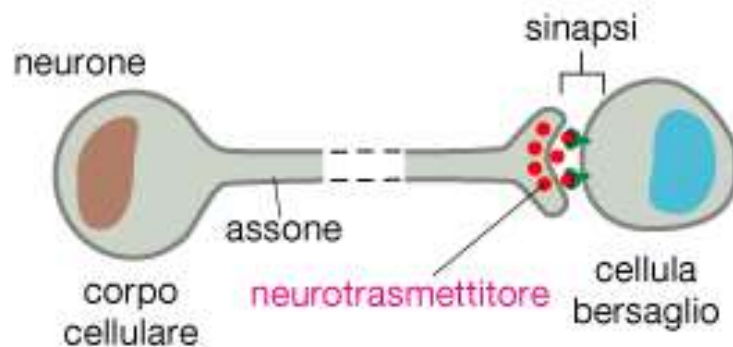
Vietate riproduzione, vendita e copia

Segnalazione a lunga distanza



ENDOCRINA

Le molecole segnale sono secrete nel circolo sanguigno (**ormoni**)

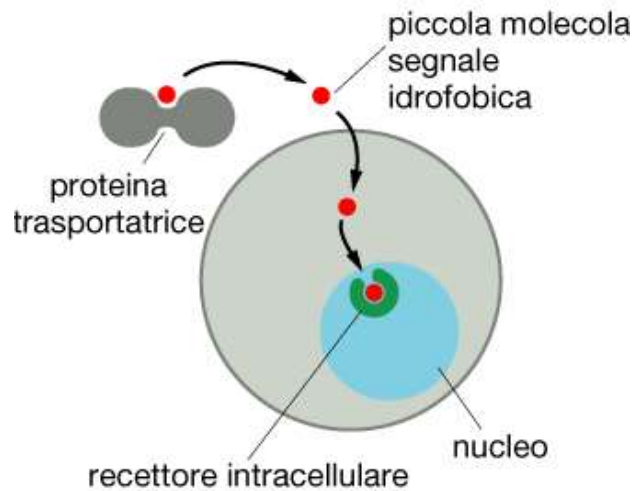


SINAPTICA

Un segnale elettrico viaggia lungo l'assone e una molecola segnale (**neurotrasmettitore**) viene secreta

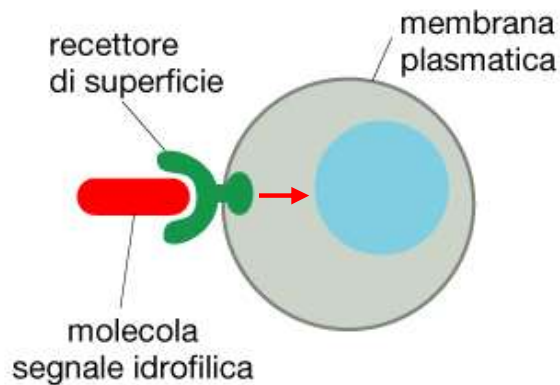
a livello della sinapsi
Vietate riproduzione, vendita e copia

Natura chimica dei segnali



MOLECOLE SEGNALE IDROFOBICHE

ormoni steroidei
ormoni tiroidei
retinoidi
ossido di azoto



MOLECOLE SEGNALE IDROFILICHE

proteine
peptidi
aminoacidi
nucleotidi

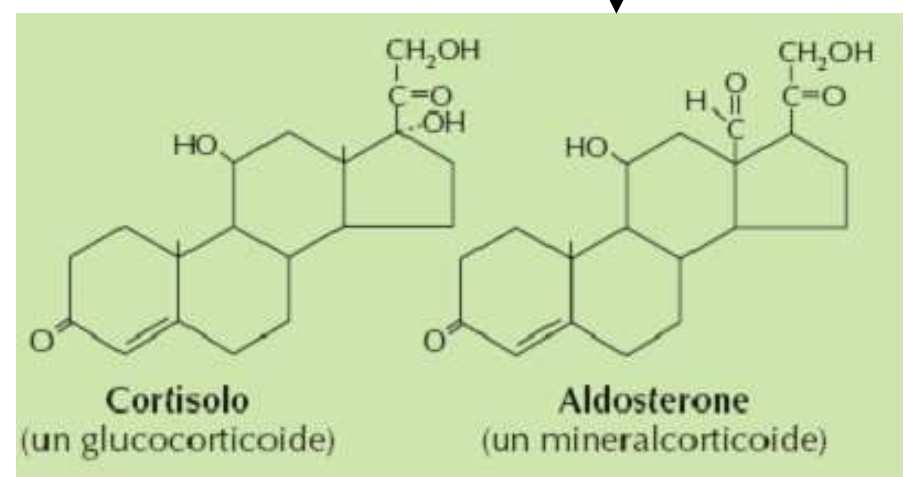
Vietata riproduzione, vendita e
copia

MOLECOLE SEGNALE IDROFOBICHE

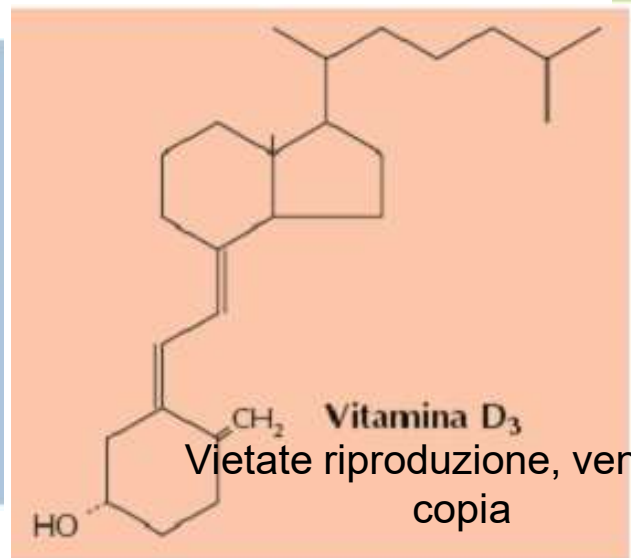
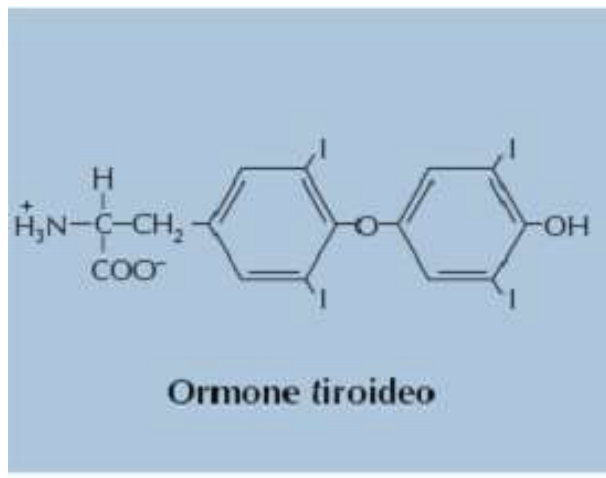


← steroidi sessuali

corticosteroidi

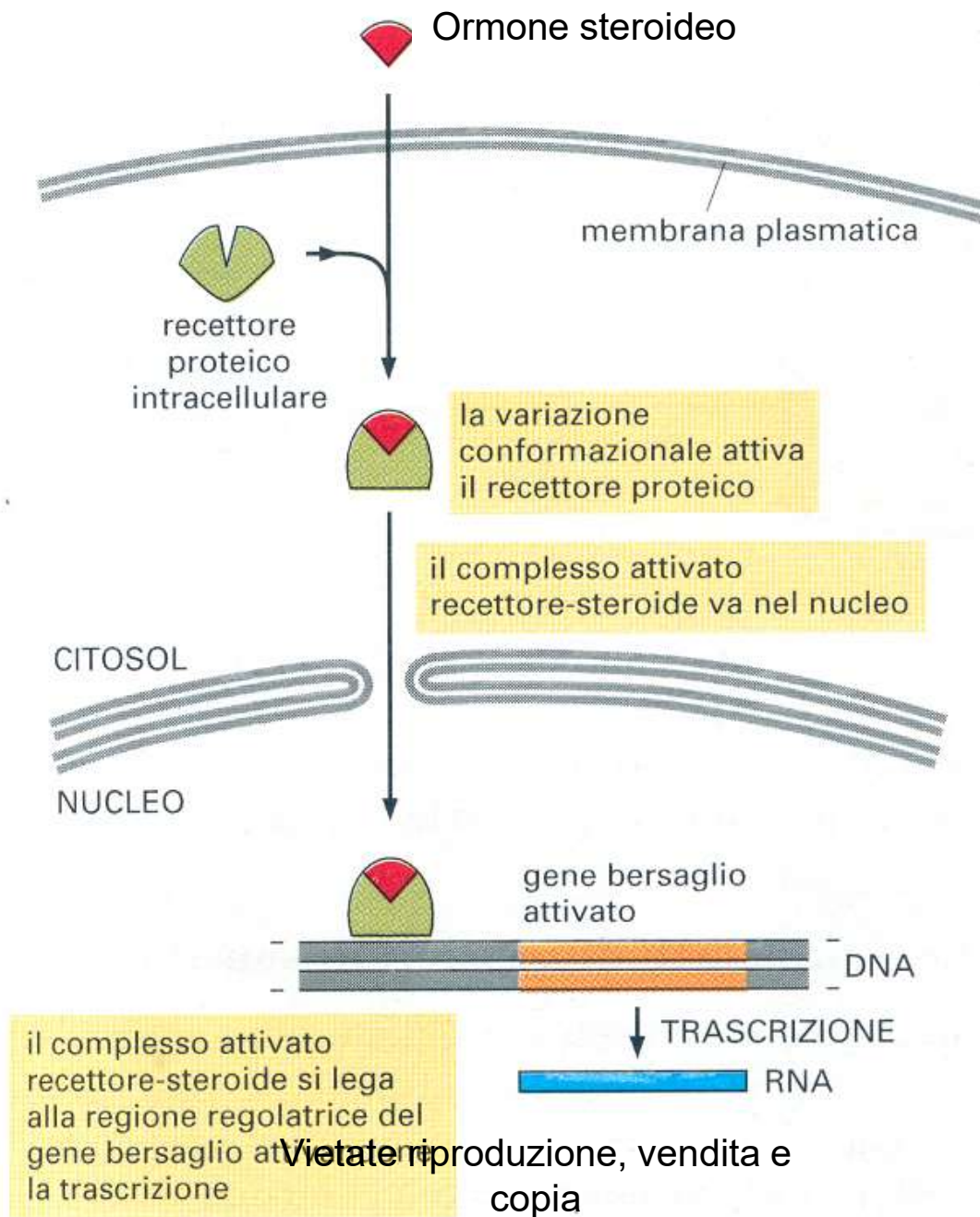


ORMONI STEROIDEI
(sintetizzati a partire dal colesterolo)

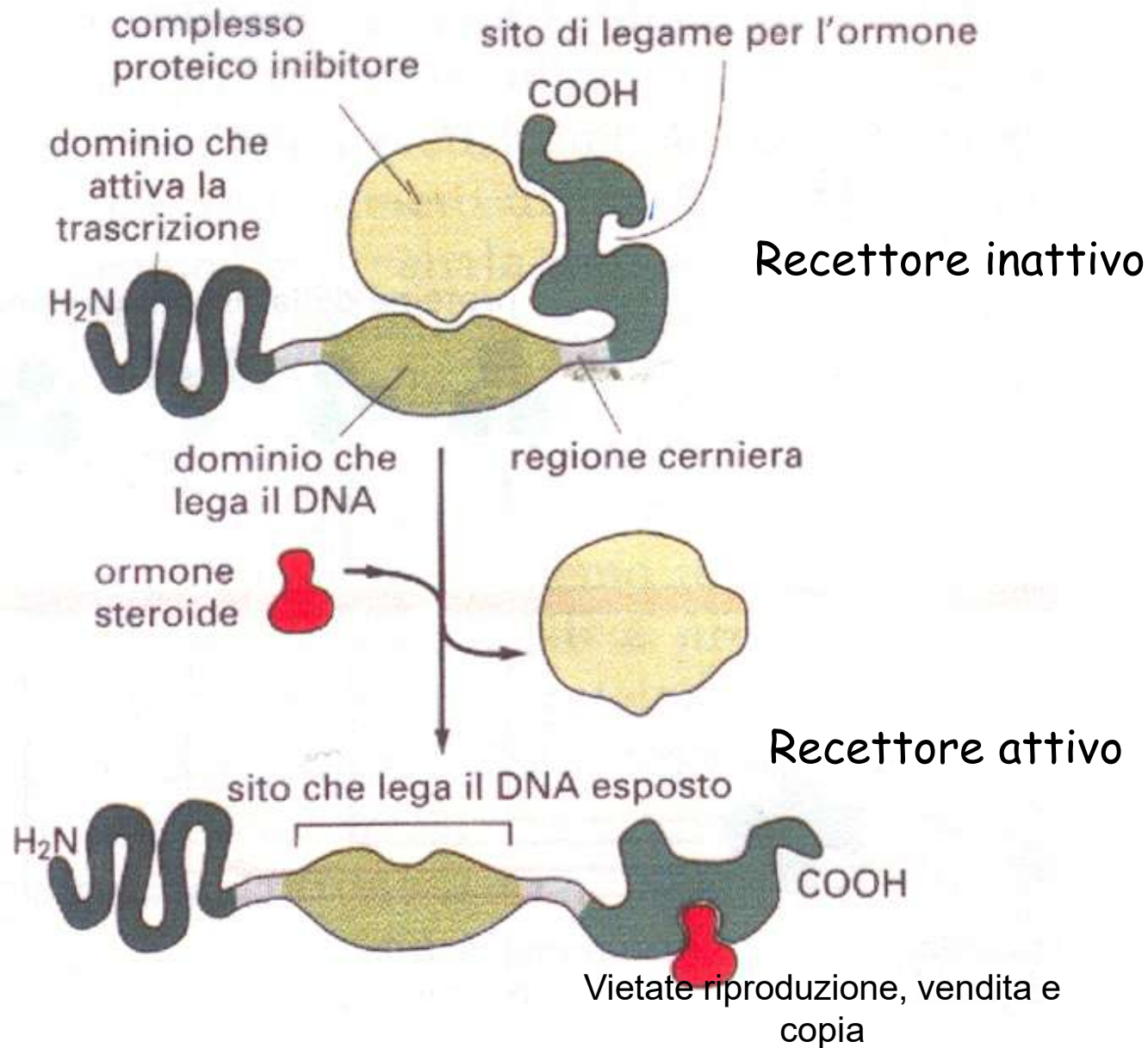


Vietate riproduzione, vendita e copia

Molte molecole segnale idrofobiche hanno come recettori delle proteine intracellulari che agiscono da regolatori della trascrizione

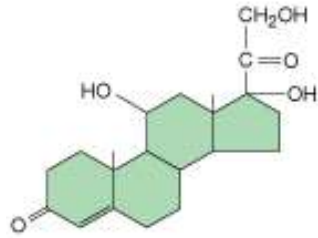


I recettori nucleari appartengono ad una **superfamiglia di fattori trascrizionali** correlati strutturalmente e funzionalmente



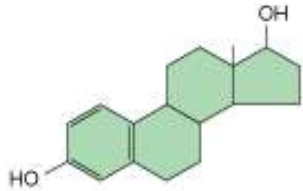
Il legame con il ligando libera da un inibitore il dominio di legame al DNA

Funzioni di alcune molecole segnale che si legano a recettori nucleari



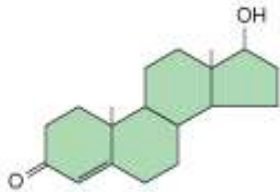
cortisolo

prodotto nella corticale del surrene, influenza il metabolismo di molte cellule, la risposta allo stress e le risposte immunitarie



estradiolo

prodotto nell'ovaio, influenza i caratteri sessuali secondari nella femmina



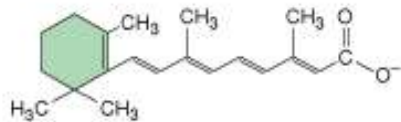
testosterone

prodotto nei testicoli, influenza i caratteri sessuali secondari nel maschio



tiroxina

prodotto nella tiroide, ha un ruolo nello sviluppo embrionale e aumenta la velocità metabolica in molti tipi cellulari



acido retinoico

mediatore locale con un ruolo importante nel differenziamento di molti tipi cellulari

Vietata riproduzione, vendita e
copia

La risposta agli ormoni steroidei, tiroidei e retinoidi dipende dalla cellula bersaglio

Il recettore è presente in tipi cellulari specifici.

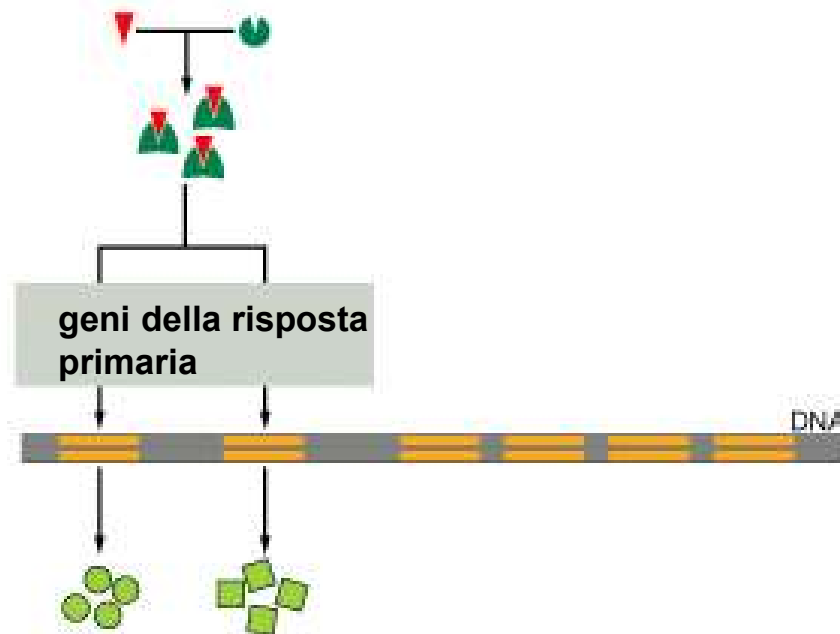
Ciascuno di essi può rispondere diversamente.

I geni attivati da uno stesso recettore sono diversi in diversi tipi cellulari (cofattori tessuto-specifici)

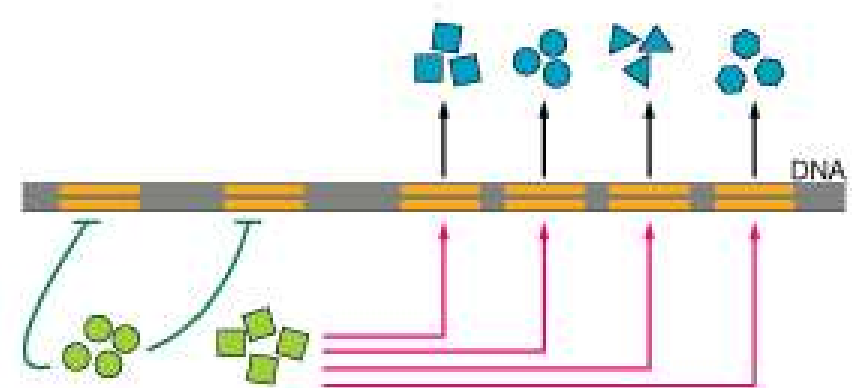
Alcune delle proteine della risposta primaria accendono i geni della risposta secondaria.

In alcuni casi sono questi ultimi ad essere accesi in maniera tessuto specifica

Risposta primaria precoce



Risposta secondaria ritardata

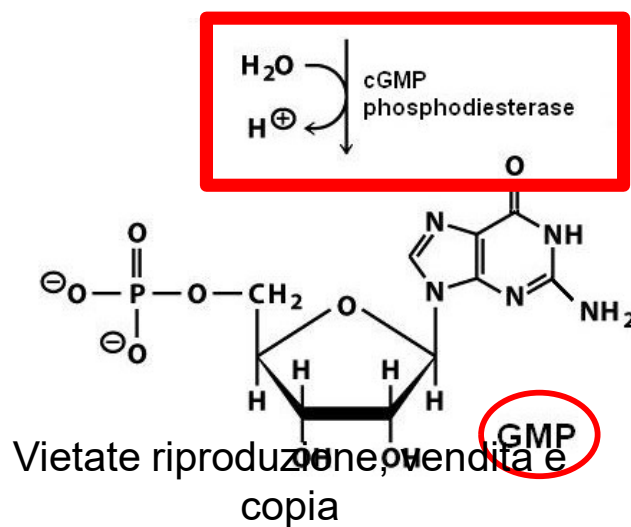
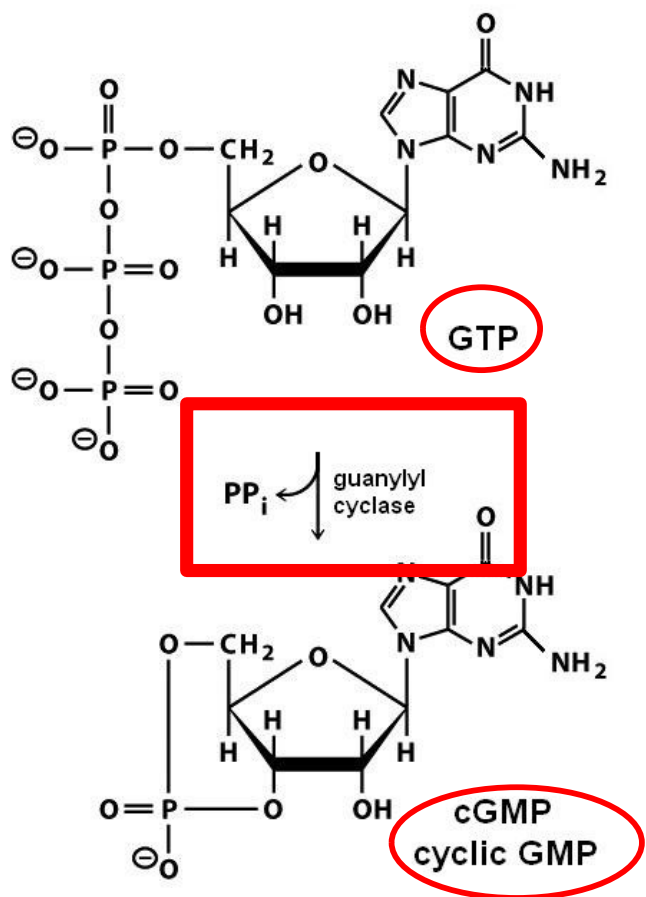


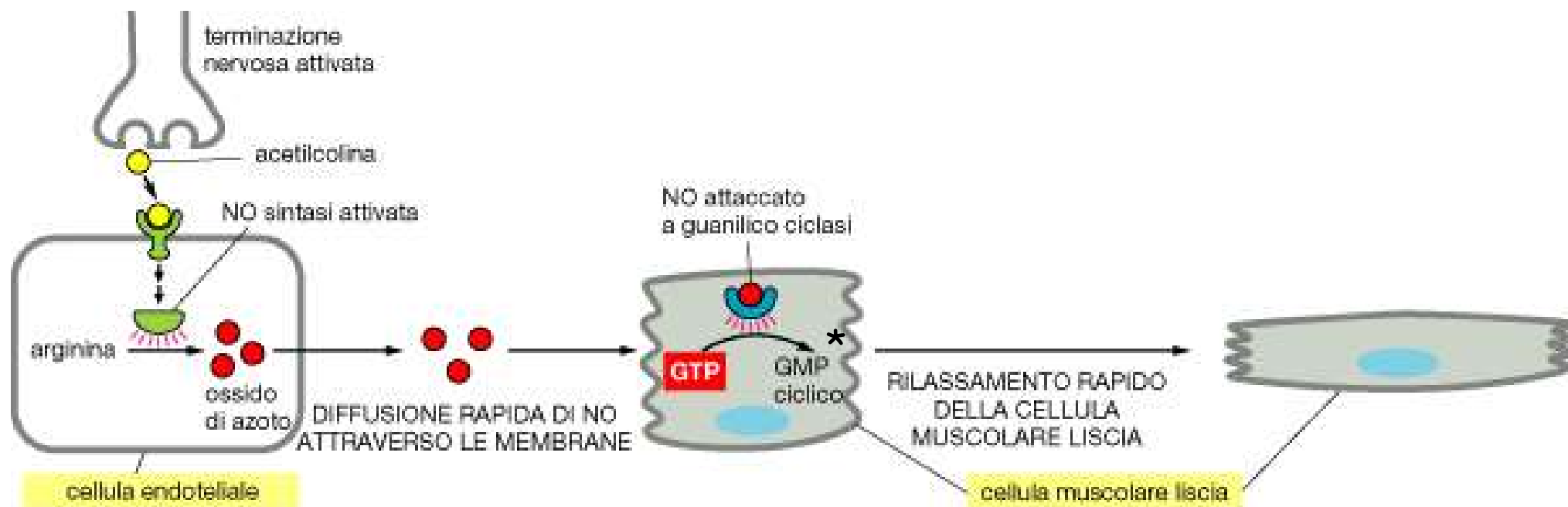
Vietate riproduzione, vendita e
copia

geni della risposta
secondaria

La risposta ad una stimolazione ormonale non passa necessariamente attraverso la modulazione dell'espressione genica

Per **risposte rapide** la **strategia enzimatica** è la più efficace:
l'ossido di azoto (NO) segnala legandosi direttamente ad un enzima
 all'interno della cellula bersaglio: in molte cellule bersaglio **NO si lega alla**
guanilato ciclasi, che catalizza la **formazione di GMP ciclico**, segnale
 intracellulare che porta alla risposta finale: rilassamento delle cellule
 muscolari lisce e conseguente **vasodilatazione**





*cGMP attiva una proteina chinasi che favorisce la produzione, e nella e
 proteina contrattili e strutturali citoscheletriche
 copia

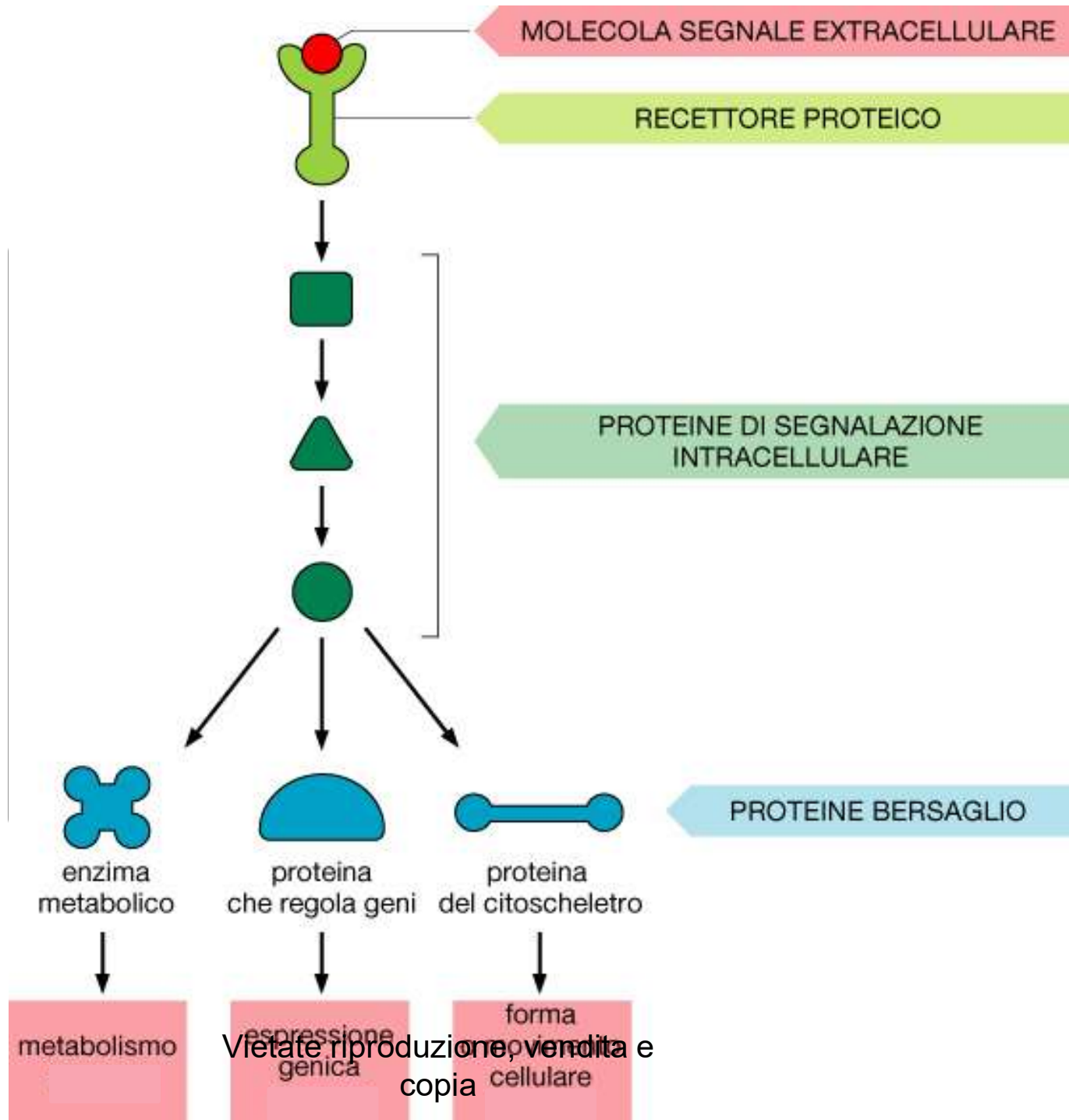
Pazienti con **angina pectoris (ischemia miocardica)** sono trattati con **nitroglicerina**, che nel corpo si converte in **NO** e fa rilassare le arterie coronarie.

Nella **respirazione artificiale** e nel **trattamento di neonati** di 34 settimane di gestazione o più, affetti da insufficienza respiratoria ipossica, il NO determina vasodilatazione dei vasi polmonari migliorando lo scambio gassoso a livello degli alveoli.

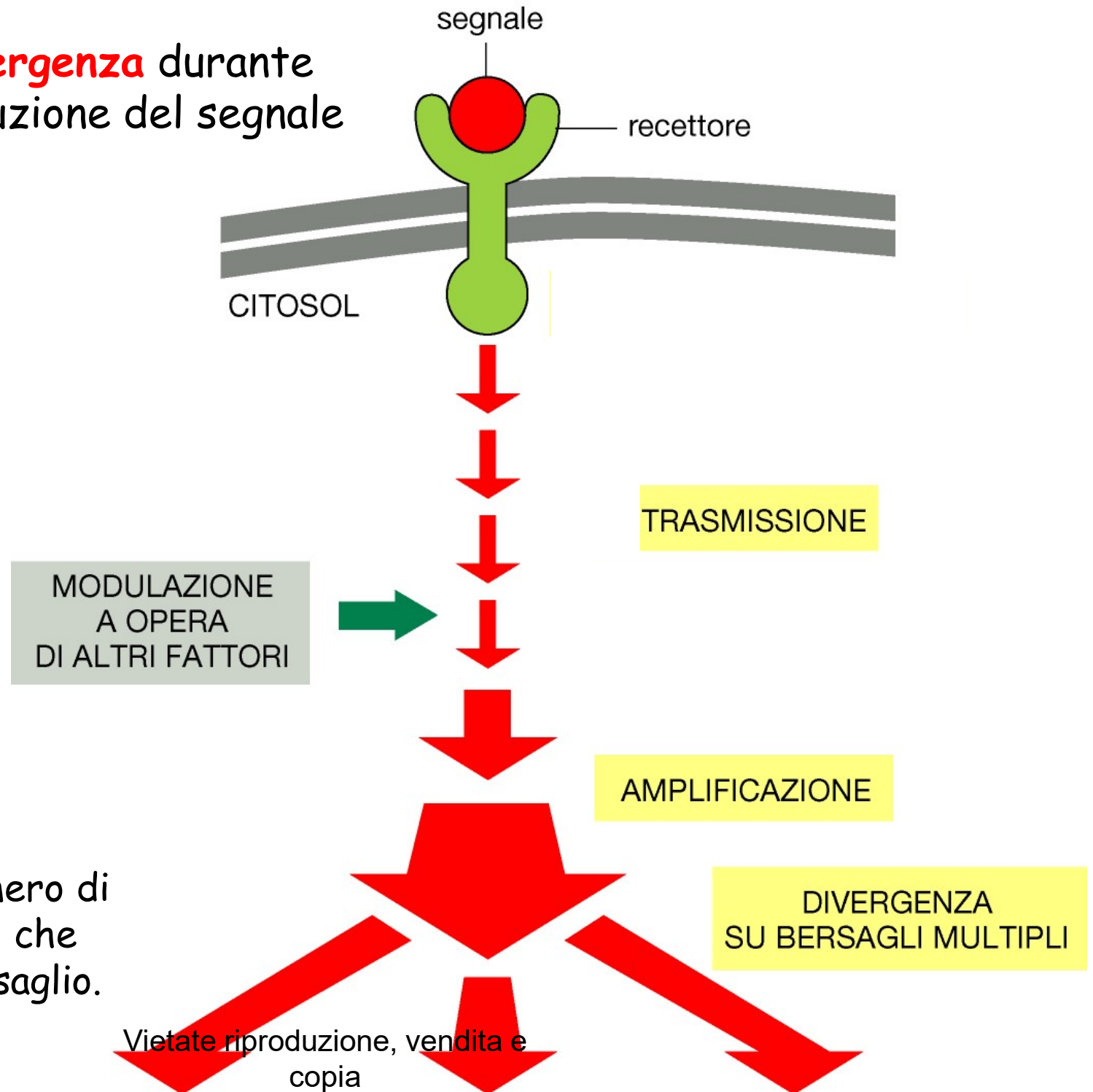
L'**insufficienza erettile** viene trattata con un inibitore della fosfodiesterasi dei corpi cavernosi (sildenafil, VIAGRA)

MOLECOLE SEGNALE IDROFILICHE

Trasduzione del segnale



Amplificazione e divergenza durante la "cascata" di trasduzione del segnale



L'amplificazione può intendersi sia per numero di molecole del bersaglio che per tipi diversi di bersaglio.

Tipi di recettori trans-membrana

Recettori con funzione di
canali ionici
(molti neurotrasmettitori)

Recettori collegati a
proteine G
*(la maggior parte degli
ormoni idrosolubili)*

Recettori con **attività
enzimatica**
*(recettori per fattori di
crescita e recettore del
TGFbeta)*

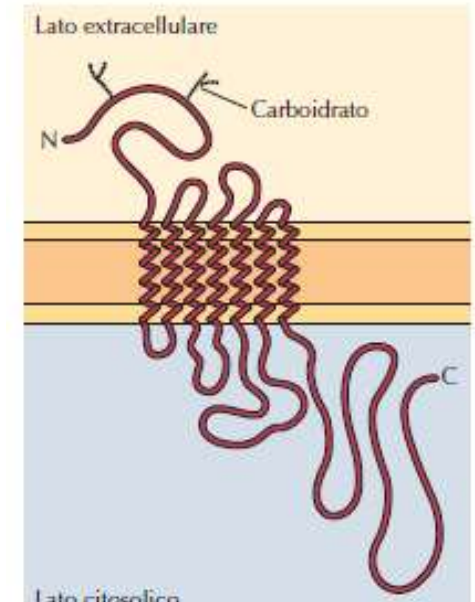
Recettori associati a
enzimi *(recettori per le
interleuchine)*

Vietata riproduzione, vendita e
copia

La famiglia dei recettori collegati a proteine G (GPCR)

Più di un migliaio di recettori

7 segmenti transmembrana

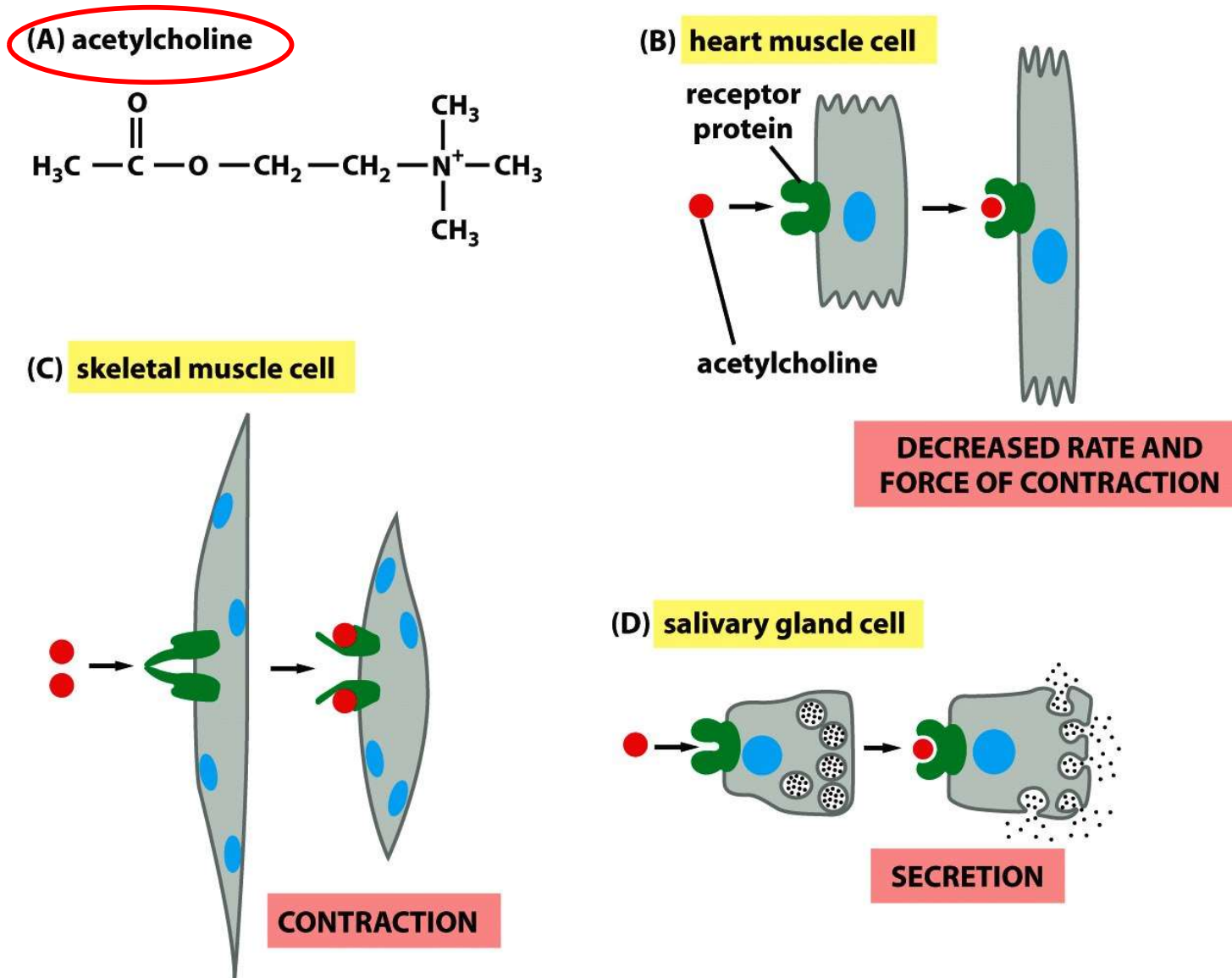


Molecole segnale: proteine, peptidi, lipidi e altre piccole molecole

Numerosissime funzioni biologiche

Bersaglio del 40-50% dei farmaci utilizzati

Uno stesso tipo di segnale extracellulare può indurre varie risposte

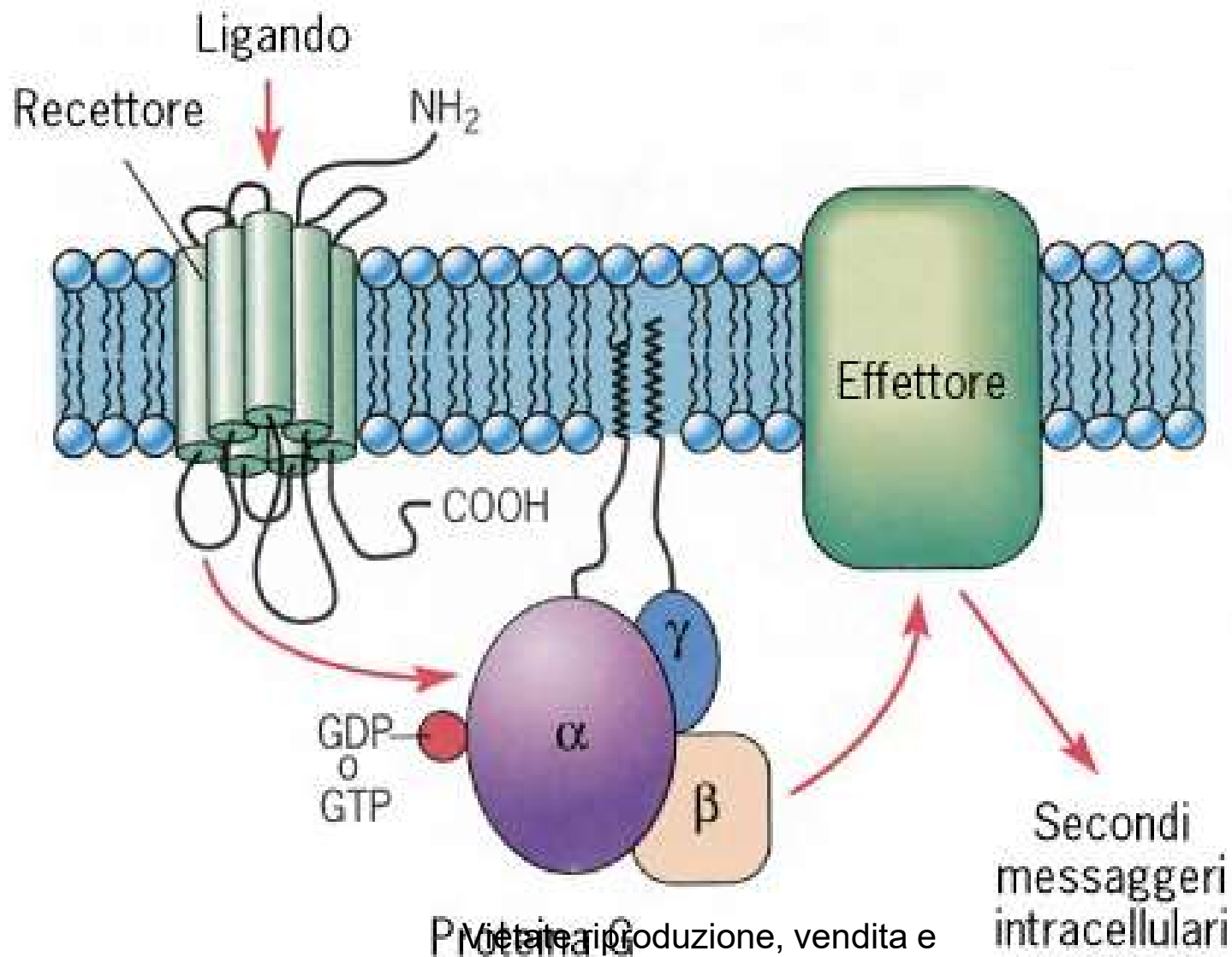


- tipo di recettore
 - tipo di proteine G a cui è accoppiato il recettore
 - effettori attivati nella cellula
- Vieta la riproduzione, vendita e copia

I **recettori** agiscono indirettamente nella regolazione di proteine bersaglio intracellulari.

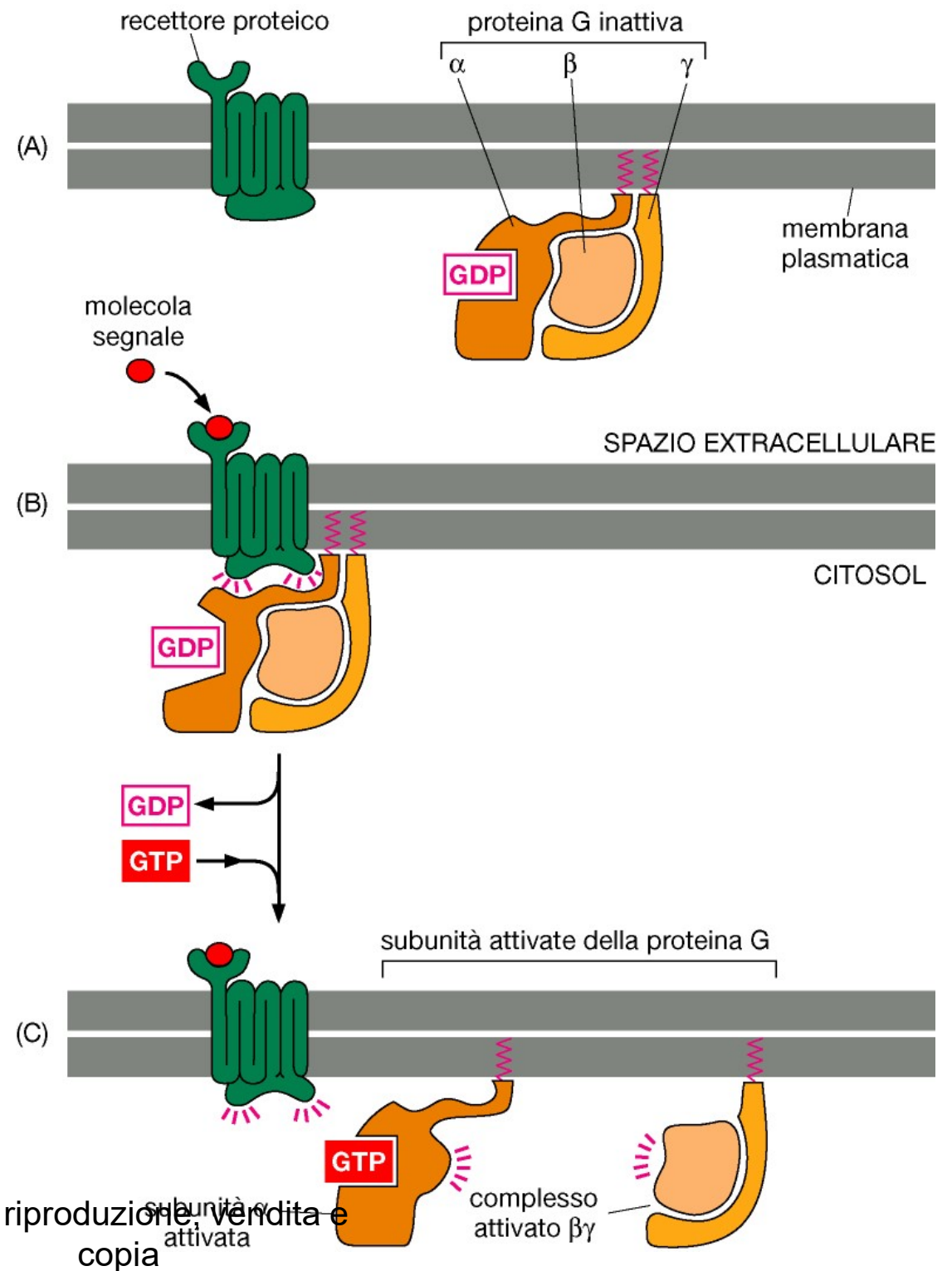
L'azione è mediata da **proteine che legano GTP o GDP**
(proteine G)

Le proteine G trimeriche



Proteina G
Metatecna, produzione, vendita e
copia

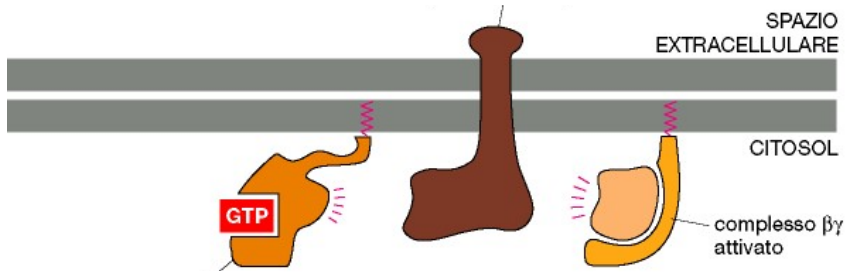
In seguito all'attivazione del recettore la proteina G sostituisce il GDP con il GTP e si dissocia



La subunità α /GTP (in alcuni casi anche il complesso $\beta\gamma$), fa partire un segnale intracellulare

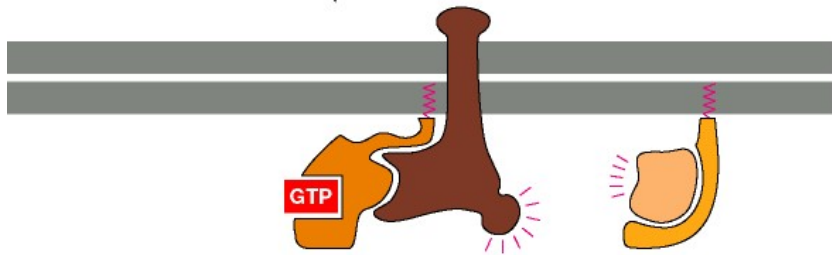
Vietate riproduzione, vendita e copia

Effettore

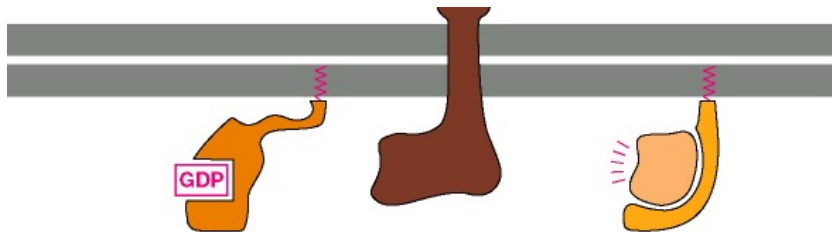


Subunità α attivata

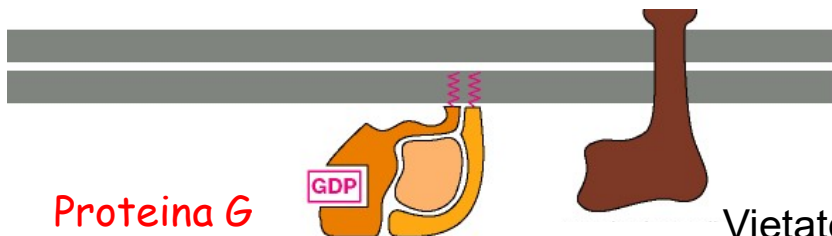
Attivazione dell' effettore da parte della subunità α attivata



L'idrolisi di GTP da parte della subunità α la inattiva e ne provoca la dissociazione dall'effettore



La subunità α inattiva si riassocia con il complesso $\beta\gamma$ per riformare una proteina G inattiva



Proteina G inattiva

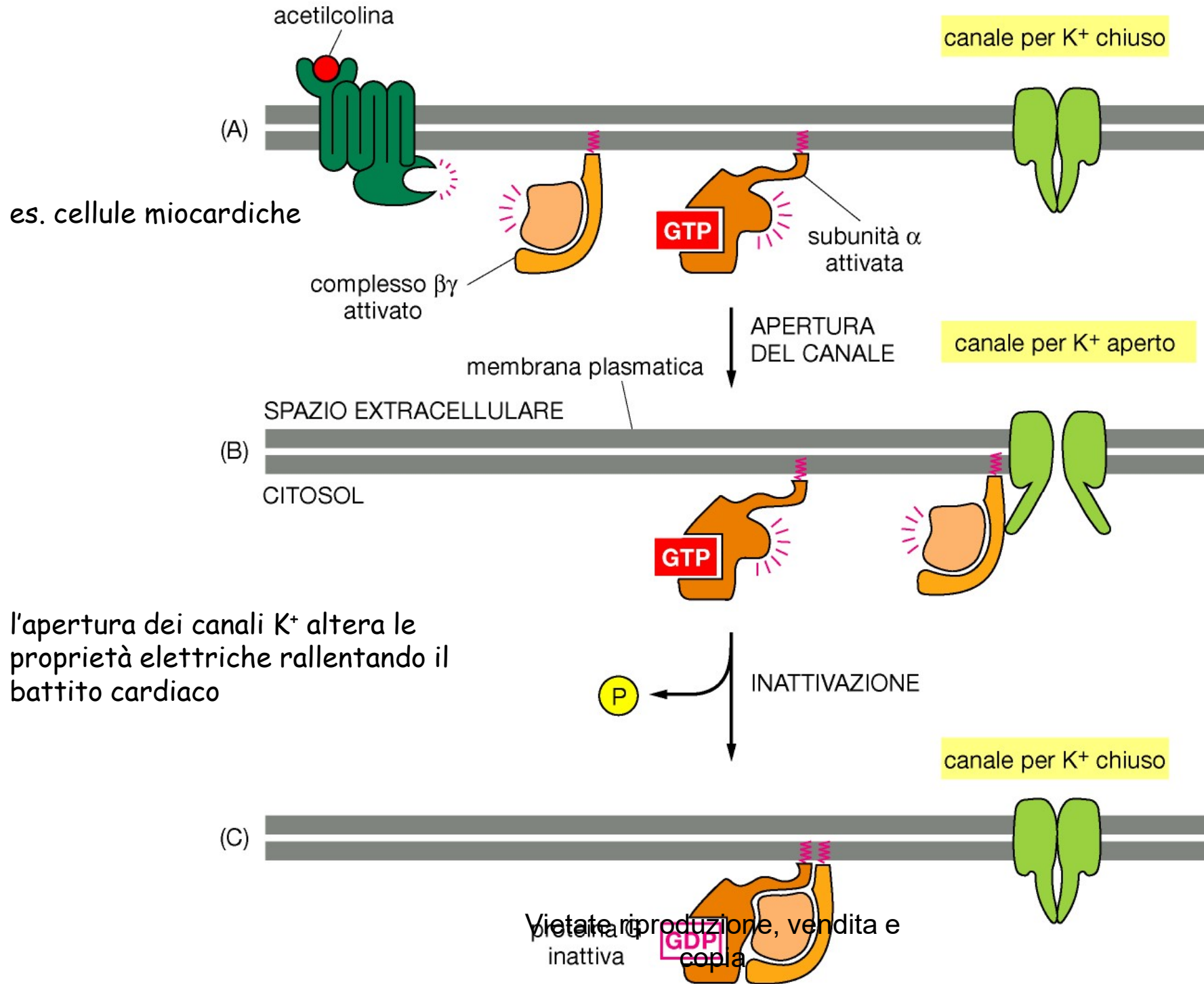
Effettore inattivo

Vietate riproduzione, vendita e copia

La subunità α della proteina G, dopo aver attivato l'effettore, si autodisattiva

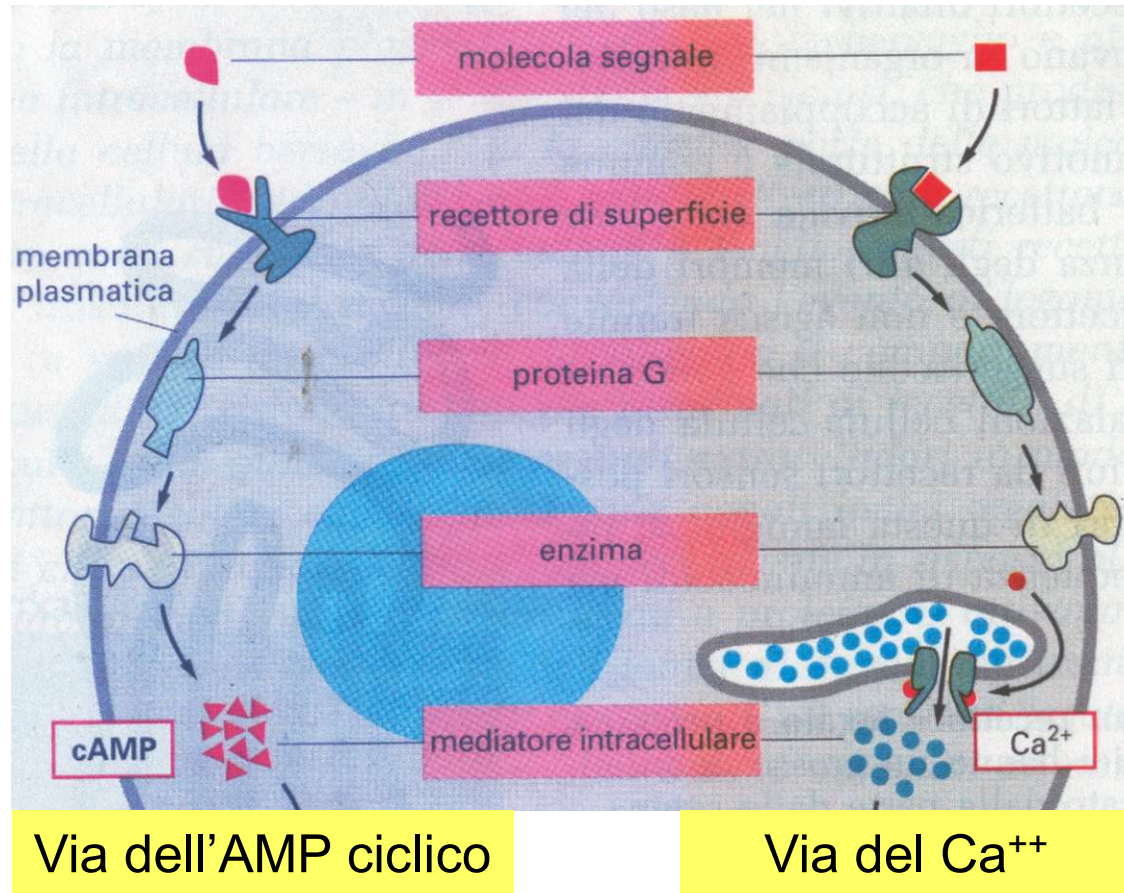
L'effettore può essere un canale ionico o un enzima.

ALCUNE PROTEINE G REGOLANO CANALI IONICI



ALCUNE PROTEINE G ATTIVANO ENZIMI LEGATI ALLA MEMBRANA

**ADENILATO
CICLASI**



FOSFOLIPASI C

Due vie attivate dalle proteine G tramite due diversi enzimi effettori

VIA DELL'AMP CICLICO

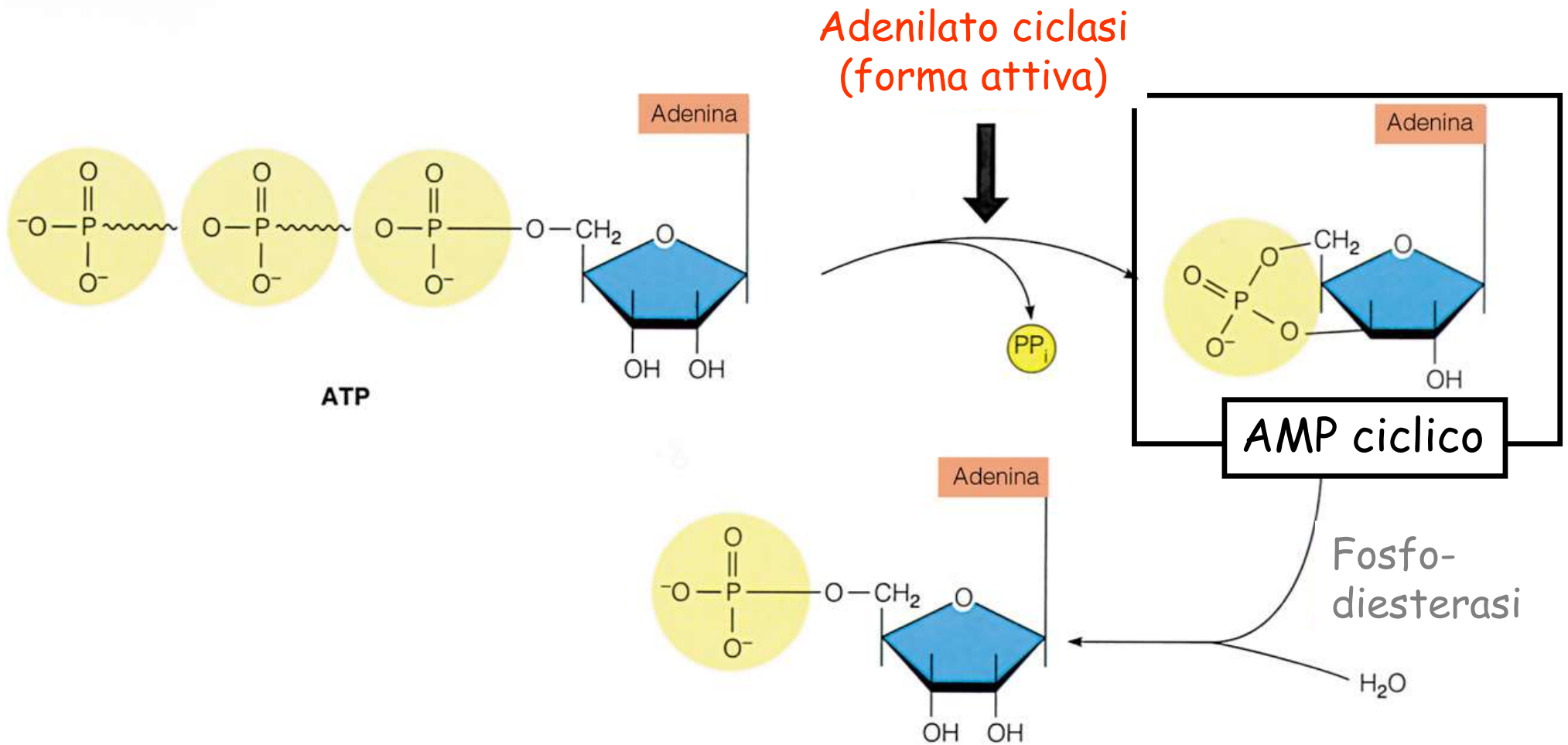
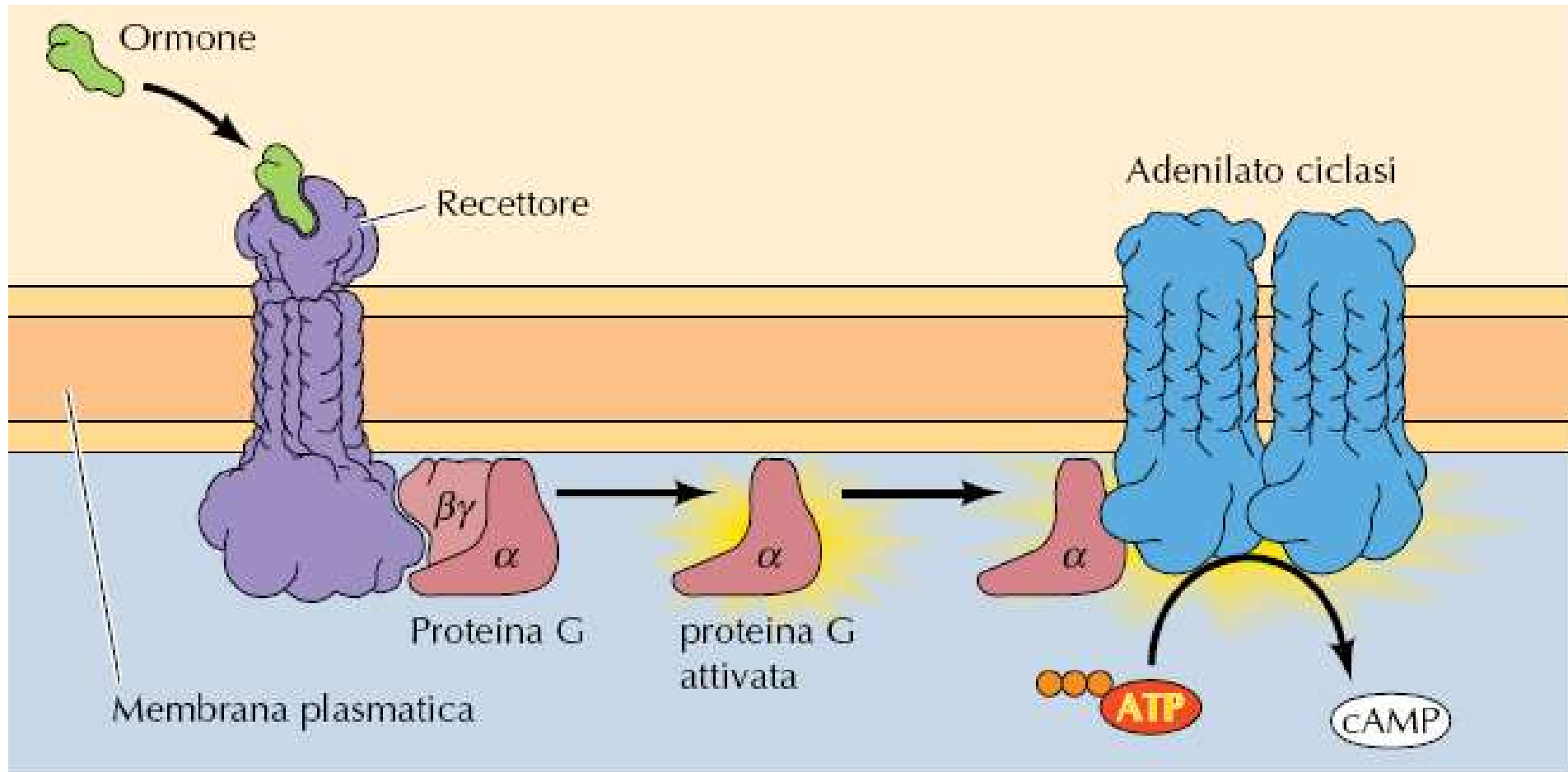


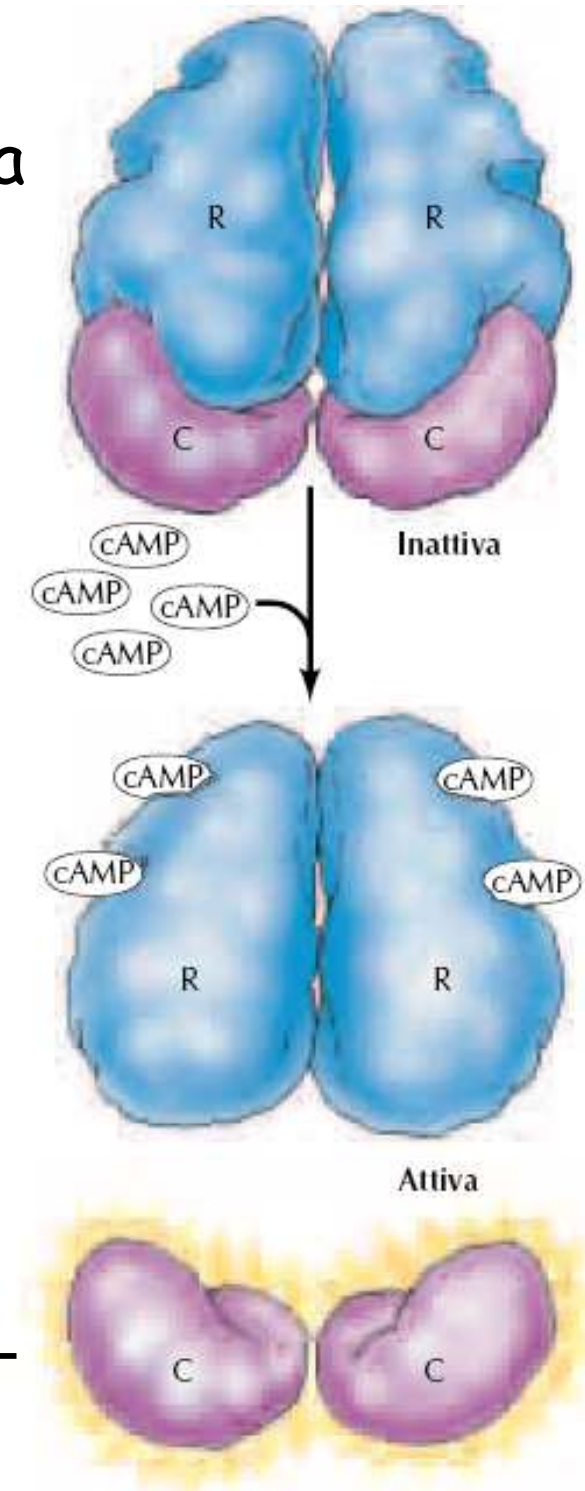
Figura 10-5

Molte proteine G segnalano regolando la concentrazione di AMP ciclico (cAMP)



Il cAMP funziona da **secondo messaggero**
Vietate riproduzione, vendita e
copia

Il cAMP attiva una protein chinasi chiamata Protein chinasi dipendente da cAMP o Protein chinasi A (PKA)

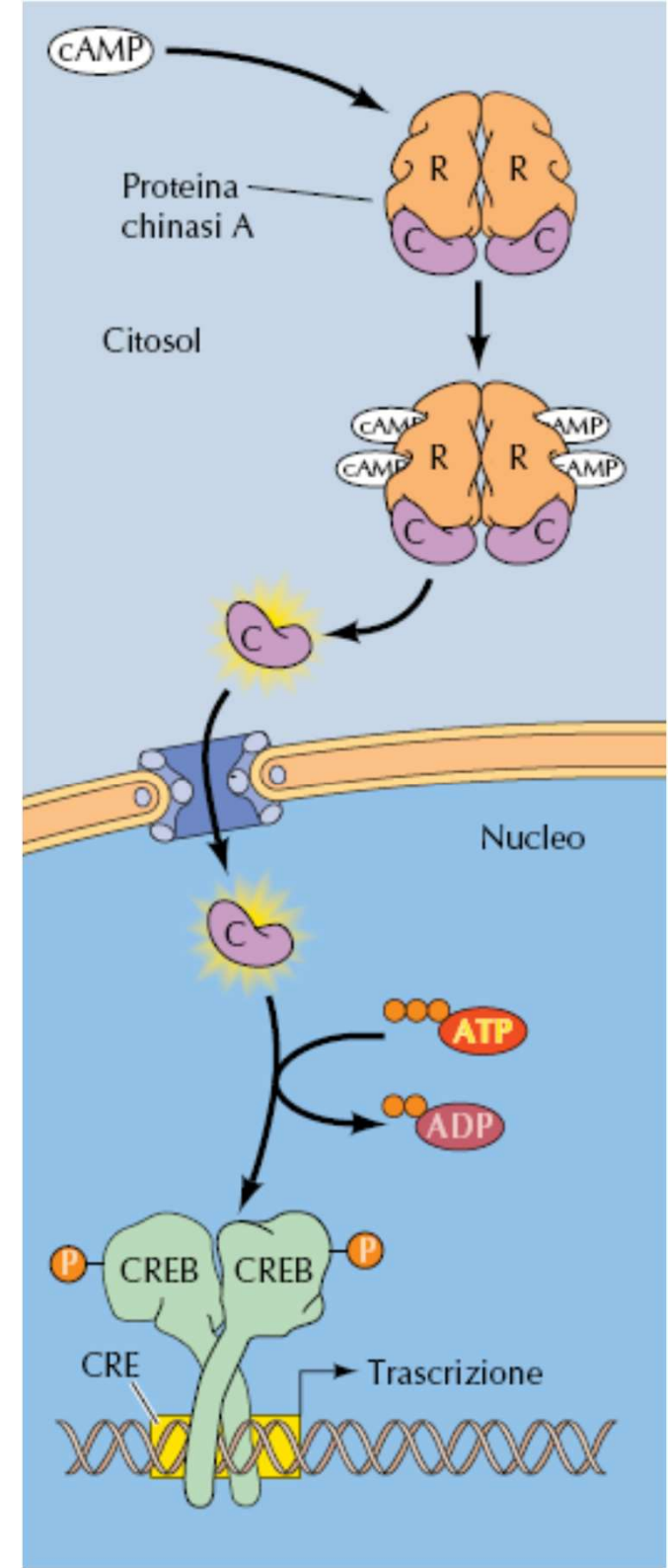


La PKA ha diverse funzioni

Fosforilazione di altri enzimi del metabolismo, proteine strutturali, canali ionici o intermedi della via di trasduzione del segnale.

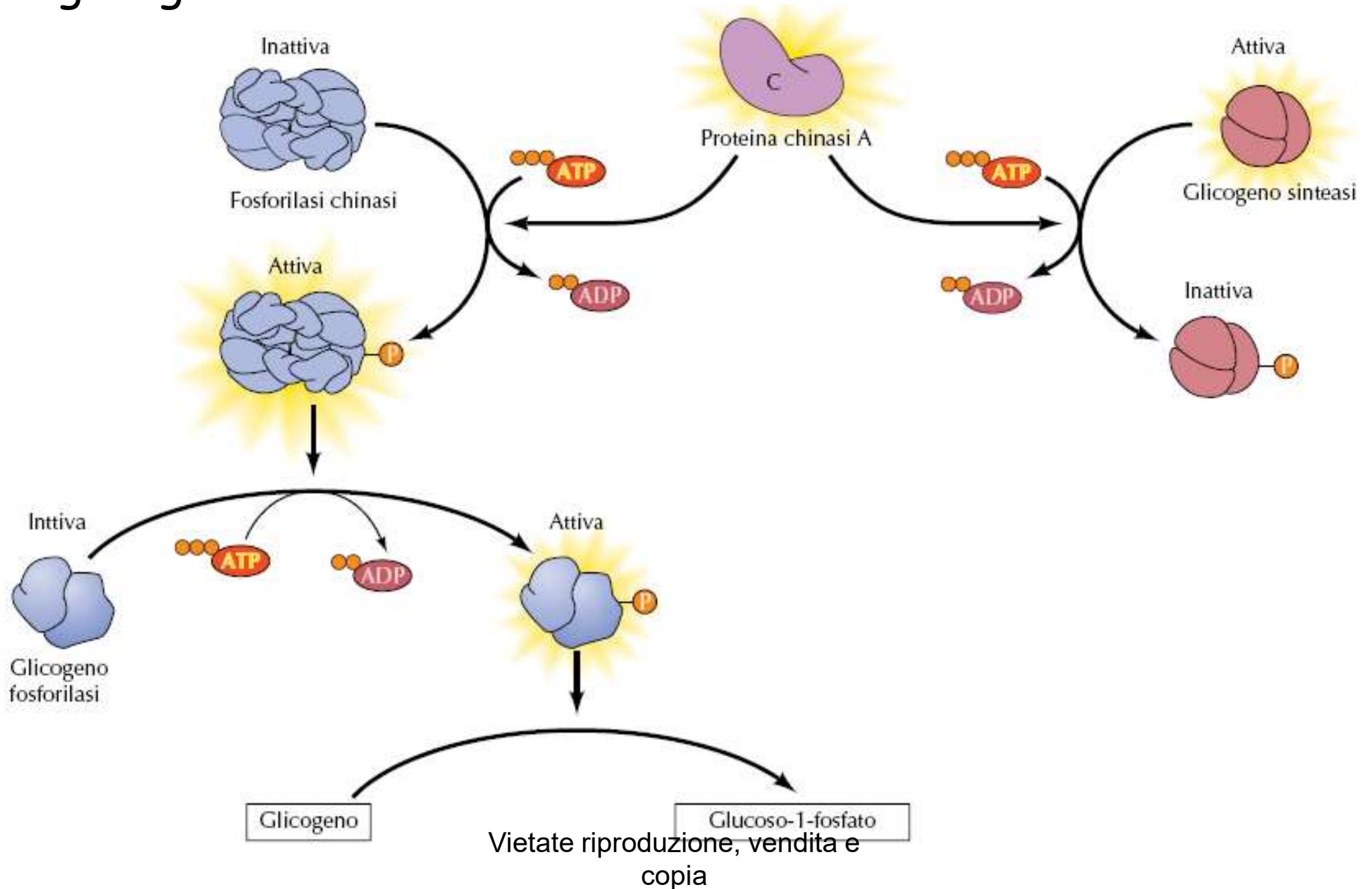
via di riproduzione, vendita e copia

1) La PKA attivata fosforila il fattore trascrizionale CREB e induce l'espressione di geni che contengono una sequenza regolativa chiamata CRE (elemento di risposta al cAMP)



Vietata riproduzione, vendita e
copia

2) La PKA attivata fosforila enzimi coinvolti nel metabolismo del glicogeno



La mobilizzazione del glucosio nelle cellule del muscolo scheletrico

adrenalina



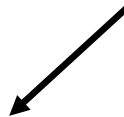
Recettore/proteina G



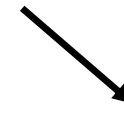
cAMP



PKA (nel citoplasma)



Fosforilazione della fosforilasi chinasi → fosforilazione della glicogeno fosforilasi = degradazione del glicogeno a glucosio 1P



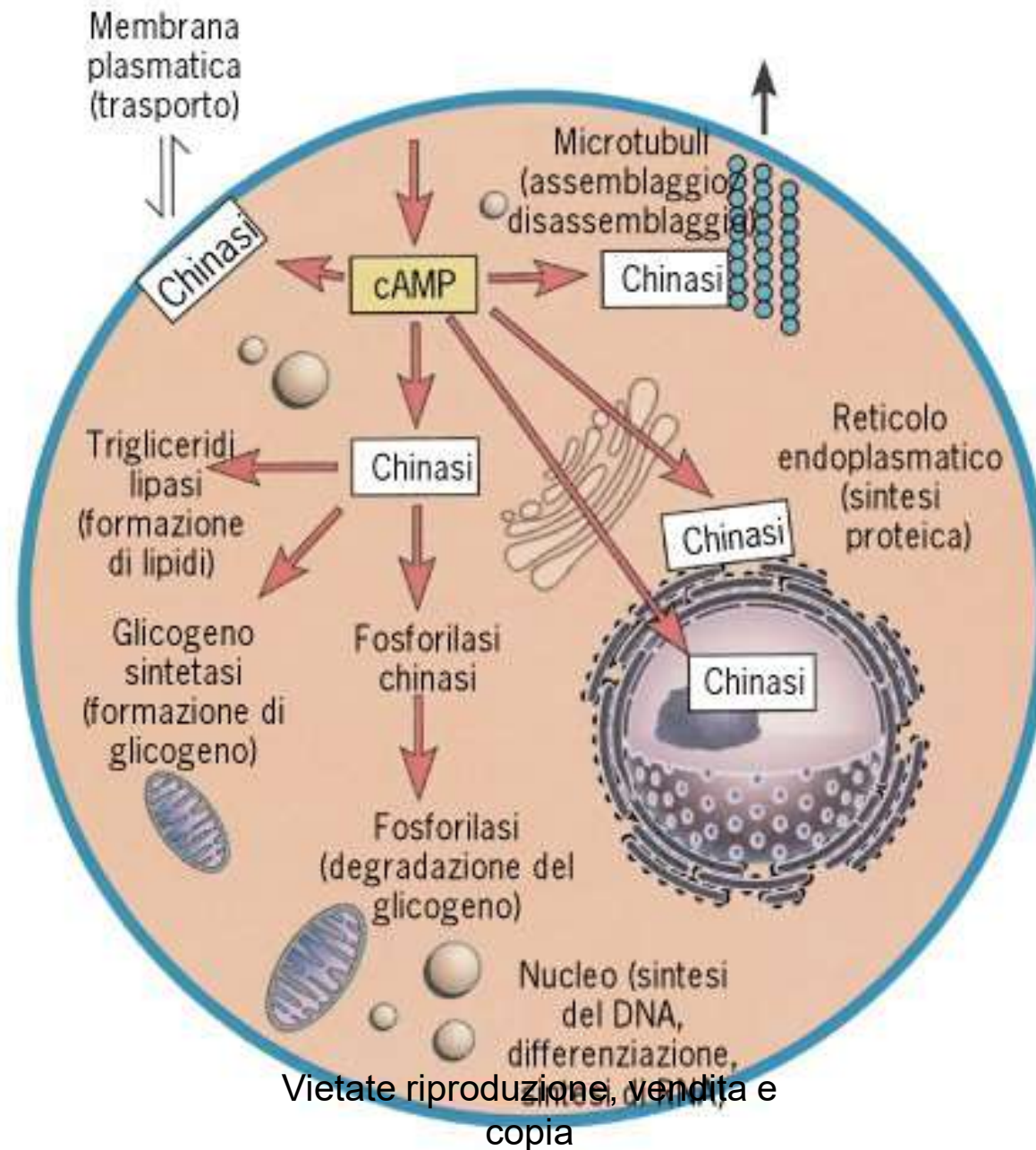
Fosforilazione della glicogeno sintetasi = blocco della sintesi del glicogeno

Amplificazione del segnale che porta alla degradazione del glicogeno in risposta all'adrenalina

(a) Via di segnalazione	(b) Numero di molecole attivate
RICEZIONE Legame dell'adrenalina al recettore associato a proteine G	1 molecola
TRASDUZIONE Proteina G inattiva → Proteina G attiva	10^2 molecole
Adenilil ciclasti inattiva → Adenilil ciclasti attiva	10^2 molecole
ATP → AMP ciclico	10^4 molecole
Proteina chinasi A inattiva → Proteina chinasi A attiva	10^4 molecole
Fosforilasi chinasi inattiva → Fosforilasi chinasi attiva	10^5 molecole
Glicogeno fosforilasi inattiva → Glicogeno fosforilasi attiva	10^6 molecole
RISPOSTA Glicogeno → Glucosio-1-fosfato	10^8 molecole

Vietata riproduzione, vendita e copia

Il cAMP influenza molte altre funzioni cellulari



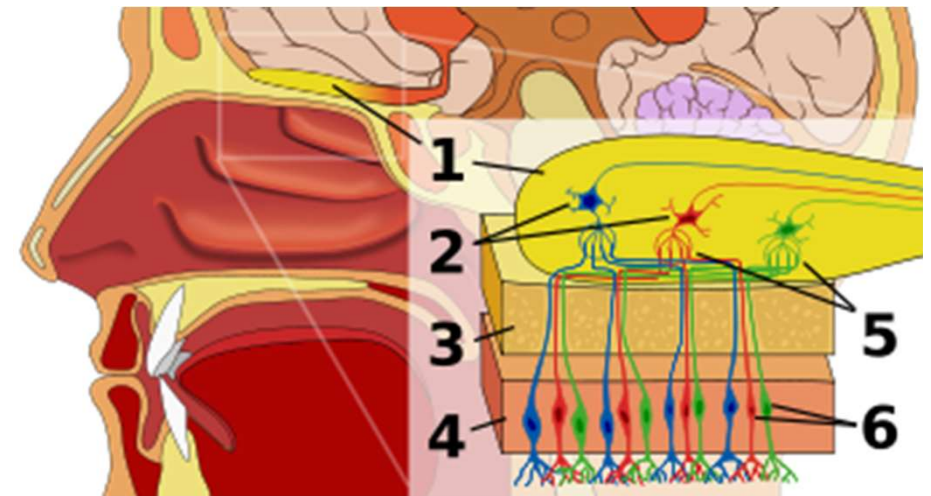
Alcune risposte cellulari indotte da ormoni tramite cAMP

Tessuto bersaglio	Ormone	Risposta principale
Muscolo	adrenalina	Demolizione del glicogeno
Cuore	adrenalina	Aumento della frequenza cardiaca e della forza di contrazione
Corteccia surrenale	Ormone adrenocorticotropo (ACTH)	Secrezione di cortisolo
Ghiandola tiroidea	Ormone stimolante la tiroide (TSH)	Secrezione dell'ormone tiroideo
Grasso	Adrenalina, glucagone, ACTH, TSH	Demolizione dei trigliceridi

I **recettori olfattivi** sono recettori associati a proteine **G** e stimolano una risposta tramite il **cAMP**

Il neuro-epitelio olfattivo dispone di migliaia (cani e topi) o centinaia (uomo) di recettori associati a proteine **G**, **uno per ogni cellula**, in grado di legare, ciascuno, **molte molecole** di odorante diverse.

La combinazione specifica di recettori su un insieme distinto di cellule olfattive, permette la discriminazione di migliaia di odori diversi.



Nel genoma umano esistono 339 geni per recettori olfattivi, ma l'uomo è in grado di riconoscere più di 10000

2004: I ricercatori Axel e Buck vincono il premio Nobel per la Medicina

Ai due studiosi Usa, biologi molecolari, i primi due riconoscimenti. Ricerca del 1991 sul più misterioso dei sensi

Il Nobel agli scienziati dell'olfatto

Vietate riproduzione, vendita e
copia

A Novel Multigene Family May Encode Odorant Receptors: A Molecular Basis for Odor Recognition

Linda Buck* and Richard Axel*†

*Department of Biochemistry and Molecular Biophysics

†Howard Hughes Medical Institute

College of Physicians and Surgeons

Columbia University

New York, New York 10032

the sense of smell n
receptors each capa
number of odorants
guish which receptc
vated to allow the dis
stimuli. Insight into t

The mammalian olfactory system can recognize and discriminate a large number of different odorant molecules. The detection of chemically distinct odorants presumably results from the association of odorous ligands with specific receptors on olfactory sensory neurons. To address the problem of olfactory perception at a molecular level, we have cloned and characterized 18 different members of an extremely large multigene family that encodes seven transmembrane domain proteins whose expression is restricted to the olfactory epithelium. The members of this novel gene family are likely to encode a diverse family of odorant receptors.

The human olfactory receptor gene family

Bettina Malnic^{*†}, Paul A. Godfrey^{†‡}, and Linda B. Buck^{‡§}

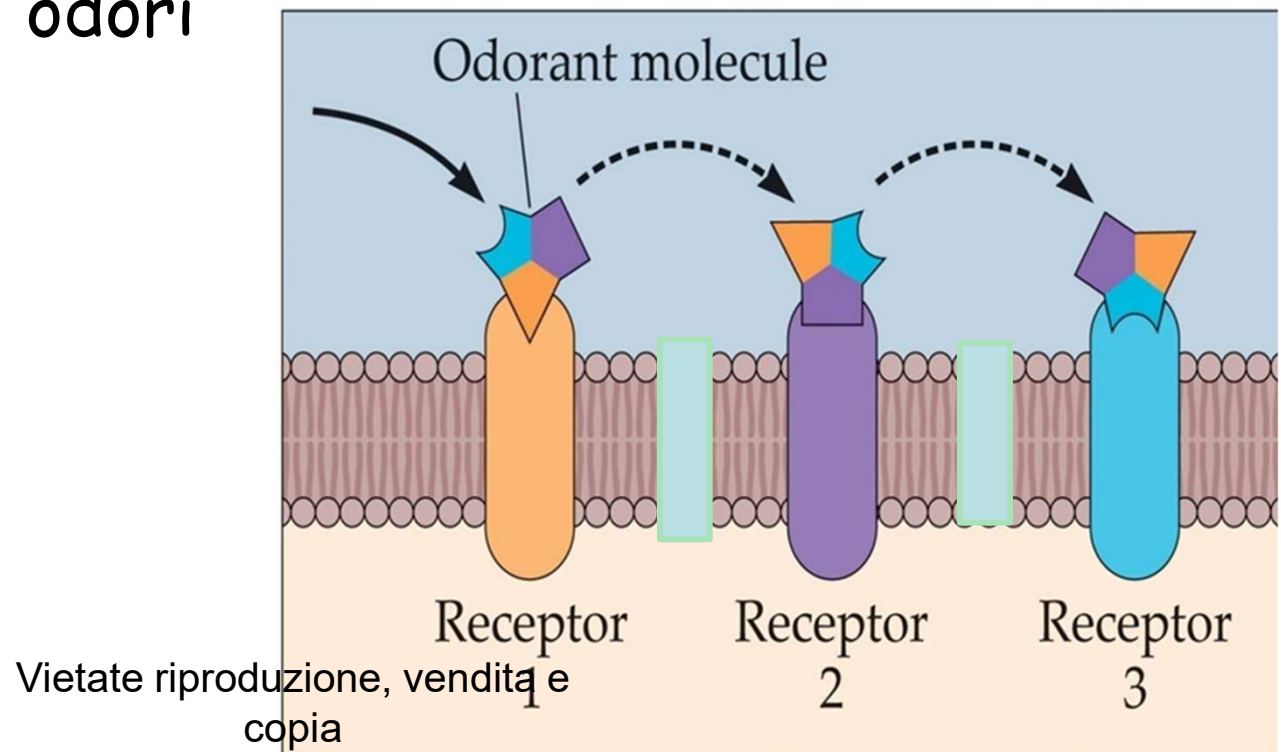
[†]Howard Hughes Medical Institute, Fred Hutchinson Cancer Research Center, 1100 Fairview Avenue North, Seattle, WA 98109; and ^{*}Departamento de Bioquímica, Universidade de São Paulo, C.P.26077 CEP 05599-970, São Paulo, Brazil

Contributed by Linda B. Buck, November 26, 2003

Humans perceive an immense variety of chemicals as having distinct odors. Odor perception initiates in the nose, where odorants are detected by a large family of olfactory receptors (ORs). ORs have diverse protein sequences but can be assigned to subfamilies on the basis of sequence relationships. Members of the same subfamily have related sequences and are likely to recognize structurally related odorants. To gain insight into the mechanisms underlying odor perception, we analyzed the human OR gene family. By searching the human genome database, we identified 339 intact OR genes and 297 OR pseudogenes. Determination of their genomic locations showed that OR genes are unevenly distributed among 51 different loci on 21 human chromosomes. Sequence comparisons showed that the human OR family is composed of 172 subfamilies. Types of odorant structures that may be recognized by some subfamilies were predicted by identifying subfamilies that contain ORs with known odor ligands or human homologs of such ORs. Analysis of the chromosomal locations of members of each OR subfamily revealed that most subfamilies are encoded by a single chromosomal locus. Moreover, many loci encode only one or a few subfamilies, suggesting that different parts of the genome may, to some extent, be involved in the detection of different types of odorant structural motifs.

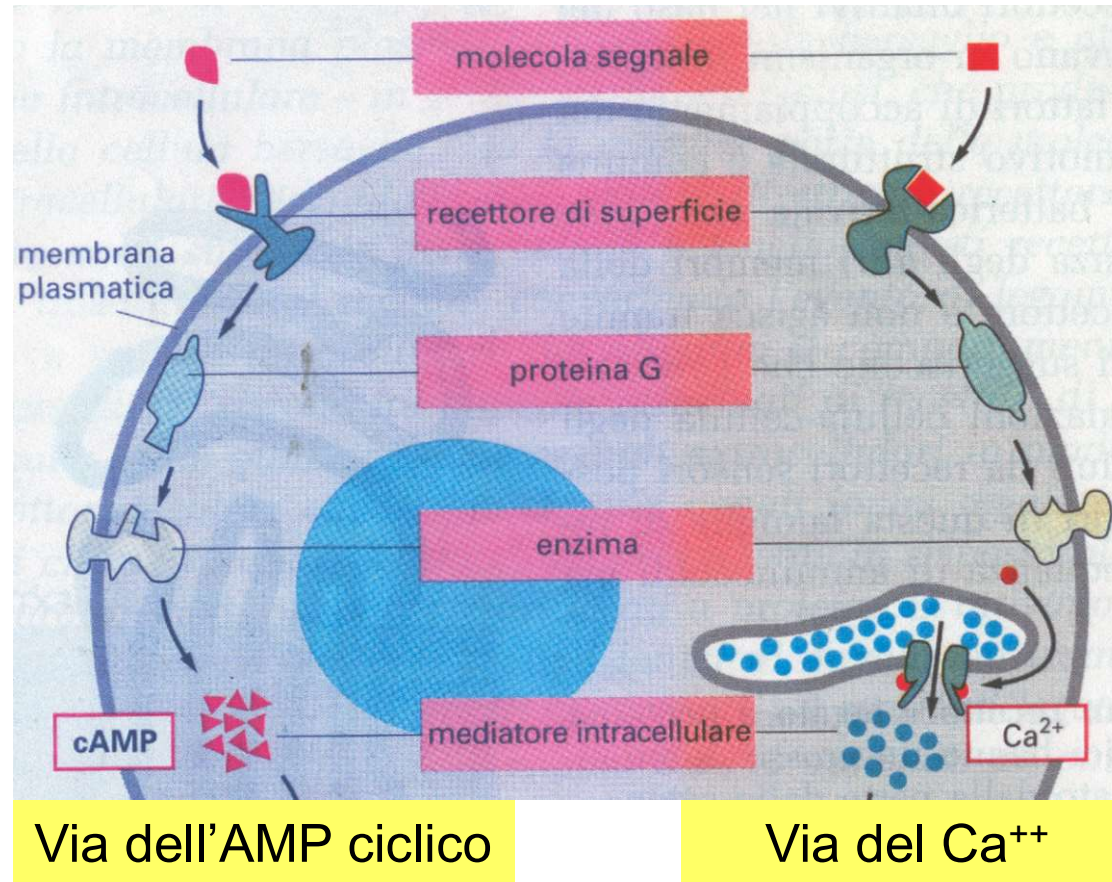
Come fanno 339 OR nell'uomo a distinguere 10000 diversi odori?

- Ogni neurone esprime **un solo recettore** ma ogni **sostanza odorosa stimola più di un recettore**
- Ogni composto attiva una combinazione unica e caratteristica di recettori (e quindi di neuroni olfattivi), ciascuno in grado di riconoscere uno specifico aspetto strutturale del composto.
- Questo meccanismo combinatorio consente ad una ristretta gamma di recettori di distinguere un elevato numero di odori



Due vie attivate dalle proteine G tramite due diversi enzimi effettori

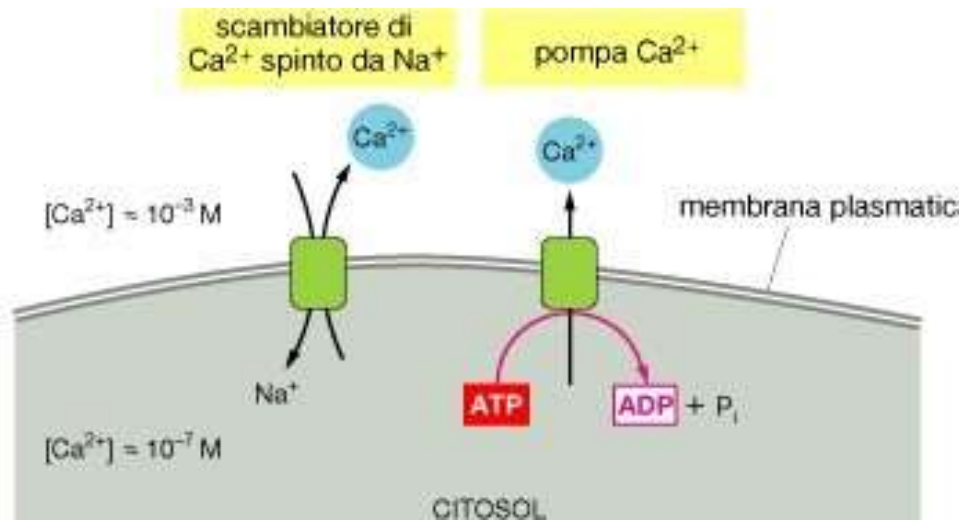
ADENILATO
CICLASI



FOSFOLIPASI C

VIA DELLA FOSFOLIPASI C

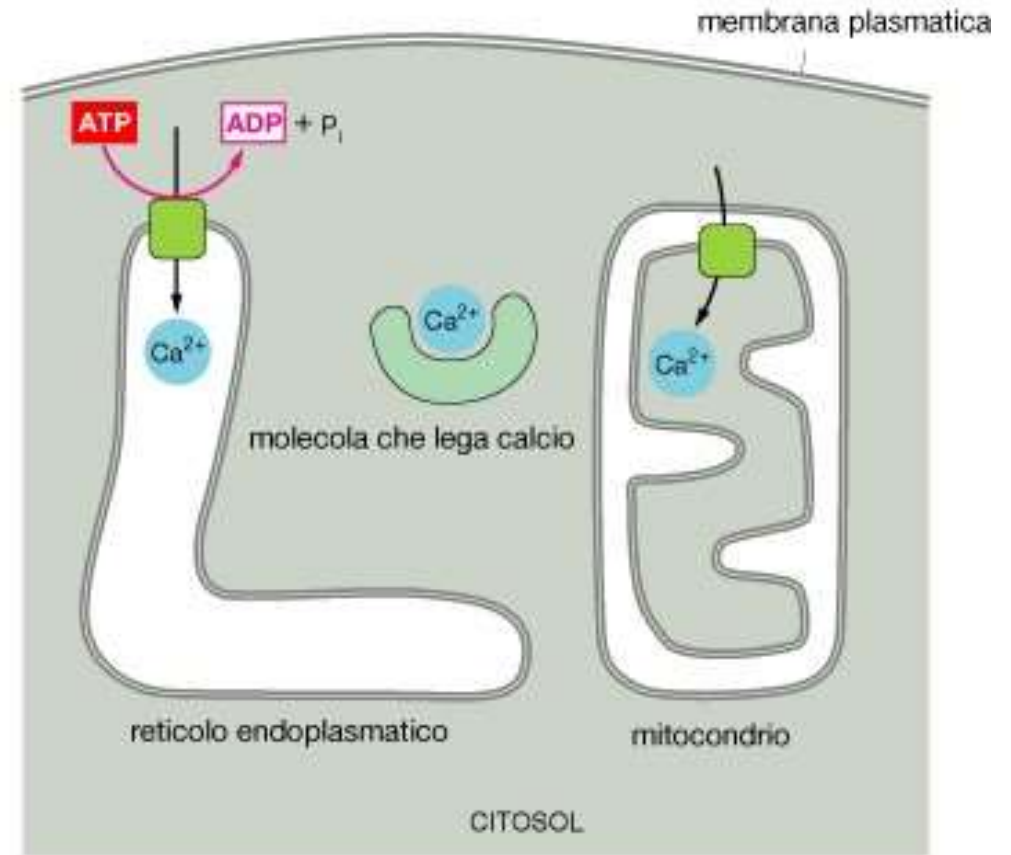
La concentrazione degli ioni Ca^{2+} viene mantenuta bassa nel citoplasma spostando il Ca^{2+} verso l'esterno della cellula o in compartimenti intracellulari



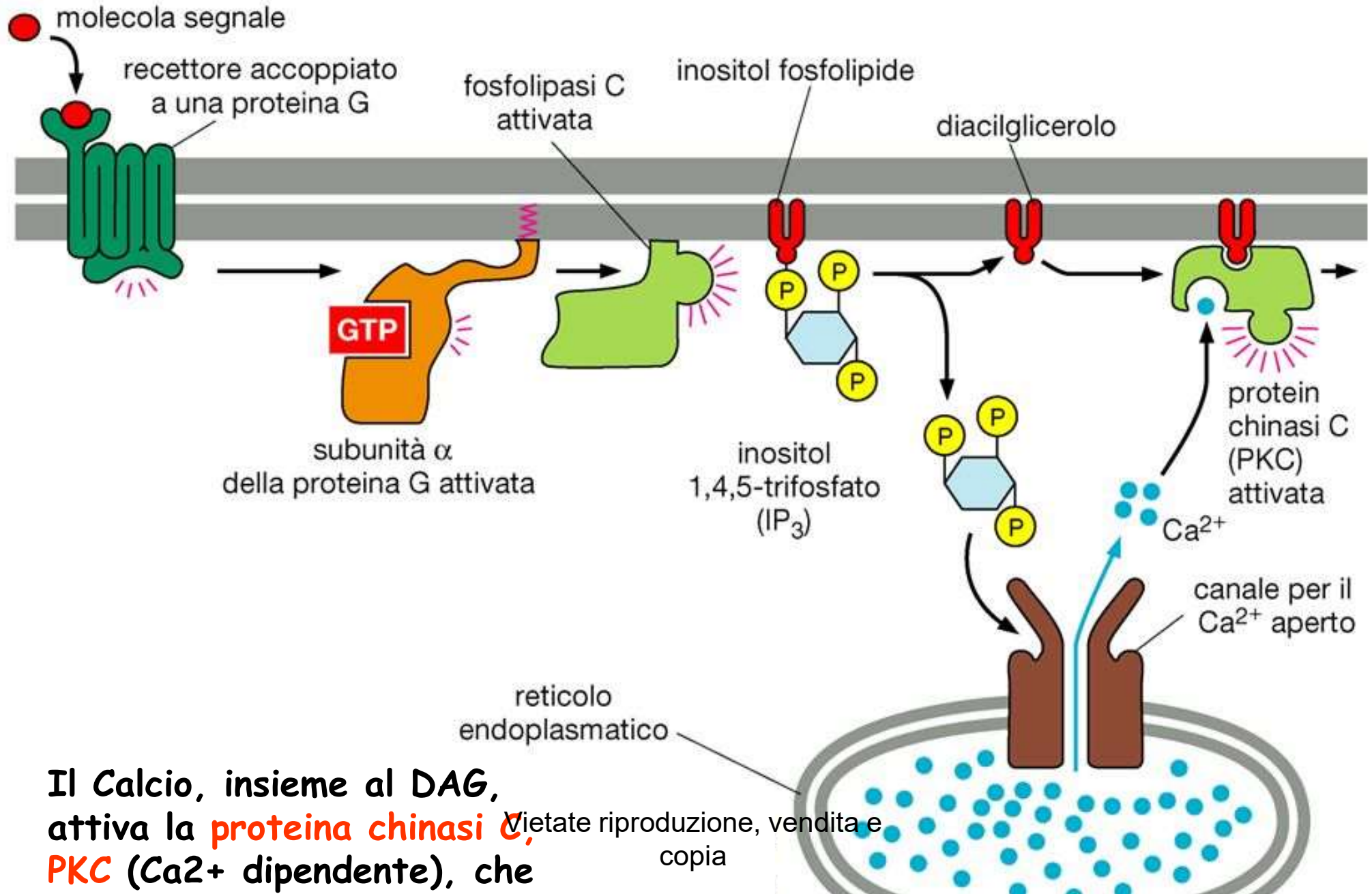
Lo scambiatore sodio-calcio è una proteina di membrana con attività antiporto con la funzione di rimuovere il calcio dalle cellule in favore del sodio.

Lo scambiatore non utilizza energia per scambiare gli ioni, ma usa il gradiente del sodio per permettere al calcio di essere espulso dalla cellula e riversato nel liquido extracellulare: il Na^{+} entra secondo gradiente, il Ca^{+} esce contro gradiente. (B)

Lo scambiatore rimuove uno ione di calcio in favore di tre di sodio.

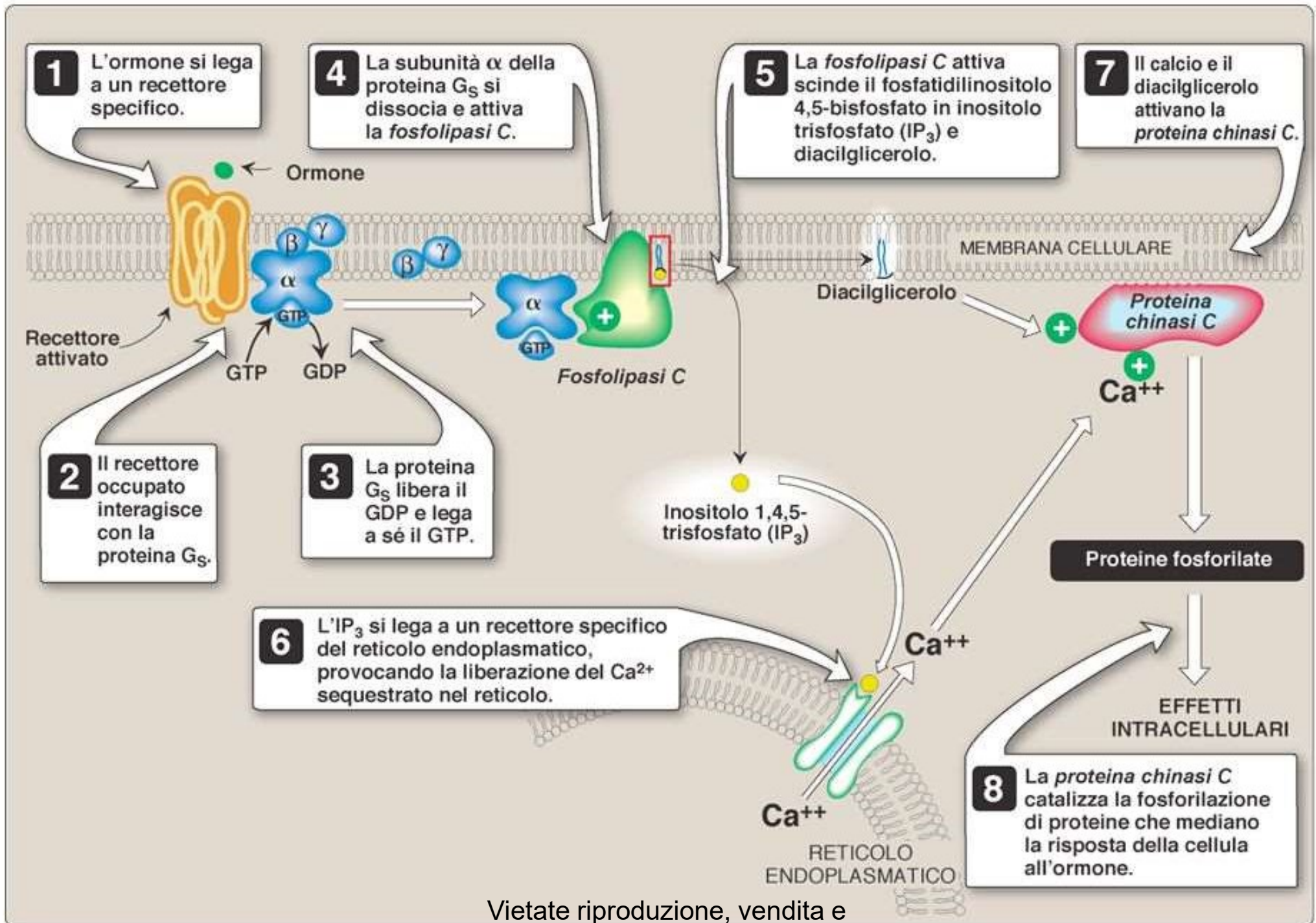


La fosfolipasi C taglia un fosfolipide di membrana, il fosfatidil-inositolo, producendo **due messaggeri intracellulari, IP3 e DAG**



Il Calcio, insieme al DAG, attiva la **proteina chinasi C, PKC** (Ca²⁺ dipendente), che

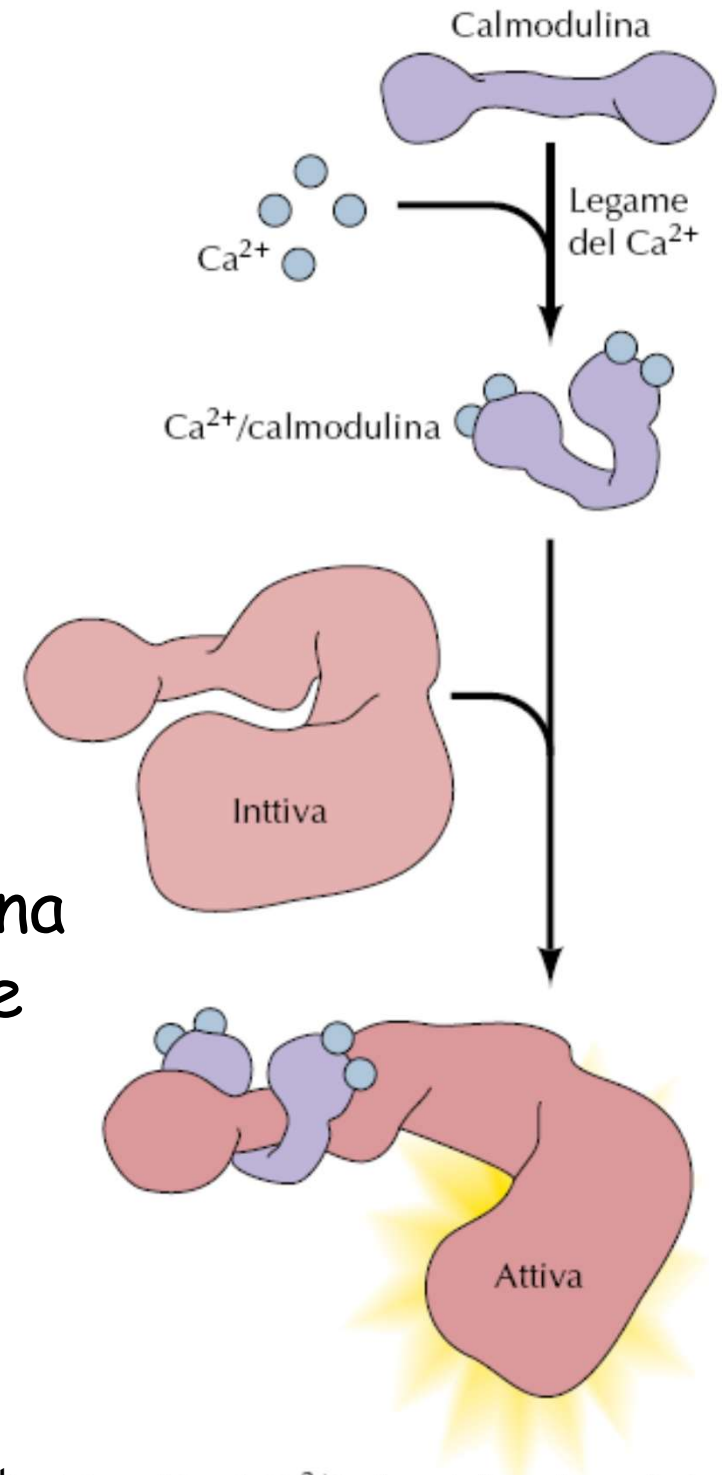
Vieta la riproduzione, vendita e copia



Vietata riproduzione, vendita e
copia

Molti degli effetti del Ca^{2+} sono mediati dalla proteina **calmodulina**

Il complesso Ca^{2+} /calmodulina attiva una varietà di proteine bersaglio, incluse le protein chinasi Ca /calmodulina-dipendenti (**CaM-chinasi**)



Ricapitolando:

- L'attivazione dell'adenilato ciclasi, tramite la produzione di AMP ciclico, porta all'attivazione della **PROTEINA CHINASI A (PKA)**.
- L'attivazione della fosfolipasi C, tramite la produzione di diacil glicerolo, inositol-tri-fosfato e rilascio di ioni Ca^{2+} , porta all'attivazione della **PROTEINA CHINASI C (PKC)** e delle CaM-chinasi.
- **AMP ciclico, IP3, DAG e ioni Ca^{2+} sono definiti secondi messaggeri.**

La varietà delle risposte mediate dalle proteine G trimeriche dipende dall'esistenza di molte varianti di queste proteine

Le proteine G possono essere attivatrici o inibitrici
Gli effettori e i loro substrati possono essere diversi

Membri della famiglia	Azione mediata da	Funzioni
G_s	α	Attiva l'adenilato ciclasi; attiva canali del Ca^{2+}
G_{olf}	α	Attiva l'adenilato ciclasi nei neuroni olfattivi
G_i	α	Inibisce l'adenilato ciclasi
	$\beta\gamma$	Attiva canali del K^+
G_o	$\beta\gamma$	Attiva canali del K^+ ; inattiva canali del Ca^{2+}
	α e $\beta\gamma$	Attiva la fosfolipasi C
G_t	α	Attiva la cGMP fosfodiesterasi nei bastoncelli
G_q	α	Attiva la fosfolipasi C