

Stanično signaliziranje

Granić, Viktoria

Undergraduate thesis / Završni rad

2020

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Split, University of Split, Faculty of science / Sveučilište u Splitu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:166:049355>

Rights / Prava: [Attribution 4.0 International](#)/[Imenovanje 4.0 međunarodna](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-05**

Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Science](#)



Sveučilište u Splitu
Prirodoslovno-matematički fakultet
Odjel za biologiju

Viktorija Granić

Stanično signaliziranje

Završni rad

Split, 2020.

Sveučilište u Splitu
Prirodoslovno-matematički fakultet
Odjel za biologiju

Viktorija Granić

Stanično signaliziranje

Završni rad

Split, 2020.

Ovaj rad, izrađen pod vodstvom doc. dr. sc. Elme Vuko, predan je na ocjenu Odjelu za biologiju Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Splitu radi stjecanja zvanja sveučilišne prvostupnice biologije i kemije (*univ. bacc. biol. et chem.*).

Temeljna dokumentacijska kartica

Završni rad

Sveučilište u Splitu
Prirodoslovno-matematički fakultet
Odjel za biologiju
Ruđera Boškovića 33, 21000 Split, Hrvatska

STANIČNO SIGNALIZIRANJE

Viktoria Granić

SAŽETAK

Stanično signaliziranje omogućuje komunikaciju između stanica. Informacije se prenose u obliku signala povezujući sve dijelove složenih organizama u funkcionalnu cjelinu. Signaliziranje omogućuje stanicama da odrede svoj položaj i funkciju u tijelu. Signalne molekule vežu se za receptore na površini stanice te pokreću niz unutarstaničnih promjena, koje nadziru sve aspekte staničnoga ponašanja, od nastanka stanice do programirane stanične smrti (apoptoze). Narušavanje prijenosa signala između stanica onemogućit će njihovu skladnu aktivnost, a to će rezultirati pojavom bolesti. Proučavanje mehanizama kojim zdrave stanice prenose signale temelj je za razumijevanje promjena u signaliziranju koje se javljaju tijekom nastanka bolesti. Zbog toga, poznavanje mehanizama prijenosa signala pomaže u pronalaženju učinkovite terapije i novih lijekova. Zanimanje za stanično signaliziranje vezano je i uz činjenicu da su brojne vrste raka posljedica prekidanja signalnih puteva koji nadziru normalnu staničnu proliferaciju i preživljenje.

Ključne riječi: stanično signaliziranje, signalni putevi, signalne molekule, apoptoza

Rad je pohranjen u knjižnici Prirodoslovno-matematičkog fakulteta, Sveučilišta u Splitu.

Rad sadrži: 23 stranice, 15 grafičkih prikaza, 22 literaturna navoda. Izvornik je na hrvatskom jeziku.

Mentor: Doc. dr. sc. Elma Vuko

Ocjenjivači: Doc. dr. sc. Elma Vuko
Doc. dr. sc. Željana Fredotović
Doc. dr. sc. Nives Kević

Rad prihvaćen: rujan, 2020.

Basic documentation card

Bachelor Thesis

University of Split
Faculty of Science
Department of Biology
Ruđera Boškovića 33, 21000 Split, Croatia

CELL SIGNALING

Viktorija Granić

ABSTRACT

Cell signaling allows communication between cells. Information is transmitted in the form of signals by connecting all parts of complex organisms into a functional whole. Signaling allows cells to determine their position and function in the body. Signal molecules bind to receptors on the cell surface and trigger a series of intracellular changes, which control all aspects of cellular behavior, from cell formation to programmed cell death (apoptosis). Disruption of signal transmission between cells will prevent their harmonious activity, and this will result in the appearance of disease. The study of the mechanisms by which healthy cells transmit signals is the basis for understanding the changes in signaling that occur during disease onset. Therefore, knowledge of signal transduction mechanisms helps in finding effective therapies and new medications. Interest in cellular signaling is also related to the fact that many cancers are the result of disruption of signaling pathways that monitor normal cell proliferation and survival.

Key words: cell signaling, signaling pathways, signaling molecules, apoptosis

Thesis deposited in library of Faculty of science, University of Split

Thesis consists of: 23 pages, 15 figures, 22 references. Original language is Croatian.

Mentor: Ph.D. Elma Vuko, Assistant Professor

Reviewers: Ph.D. Elma Vuko, Assistant Professor

Ph.D. Željana Fredotović, Assistant Professor

Ph.D. Nives Kević, Assistant Professor

Thesis accepted: September, 2020.

IZJAVA

kojom izjavljujem s punom materijalnom i moralnom odgovornošću da sam završni rad s naslovom

STANIČNO SIGNALIZIRANJE

izvodila samostalno pod voditeljstvom doc. dr. sc. Elme Vuko. U radu sam koristila literaturu koja je navedena na kraju završnoga rada. Tuđe spoznaje, stavove, zaključke, teorije i zakonitosti koje sam izravno ili parafrazirajući navela u završnom radu na uobičajen, standardan način sam citirala.

Studentica

Viktorija Granić

SADRŽAJ

1. UVOD	1
1.1. Cilj rada.....	1
2. RAZRADA TEME.....	2
2.1. Signalne molekule i oblici signaliziranja	2
2.2. Steroidni hormoni kao signalne molekule.....	3
2.3. Dušikov oksid i ugljikov monoksid kao signalne molekule.....	4
2.3.1. Uloga dušikova oksida u liječenju srčanih bolesti.....	5
2.4. Neurotransmitori kao signalne molekule	5
2.5. Peptidni hormoni i faktori rasta kao signalne molekule.....	6
2.5.1. Utjecaj epidermalnog faktora rasta na regeneraciju crijevne sluznice	7
2.6. Eikosanoidi kao signalne molekule	7
2.7. Djelovanje staničnih površinskih receptora.....	8
2.7.1. Receptori povezani s G-proteinima	9
2.7.2. Receptorske protein-tirozin-kinaze	9
2.7.3. Uporaba inhibitora receptora vaskularnog endotelnog faktora rasta u liječenju metastatskog karcinoma bubrežnih stanica	10
2.7.4. Ostali receptori	11
2.8. Drugi glasnici	11
2.9. Citoskelet i signalne mreže	14
2.10. Programirana stanična smrt	17
2.10.1. Vanjski put apoptoze	18
2.10.2. Unutarnji put apoptoze	19
3. SAŽETAK.....	21
4. LITERATURA.....	22

1. UVOD

Stanično signaliziranje omogućuje komunikaciju između stanica te funkcioniranje organizma kao cjeline. Međustanična komunikacija prisutna je kod bakterija i jednostaničnih eukariota koji odgovaraju na signalne molekule drugih stanica. Ipak takva vrsta komunikacije dostiže najveću razinu složenosti kod višestaničnih organizama. Kod višestaničnih organizama stanično signaliziranje osigurava stanicama da odrede svoj položaj i određenu ulogu u tijelu. Ponašanje svake pojedine stanice mora se nadzirati kako bi organizam mogao funkcionirati kao cjelina. To se postiže pomoću signalnih molekula koje sudjeluju u povezivanju i koordiniranju brojnih pojedinačnih stanica. Vezivanje signalnih molekula za receptore pokreće unutarstanične promjene koje kontroliraju brojne procese kao što je metabolizam, kretanje, diferencijacija, proliferacija i sl.

Razumijevanje molekularnih komponenti signalnih puteva i njihove regulacije jedno je od glavnih područja istraživanja u suvremenoj staničnoj biologiji. Narušavanje prijenosa signala između stanica onemogućava skladnu aktivnost stanica u tijelu, što može rezultirati pojavom bolesti. Proučavanje mehanizama prijenosa signala između zdravih stanica kao i u unutrašnjost stanica temelj je za razumijevanje promjena koje nastaju tijekom razvoja bolesti. Zbog toga, poznavanje mehanizama prijenosa signala pomaže u pronalaženju učinkovite terapije i novih lijekova. Zanimanje za područje staničnog signaliziranja dodatno je povećano zbog činjenice da su brojne vrste raka posljedica prekidanja signalnih puteva koji nadziru normalnu staničnu proliferaciju i preživljenje (Cooper i Hausman, 2009).

1.1. Cilj rada

Cilj ovoga rada je:

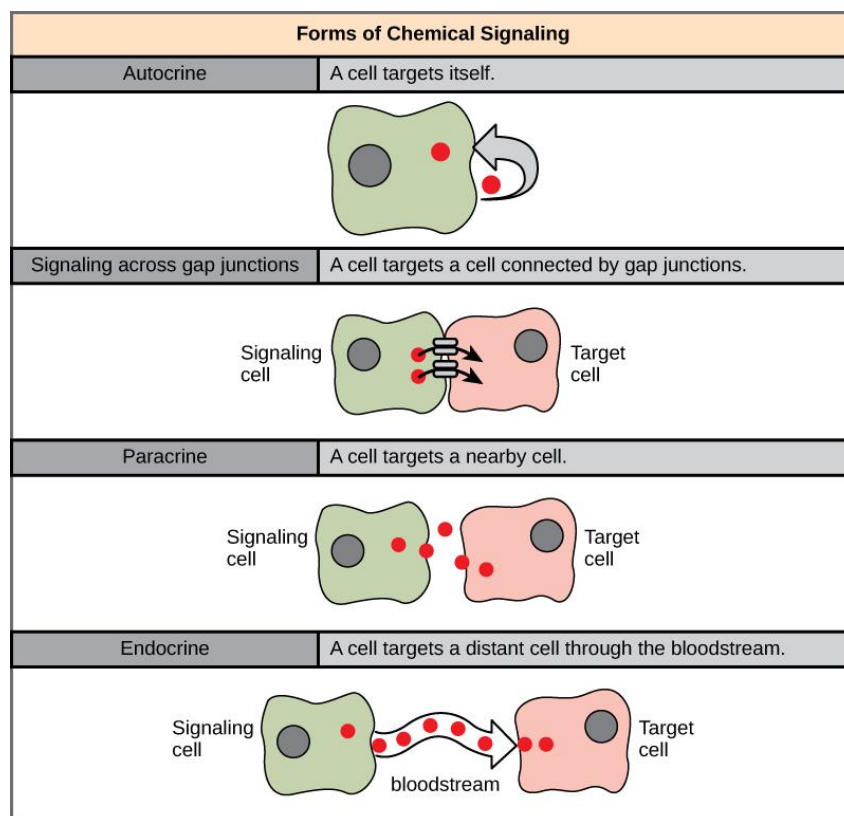
- opisati temeljne mehanizme prijenosa signala između stanica i prijenosa signala do određenih unutarstaničnih ciljeva
- objasniti povezanost različitih signalnih puteva, način regulacije brojnih staničnih aktivnosti, djelovanje staničnih površinskih receptora i djelovanje različitih signalnih molekula
- promjene u staničnom signaliziranju povezati s nastankom različitih bolesti i optimalnim terapijskim mogućnostima

2. RAZRADA TEME

2.1. Signalne molekule i oblici signaliziranja

Postoje različiti oblici molekula koje djeluju kao prijenosnici poruka. To mogu biti proteini, mali peptidi, aminokiseline, nukleotidi, steroidi, produkti masnih kiselina, pa čak i otopljeni plinovi kao što su dušikov oksid i ugljikov monoksid.

Oblici signaliziranja između dviju stanica su: izravno signaliziranje dviju stanica i signaliziranje izlučenim molekulama. Ovisno o udaljenosti koju signali prijeđu, signaliziranje izlučenim molekulama se dijeli na endokrino, parakrino i autokrino signaliziranje (slika 1). U endokrinom signaliziranju signalne molekule (hormoni) se prenose na veće udaljenosti da bi djelovale na ciljne stanice. Kod parakrinog signaliziranja signalna molekula jedne stanice djeluje na susjednu ciljnu stanicu, a u autokrinom signaliziranju stanica sama odgovara na signalnu molekulu koju je proizvela.



Slika 1. Signaliziranje izlučenim molekulama (izvor: web 1)

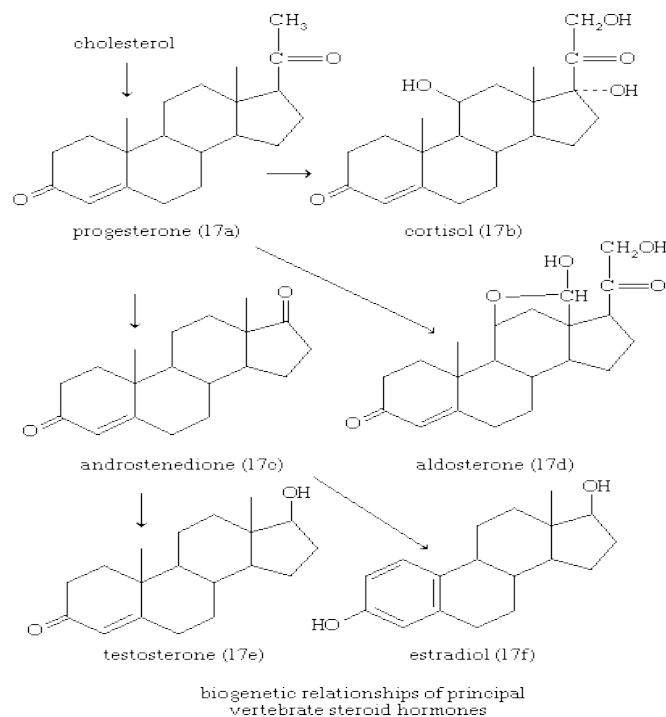
Izravno signaliziranje dviju stanica omogućuju propusne veze kod životinja i plazmodezmije kod biljaka. Ovi kanali ispunjeni vodom osiguravaju protok malih signalnih molekula difuzijom između dvije stanice. Male molekule poput kalcijevih iona (Ca^{2+}) mogu se kretati između stanica, dok velike molekule poput DNA i proteina ne prolaze (web 2).

Signalne molekule različito djeluju na ciljne stanice na način da se mogu vezati za receptore na površini stanice ili mogu proći kroz staničnu membranu i vezati se za unutarstanične receptore.

2.2. Steroidni hormoni kao signalne molekule

Steroidni hormoni sintetiziraju se iz kolesterola (slika 2). Spolne žlijezde stvaraju testosteron, estrogen i progesteron. Nadbubrežne žlijezde stvaraju kortikosteroide koji uključuju glukokortikoide i mineralokortikoide. Specifično za steroidne hormone je da se ne nakupljaju u žlijezdama u kojima nastaju, već se odmah izlučuju u krv i dalje prenose do ciljnih mjesta. Spadaju u skupinu signalnih molekula koja također uključuje tireoidni hormon, vitamin D_3 i retinoičnu kiselinu. Iako strukturno i funkcionalno različiti od steroida, te vrste signalnih molekula mogu također difundirati kroz staničnu membranu zbog svoje male veličine i hidrofobnosti. Unutar stanice na njih odgovaraju unutarstanični receptori koji se nalaze u citoplazmi ili jezgri (Cooper i Hausman, 2009).

Djelovanje steroidnih hormona započinje ulaskom hormona unutar ciljne stanice te vezivanjem za specifični proteinski receptor. Nastaje kompleks hormon-receptor koji se prenosi u jezgru ili difundira u nju. U jezgri kompleks se veže za specifična mjesta na molekuli DNA i započinje transkripciju gena te stvaranje glasničke RNA. Glasnička RNA zatim se prenosi u citoplazmu i na ribosomima započinje proces translacije kojim se stvaraju nove bjelančevine koje obavljaju određenu funkciju. Vezivanje liganda može aktivirati ili inaktivirati transkripciju pojedinih gena, tako da steroidni hormoni i slične molekule direktno utječu na gensku ekspresiju.



Slika 2. Sinteza steroidnih hormona (izvor: web 3)





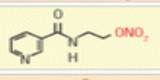

2.3. Dušikov oksid i ugljikov monoksid kao signalne molekule

Dušikov oksid (NO) je parakrina signalna molekula u živčanom, imunološkom i cirkulacijskom sustavu. Poput steroidnih hormona, jednostavni plin dušikov oksid može difundirati kroz membranu svojih ciljnih stanica. Međutim, umjesto vezanja za receptor koji nadzire transkripciju, mijenja aktivnost unutarstaničnih ciljnih enzima. Dušikov oksid nastaje oksidacijom aminkiseline arginina u citrulin uz molekulu NADPH uz pomoć enzima sintaze dušikova oksida. Nakon sinteze difundira izvan stanice i može djelovati lokalno na susjedne stanice. Njegovo djelovanje ograničeno je zbog toga što je izrazito nestabilan, s kratkim poluvijekom. Unutar stanice NO se veže za hem-skupinu na aktivnom mjestu enzima gvanil-ciklaze. Vezanje NO potiče sintezu cikličkoga GMP-a. Štoviše, može izravno promijeniti neke ciljne proteine tako da nitrozilira cisteinske ostatke. Jedan od učinka NO je signaliziranje koje dovodi do dilatacije krvnih žila (Cooper i Hausman, 2009).

Ugljikov monoksid (CO), jednostavan plin, također djeluje kao signalna molekula u živčanom sustavu. Njegova sinteza u živčanim stanicama potaknuta je neurotransmitorima. Posrednik je u dilataciji krvnih žila.

2.3.1. Uloga dušikova oksida u liječenju srčanih bolesti

Nitrovazodilatator je farmaceutsko sredstvo koje uzrokuje vazodilataciju otpuštanjem dušikova oksida. Dušikov oksid potom difundira u glatke mišićne stanice, gdje potiče gvanil-ciklazu, što uzrokuje nastanak cikličkog GMP-a koji stimulira opuštanje mišićnih stanica i širi krvne žile. Terapeutski su korisni zbog toga što potiču koronarnu arteriodilataciju u bolesti poznatoj kao *angina pectoris* i kod smanjenoga protoka krvi. Mehanizam otpuštanja dušikova oksida uključuje unutarstanične tiolne grupe, potrebne za redukciju nitrata. Te grupe su aminokiselinski ostaci unutarstaničnih proteina koji sadrže sumpor. Kada se učestalo primjenjuju, dolazi do pojave tahifilaksije, smanjenog odgovora organizma na određeni lijek. Ovo se događa zbog peroksinitrita, koji je nastaje endogenom reakcijom dušičnog oksida sa superoksidnim anionom (Benkusky i sur., 1998).

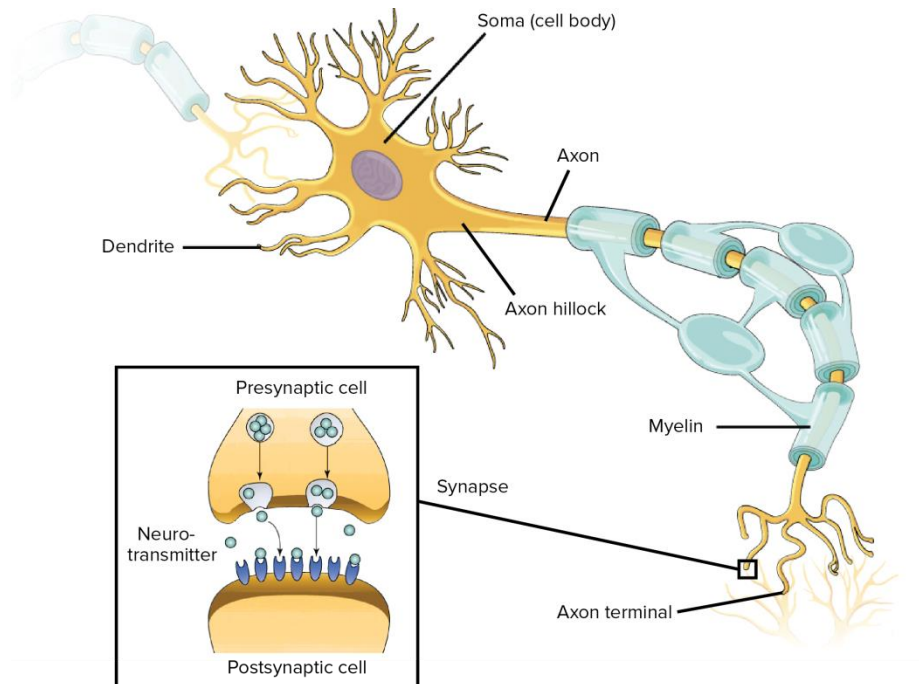
Commonly used organic nitrates					
Compound	Structure	Application	Dose [mg]	Time until action [min]	Duration of action [h]
Glyceryl trinitrate (GTN)		Spray Tablet Patch	0.5 52 – 5 5 – 105 – 10	1 1 – 2 4 – 8	0.5
Pentaerythryl tetranitrate (PETN)		Tablet	50 – 80	10 – 20	8 – 12
Isosorbide dinitrate (ISDN)		Tablet Slow-release tablet Spray	5 20 – 120 5 – 20	1 – 2 10 – 30 10 – 20	1 8 – 12 4 – 6
Isosorbide-5-mononitrate (ISMN)		Tablet	20 – 40	10 – 30	1 – 2
Nicorandil		Tablet	10 – 20	30 – 60	2 – 4
Sodium nitroprusside (SNP)		Infusion	0.001 – 0.003 mg/kg/min	1	0.1 – 0.2

Slika 3. Primjeri nitrovazodilatatora (izvor: Münzel i Daiber, 2017)

2.4. Neurotransmitori kao signalne molekule

Neurotransmitori su male, hidrofilne molekule koje prenose signale u živčanome sustavu između dvije živčane stanice ili živčane stanice i mišićne stanice. To je skupina koja uključuje acetilkolin, dopamin, adrenalin, serotonin, histamin, glutamat, glicin i γ -aminomaslačnu kiselinu (GABA, prema engl. – *gamma-aminobutyric acid*). Komunikacija

između dva neurona se odvija u sinaptičkoj pukotini (slika 4). Električni signal koji putuje aksonom se pretvara u kemijski signal otpuštanjem neurotransmitora u sinaptičku pukotinu. Nakon otpuštanja neurotransmitori se vežu za receptore na površini ciljnih stanica.



Slika 4. Prijenos signala između dvije živčane stanice (izvor: web 4)

Budući da su neurotransmitori hidrofilne molekule, ne mogu proći kroz staničnu membranu ciljnih stanica. Djeluju tako da se vežu za receptore na staničnoj površini. Mnogi receptori su i ionski kanali, kao što je receptor za acetilkolin. Drugi receptori su povezani s G-proteinima, skupinom signalnih molekula, koje povezuju receptore na površini stanice s unutarstaničnim procesima (Cooper i Hausman, 2009).

2.5. Peptidni hormoni i faktori rasta kao signalne molekule

Najrazličitije signalne molekule u životinja su peptidi. U ovu skupinu spadaju peptidni hormoni, neuropeptidi i polipeptidni faktori rasta. Peptidni hormoni se sintetiziraju u stanicama iz aminokiselina prema prijepisu na glasničkoj RNA molekuli. Poznati primjeri su inzulin, glukagon i hormoni koje stvara hipofiza (hormon rasta, prolaktin i drugi). Živčane

stanice umjesto neurotransmitora mogu sintetizirati neuropeptide od kojih neki djeluju i kao neurohormoni (npr. encefalin, endorfin). Neuropeptidi su sintetizirani iz većih neaktivnih proteinskih prekursora u lumenu endoplazmatskog retikuluma. Polipeptidni faktori rasta pripadaju vrsti signalnih molekula koje nadziru rast i diferencijaciju animalnih stanica. Također je utvrđen sve veći broj polipeptidnih faktora rasta koji reguliraju ne samo staničnu proliferaciju, već i različite stanične aktivnosti, uključujući taloženje proteina matriksa, održavanje vitalnosti stanica, upale i obnavljanje tkiva (Deuel, 1987).

Faktori rasta su: NGF (*nerve growth factor*, faktor rasta neurona), EGF (*epidermal growth factor*, epidermalni faktor rasta), PDGF (*platelet-derived growth factor*, trombocitni faktor rasta), citokini, faktori rasta usidreni u membrani i drugi.

Faktori rasta, neuropeptidi i peptidni hormoni ne mogu proći kroz staničnu membranu, već se vežu za receptore na površini ciljne stanice.

2.5.1. Utjecaj epidermalnog faktora rasta na regeneraciju crijevne sluznice

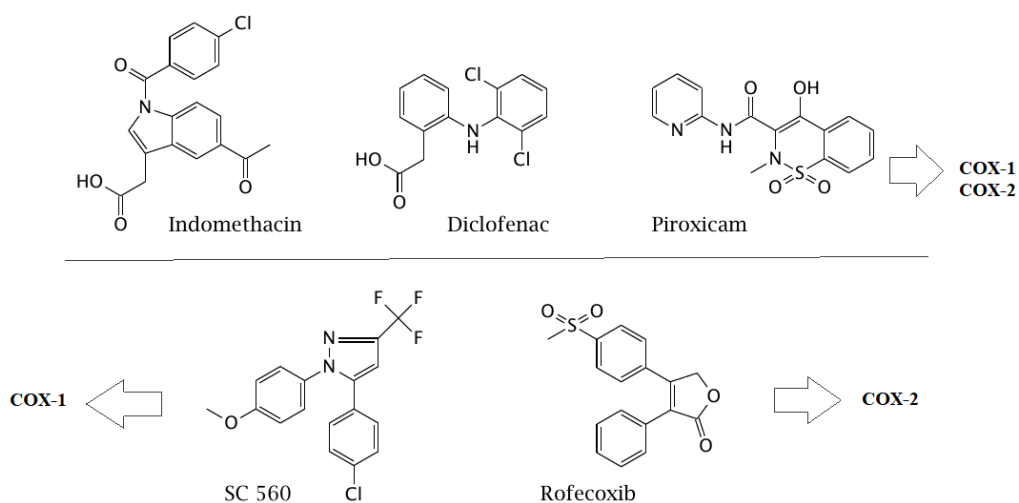
Smanjena razina epidermalnog faktora rasta (EGF) povezana je s ulkusnom bolesti. Zabilježene su niske razine EGF-a u slini pacijenata s aktivnim duodenalnim ulkusom. Slično navedenom, imunorekativne EGF razine u želučanom soku i slini smanjene su kod bolesnika s čireom na želucu. Nedostatak EGF-a može dovesti do smanjene otpornosti sluznice na stres i/ili slabije sposobnosti za popravak uslijed ozljede sluznice. Dokazano je da suplementacija EGF-om poboljšava obnavljanje sluznice (Rowland i sur., 2014).

2.6. Eikosanoidi kao signalne molekule

Eikosanoidi pripadaju vrsti lipida koji služe kao signalne molekule. Djeluju tako što se vežu za receptore na površini stanice. Nastaju oksidacijom arahidonske kiseline ili drugih polinezasićenih masnih kiselina. Zbog brze razgradnje djeluju lokalno u autokrinim ili parakrinim signalnim putevima. U ovu skupinu spadaju prostaglandini, prostaciklin, tromboksani i leukotrieni. Pretvorbu arahidonske kiseline u prostaglandin H_2 katalizira enzim ciklooksigenaza. To je prvi korak koji vodi prema nastanku prostaglandina ili tromboksana. Taj enzim je ciljno mjesto djelovanja aspirina, koji smanjuje bol i upalu na način da zaustavlja

sintezu prostaglandina. Također smanjuje zgrušavanje krvi time što zaustavlja sintezu troboksana (Cooper i Hausman, 2009).

Postoje dva oblika ciklooksigenaze: COX-1 i COX-2. Enzim COX-1 je zaslužan za normalno stvaranje prostaglandina, dok je COX-2 enzim odgovoran za povećano stvaranje prostaglandina koje uzrokuje upale i bolesti. Da bi se zaustavila sinteza prostaglandina potrebno je inhibirati ovaj enzim pomoću kovalentnih i nekovalentnih inhibitora (slika 5).



Slika 2. Nekovalentni inhibitori ciklooksigenaze (izvor: web 5)

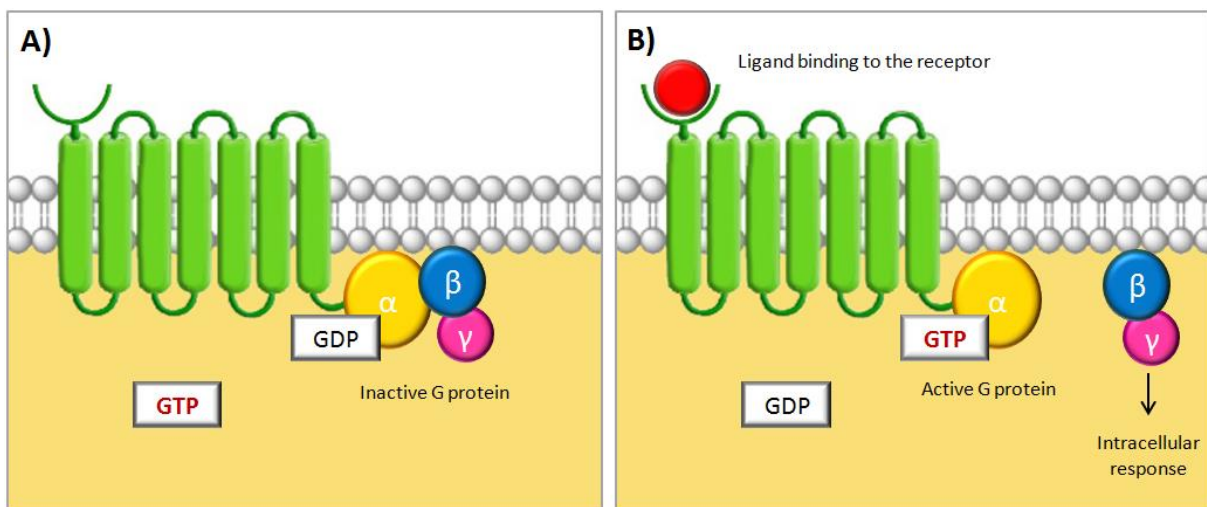
2.7. Djelovanje staničnih površinskih receptora

Većina liganda odgovornih za signaliziranje između dviju stanica veže se za receptore na površini ciljne stanice. Neki receptori za neurotransmitore ujedno su i ionski kanali koji nadziru protok iona kroz staničnu membranu. Drugi receptori, kao što su receptori za peptidne hormone i faktore rasta, djeluju tako da nadziru djelovanje unutarstaničnih proteina. Ti proteini zatim prenose signale do određenih unutarstaničnih ciljeva. Signal se mehanizmom kaskadnih reakcija dovodi do jezgre ciljne stanice i uzrokuje programirane promjene u genskoj ekspresiji (Cooper i Hausman, 2009).

2.7.1. Receptori povezani s G-proteinima

Ključnu ulogu u signalizaciji imaju proteini koji vežu gvanin-nukleotid (G-proteini). Receptori na površini stanice prenose signale do unutarstaničnih ciljeva pomoću G-proteina. Njihova glavna osobina je sedam membranskih α -uzvojnica koje prolaze kroz membranu.

Vezivanje liganda na izvanstanični dio receptora uzrokuje promjenu konformacije te aktivaciju G-proteina (slika 6). U neaktivnom obliku to je heterotrimerni protein koji se sastoji od tri podjedinice: α , β i γ . Aktivacija G-proteina uključuje zamjenu GDP-a, za koji je vezana podjedinica α , sa GTP-om. Aktivirana podjedinica α zatim disocira od β - i γ -podjedinica koje ostaju povezane i djeluju kao kompleks. Zatim aktivna podjedinica α i $\beta\gamma$ -kompleks djeluju na ciljne proteine i uzrokuju unutarstanični odgovor. Hidrolizom vezanog GTP dolazi do inaktivacije α -podjedinice koja se potom ponovo spaja s $\beta\gamma$ -kompleksom (Cooper i Hausman, 2009).



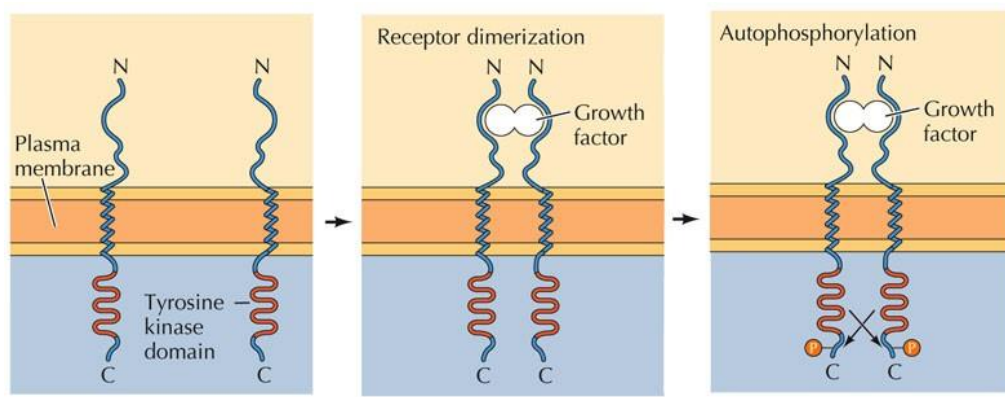
Slika 3. Aktivacija G-proteina (izvor: web 6)

2.7.2. Receptorske protein-tirozin-kinaze

Neki receptori na staničnoj površini povezani su izravno s unutarstaničnim enzimima. Najveća porodica takvih receptora su receptorske protein-tirozin-kinaze. Ovoj porodici pripadaju receptori za većinu polipeptidnih faktora rasta. Većina receptorskih protein-tirozin-kinaza sastoji se od jednoga polipeptida, iako postoje i dimeri.

Vežanje liganda za izvanstanični dio receptora aktivira unutarstaničnu kinaznu domenu. Dolazi do fosforilacije receptora i unutarstaničnih ciljnih proteina (slika 7). Prvi korak u signaliziranju je dimerizacija receptora kao odgovor na vežanje liganda. Neki faktori rasta su dimeri, te izravno potiču dimerizaciju vežanjem za dvije susjedne molekule receptora. Drugi faktori rasta su monomeri, ali također uzrokuju dimerizaciju jer dolazi do konformacijskih promjena. Dimerizacija dovodi do autofosforilacije receptora jer se dva polipeptidna lanca uzajamno fosforiliraju.

Aktivirane kinaze zatim fosforiliraju tirozinske ostatke receptora i stvaraju fosfotirozinska vežna mjesta za nizvodne signalne molekule (Cooper i Hausman, 2009).



Slika 7. Dimerizacija i autofosforilacija receptorskih protein-tirozin-kinaza
(izvor: Cooper i Hausman, 2009)

2.7.3. Uporaba inhibitora receptora vaskularnog endotelnog faktora rasta u liječenju metastatskog karcinoma bubrežnih stanica

Posljednjih godina zabilježena je učestalija pojava metastatskog karcinoma bubrežnih stanica. Zbog neosjetljivosti na tradicionalnu kemoterapiju razvija se alternativna strategija odnosno ciljana terapija. Tijekom proteklog desetljeća, razvoj ciljanog liječenja ove bolesti znatno je napredovao. Nekoliko studija pokazalo je da je put vaskularnog endotelnog faktora rasta važan posrednik za nastanak i razvoj karcinoma bubrežnih stanica, a inhibitori tirozin kinaze koji ciljaju receptore faktora rasta vaskularnog endotelnog faktora (VEGF) navode se kao optimalna terapijska mogućnost. Šest malih molekula koje inhibiraju receptore VEGFR1/2/3, (sunitinib, sorafenib, aksitinib, pazopanib, kabozantinib i lenvatinib), su supstance odobrene od Američke Agencije za hranu i lijekove (*Food and Drug*

Administration) za liječenje karcinoma bubrežnih stanica. Dokazano je da njihovo inhibitorno djelovanje poboljšava kvalitetu života i produljuje preživljavanje pacijenata (Li Wei i sur., 2020).

2.7.4. Ostali receptori

Mnogi receptori nemaju vlastitu enzimsku aktivnost, već djeluju na način da potiču unutarstanične protein-tirozin-kinaze s kojima su povezani nekovalentnim vezama. U ovu porodicu receptora spadaju receptori za citokine i za neke polipeptidne hormone. Receptori za citokine djeluju združeno s nereceptorskim protein-tirozin-kinazama, koje se aktiviraju kao odgovor na vezanje liganda.

Također, neki receptori su povezani s enzimima koji imaju drugačiju aktivnost od enzima koji potiču protein-tirozinsku fosforilaciju. Ti receptori uključuju protein-tirozin-fosfataze, protein-serin/treonin kinaze i gvanil ciklaze (Cooper i Hausman, 2009).

2.8. Drugi glasnici

Unutarstanična aktivacija enzima u signalnom lancu može dovesti do stvaranja malih signalnih molekula u stanici. Ove unutarstanične signalne molekule zovu se drugi glasnici. Aktiviraju srodne enzime za daljnji prijenos signala. Dolazi do prijenosa signala sa površine stanice do različitih unutarstaničnih ciljeva u procesu unutarstaničnog prijenosa signala. Svojstva važna za funkciju drugih glasnika su:

- **Drugi glasnici se mogu sintetizirati brzo iz prekursora enzimatskom reakcijom.** Enzimi koji sudjeluju u stvaranju drugih glasnika su dio signalnog puta i aktiviraju se tijekom signalizacije zbog proizvodnje drugih glasnika. Često, ovi enzimi mogu stvoriti veliki broj drugih glasnika, što dovodi do visoke lokalne koncentracije.
- **Drugi glasnici se mogu brzo ispustiti iz unutarstaničnih spremnika.** Na primjer, drugi glasnik Ca^{2+} je pohranjen u posebnom skladištu unutar stanice, endoplazmatskom retikulumu. Otpuštanje Ca^{2+} iz endoplazmatskog retikuluma

potiče inozitol-1,4,5-trifosfat (IP_3) (slika 8). IP_3 je također drugi glasnik koji nastaje hidrolizom membranskog fosfolipida fosfatidil-inozitol-4,5-bisfosfata (PIP_2).

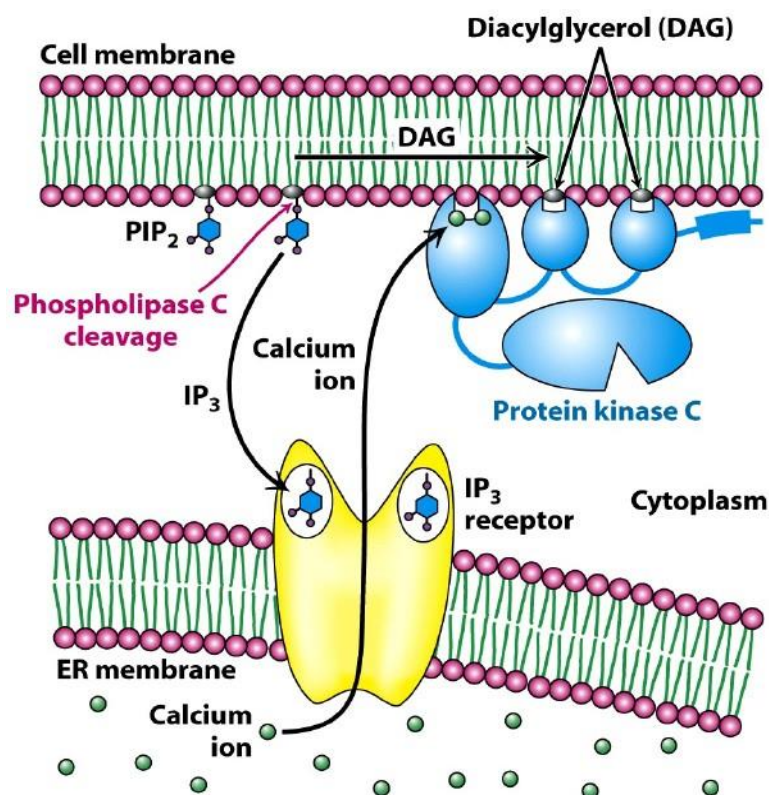
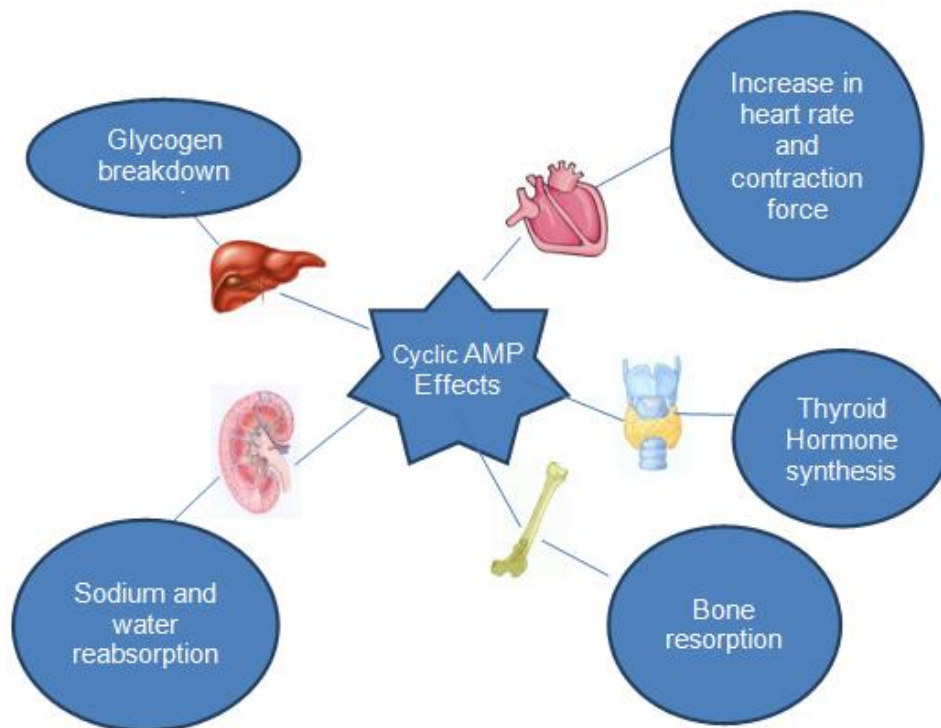


Figure 14-12
Biochemistry, Sixth Edition
 © 2007 W.H. Freeman and Company

Slika 8. Mehanizam otpuštanja Ca^{2+} (izvor: Jeremy i sur., 2006)

- **Drugi glasnici se mogu brzo inaktivirati ili pohraniti u specifične odjeljke.** Kako bi se omogućio prekid funkcije drugog glasnika, glasnike razgrađuju specifični enzimi ili se uklanjaju skladištenjem ili transportom u izvanstanični medij.
- **Drugi glasnici mogu aktivirati različite efektorske proteine.** Vezna mjesta za određen drugi glasnik (Ca^{2+} , cAMP) mogu se pojaviti na različitim signalnim proteinima. Ovo svojstvo omogućava drugom glasniku da regulira više ciljnih proteina, što dovodi do varijabilnosti signalizacije i isprepletenosti signalnih mreža (slika 9).



Slika 9. Efekti cikličkog AMP-a (cAMP) (izvor: web 7)

- **Drugi glasnici omogućuju pojačavanje signala.** Enzimatska proizvodnja velikog broja glasnika značajno pridonosi pojačavanju signala.

Trenutno su poznate dvije vrste drugih glasnika: citosolni glasnici i glasnici povezani s membranom.

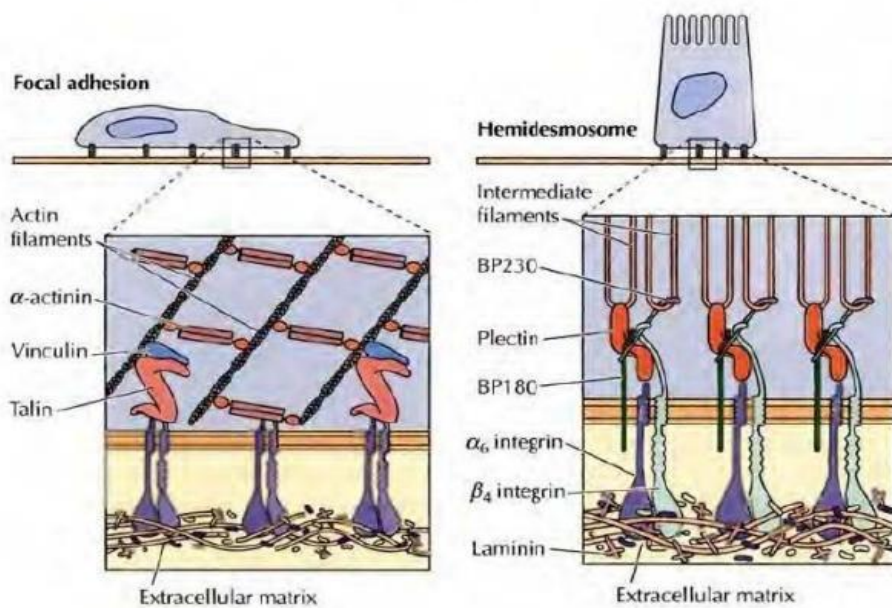
Citosolni glasnici se vežu na ciljne proteine tokom prijenosa signala. Djeluju kao efektori koji aktiviraju ili reguliraju signalizaciju.

Glasnici povezani s membranom komuniciraju sa svojim ciljnim proteinima na unutarnjoj strani stanične membrane. U ovom slučaju ciljni proteini mogu također biti povezani s membranom (Krauss, 2014).

2.9. Citoskelet i signalne mreže

Funkcija mnogih stanica ovisi o staničnoj adheziji i organizaciji citoskeleta. Receptori koji su odgovorni za staničnu adheziju potiču određene unutarstanične signalne puteve, dok promjene citoskeleta uzrokuju pokretanje stanice ili promjene njezina oblika.

Integrini su glavni receptori koji su odgovorni za prianjanje stanica za izvanstaničnu tvar. Dva su tipa stabilnih spojeva u kojima je citoskelet vezan s izvanstaničnim matriksom (slika 10). U fokalnim adhezijama, snopići aktinskih vlakana usidreni su na β -podjedinice većine integrina kroz združivanje s mnogim drugim proteinima, uključujući α -aktinin, talin i vinkulin. U hemidezmosomima integrin $\alpha_6\beta_4$ povezuje bazalnu laminu s intermedijarnim vlaknima preko plektina i BP230. BP180 ima ulogu u sklapanju i stabilnosti hemidezmosoma (Cooper i Hausman, 2009).

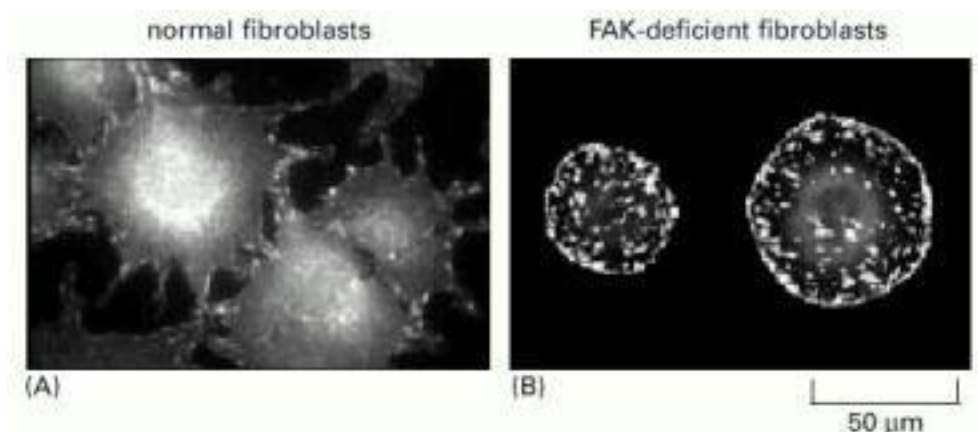


Slika 10. Spojevi između stanice i izvanstaničnoga matriksa posredovani integrinom (izvor: Cooper i Hausman, 2009)

Mnoge signalne funkcije integrina ovise o nerekceptorskoj protein-tirozin-kinazi nazvanoj FAK (prema engl. *focal adhesion kinase*). Ova kinaza je pronađena u fokalnim adhezijama. Fokalne adhezije često su najistaknutija mjesta fosforilacije tirozina kod stanica u kulturi, a FAK je jedan od glavnih tirozin-fosforiliranih proteina. Nakon vezanja za izvanstaničnu tvar, integrin se počinje nakupljati, što dovodi do lokalizacije FAK u fokalnim adhezijama.

Nakupljene FAK molekule međusobno se fosforiliraju na specifičnom tirozinu, stvarajući fosfotirozinska vezna mjesta za članove Src-porodice nerekceptorskih protein-tirozin-kinaza. Ove kinaze zatim fosforiliraju FAK na dodatnim tirozinima, stvarajući vezna mjesta za razne unutarstanične signalne proteine. Na ovaj način se signal prenosi unutar stanice.

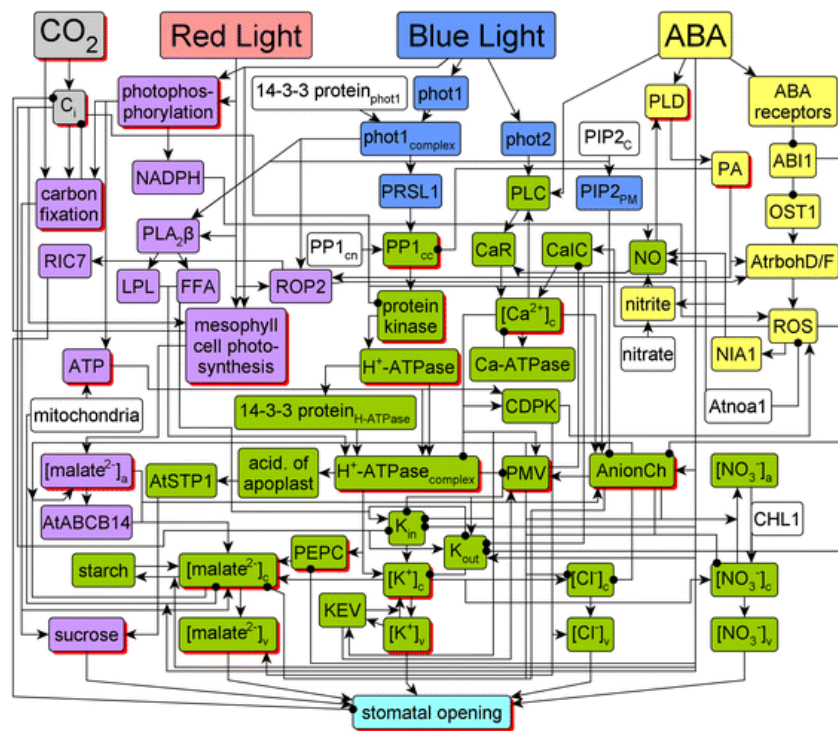
Jedan od načina analize funkcije FAK-a je proučavanje fokalnih adhezija kod stanica mutiranih miševa kojima nedostaju određeni proteini. Fibroblasti s manjkom FAK-a još uvijek se prislanjaju na fibronektin i tvore fokalne adhezije. Stvaraju jako puno fokalnih adhezija, a kao rezultat usporava se širenje i migracija stanica (slika 11). Navedeno sugerira da FAK obično pomaže u razgradnji fokalnih adhezija i da je gubitak adhezija potreban za normalnu migraciju stanica. Mnoge stanice raka imaju povišenu razinu FAK-a, što objašnjava zašto su često pokretnije od normalnih stanica (Alberts i sur., 2002).



Slika 11. Veliki broj fokalnih adhezija kod fibroblasta s manjkom FAK-a. Normalni fibroblasti i fibroblasti s manjkom FAK-a obilježeni su s antitijelima za vinkulin zbog lociranja fokalnih adhezija. (A) Normalni fibroblasti imaju manje fokalnih adhezija i proširili su se nakon dva sata u kulturi stanica. (B) U isto vrijeme, fibroblasti s manjkom FAK-a imaju više adhezija i nisu se raširili (Izvor: Alberts i sur., 2002).

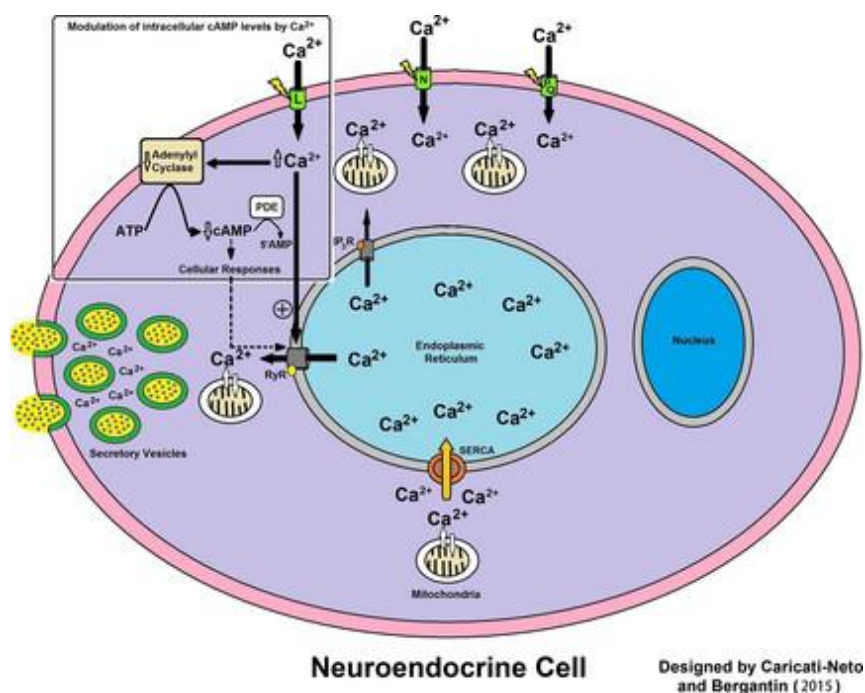
Članovi Rho-podskupine malih proteina koji vežu GTP (poput Rho, Rac i Cdc42) imaju ključnu ulogu u nadzoru nad organizacijom aktinskoga citoskeleta, a time i nad različitim staničnim zbivanjima, kao što su stanična pokretljivost i adhezija. Članovi obitelji Rho aktiviraju se integrinskim signaliziranjem i signaliziranjem potaknutim faktorima rasta.

Različiti signalni putevi unutar višestaničnog organizma nisu međusobno izolirani već međusobno komuniciraju pa prijenos signala unutar stanice treba shvatiti kao integriranu mrežu povezanih puteva (slika 12).



Slika 12. Mreža prijenosa signala za otvaranje puči kod biljaka (izvor: web 8)

Međusobno komuniciranje znači međusobno povezivanje različitih signalnih puteva kao što je povezanost signaliziranja Ca^{2+} i cAMP-a (slika 13), te integrinskog signaliziranja i nerekceptorskih protein-tirozin-kinaza. Veze između različitih puteva mogu biti pozitivne (ako jedan put potiče drugi) ili negativne (ako jedan put koči drugi). Uz mehanizme negativne povratne sprege koji kontroliraju aktivnost signalnih puteva, signalna mreža sadrži i mehanizme pozitivne povratne sprege, kao i mehanizme prijenosa unaprijed. Kod prijenosa unaprijed jedna komponenta puta potiče udaljenu, nizvodnu komponentu (Cooper i Hausman, 2009).



Slika 13. Povezanost signaliziranja Ca^{2+} i cAMP (izvor: web 9)

2.10. Programirana stanična smrt

Apoptoza ili programirana stanična smrt, normalan je proces koji je jedinstven za animalne stanice. Za ovaj proces karakteristično je smanjenje volumena stanice i jezgre, gubitak adhezijskih interakcija i razgradnja kromatina na male fragmente. Često se uspoređuje sa drugačijom vrstom stanične smrti koja se naziva nekroza. Poput apoptoze, nekroza je također reguliran i programiran proces, mnogo rjeđe prisutan u prirodi. Nekroza je odumiranje stanica u živim tkivima uzrokovano vanjskim neprirodnim uzrocima. Karakterizira je oticanje stanice i unutarstaničnih organela, pucanje membrane i istjecanje staničnog sadržaja u izvanstanični medij.

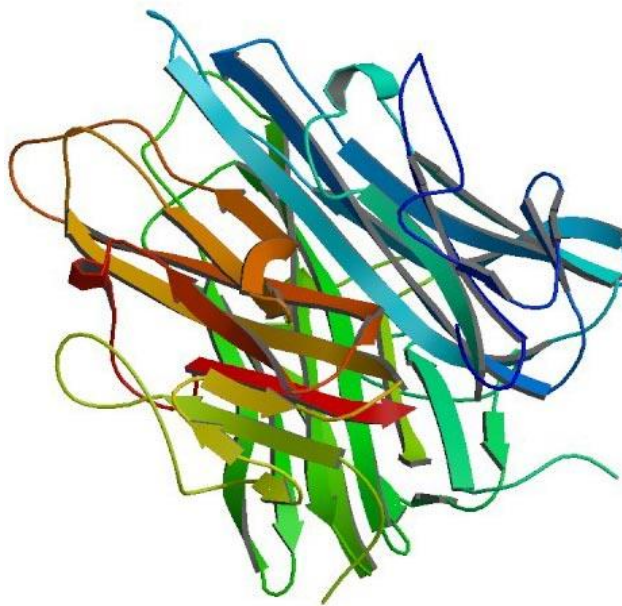
Za vrijeme embrionalnog razvoja, u njegovoj najranijoj fazi, ljudska ruka nalikuje veslu. Prsti se oblikuju kasnije procesom eliminacije viška stanica apoptozom. Apoptoza ne prestaje završetkom embrionalnog razvoja. Procijenjeno je da 10^{10} - 10^{11} stanica u tijelu odrasle osobe umre svaki dan procesom apoptoze. Također, apoptoza je važna za eliminaciju stanica koje organizmu više nisu potrebne ili imaju nepopravljivo oštećen genom.

Apoptoza je povezana s neurodegenerativnim bolestima poput Alzheimerove, Parkinsonove i Huntingtonove bolesti. Eliminacija esencijalnih neurona tijekom napredovanja

ovih bolesti dovodi do gubitka pamćenja ili smanjenja motoričke koordinacije. Bolesti mogu biti i posljedica neprovođenja apoptoze kada je uklanjanje stanica nužno (npr. stanica raka) ili zbog prekomjerne indukcije apoptoze u slučajevima kada eliminacija stanica nije potrebna (Karp, 2013).

2.10.1. Vanjski put apoptoze

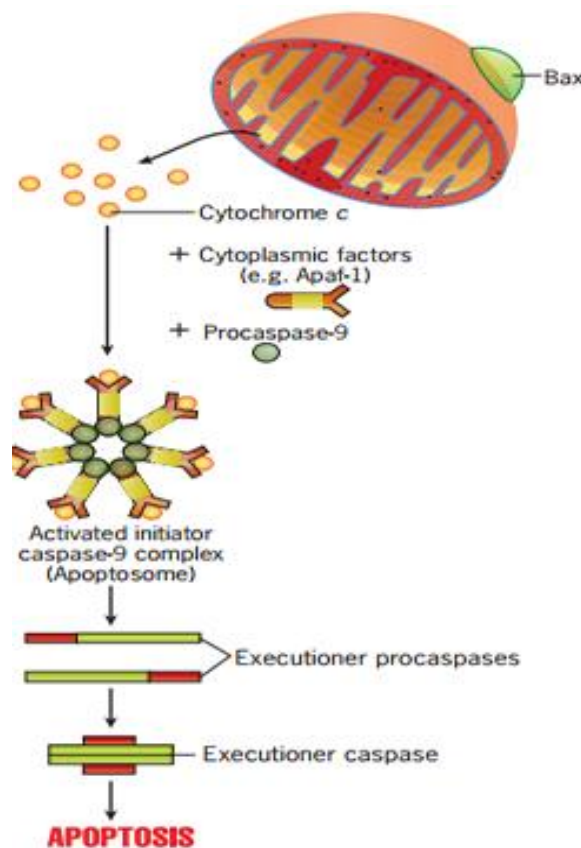
Poticaj za apoptozu prenosi izvanstanični proteinski glasnik nazvan faktor nekroze tumora (TNF, *tumor necrosis factor*) (slika 14). TNF je trimerni protein, kojeg sintetiziraju određene stanice imunološkog sustava kao odgovor na stanična oštećenja. TNF se veže za transmembranski receptor TNFR1. Aktivirani receptor veže dva različita citoplazmatska proteina (TRADD, FADD) i prokaspazu-8 da bi stvorio multiproteinski kompleks na unutarnjoj površini plazma membrane. U nastalom kompleksu dolazi do aktivacije kaspaze-8, koja dalje aktivira nizvodne kaspaze koje prenose signal i dovode do stanične smrti (Karp, 2013).



Slika 14. Struktura faktora nekroze tumora (TNF) (izvor: web 10)

2.10.2. Unutarnji put apoptoze

Unutarnji podražaji, poput nepopravljivih genetskih oštećenja, nedostatka kisika, virusne infekcije ili jakog oksidativnog stresa, pokreću apoptozu unutarnjim putem. Kao posljedica navedenih staničnih uvjeta, članovi porodice Bcl-2 proteina (BAX ili BAK) oligomeriziraju unutar vanjske mitohondrijske membrane, tvoreći kanale koji olakšavaju oslobađanje molekula citokroma c iz međumembranskog prostora mitohondrija. U citosolu molekule citokroma c formiraju kompleks s proteinom Apaf-1 i molekulama prokaspaze-9. Aktivirane prokaspaze-9 potiču nizvodne kaspaze (egzekutore stanične smrti) koje dovode do apoptoze (slika 15) (Karp, 2013).



Slika 15. Unutarnji put apoptoze (izvor: web 11)

Apoptoza također igra ulogu u progresiji tumora. Da bi stanica tumora migrirala do određenog dijela tijela (metastazirala), ona mora moći preživjeti u krvnom ili limfnom sustavu

i izvršiti invaziju u strano tkivo. U normalnim uvjetima apoptoza sprječava ovaj događaj jer stanice imaju mehanizam "samouništenja" kada ne dodiruju druge stanice ili izvanstanični matriks. Stanice tumora su specifične su u stanju izbjeći apoptozu i neprestano se dijeliti usprkos abnormalnostima (web 12).

3. SAŽETAK

Poznavanje stanične signalizacije važno je za razumijevanje osnovnih staničnih procesa, kao što su rast, razvoj, dioba stanica, diferencijacija, migracija i apoptoza. Stanična signalizacija omogućava međustaničnu komunikaciju, ali i funkcioniranje višestaničnog organizma kao funkcionalne cjeline. Brojni signalni putevi unutar višestaničnog organizma međusobno su povezani i čine integriranu komunikacijsku mrežu. Poznavanje načina komunikacije između zdravih stanica kao i unutarstaničnog prijenosa signala, osnova je za razumijevanje promjena koje nastaju tijekom razvoja različitih bolesti. Pogreške u staničnom signaliziranju uzrok su bolesti poput tumora, autoimunih bolesti i dijabetesa. Stanično signaliziranje jedno je od ključnih i gotovo neiscrpnih područja istraživanja staničnih i molekularnih biologa čiji je cilj stalno nadopunjavanje postojećih saznanja o međustaničnoj komunikaciji. Rezultati ovih istraživanja kontinuirano dovode do novih, učinkovitijih rješenja u terapiji brojnih bolesti kao i razvoja novih lijekova.

4. LITERATURA

- * Cooper G. M., Hausman R. E. (2009). *The Cell: A Molecular Approach*, Fifth Edition, Medicinska naklada, Zagreb.
- * Benkusky N. A., Lewis S. J., Kooy W. N. (1998). Attenuation of vascular relaxation after development of tachyphylaxis to peroxynitrite in vivo. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 275 (2): H501-H508.
- * Münzel T., Daiber A. (2017). Pharmacology of Nitrovasodilators. U: Nathan S. B., Joseph L., Nitrite and Nitrate in Human Health and Disease, Second Edition, Springer International Publishing AG, 195-216.
- * Deuel T. F. (1987). Polypeptide Growth Factors: Roles in Normal and Abnormal Cell Growth, *Annual Review of Cell Biology*, 3:443-492.
- * Rowland K. J., Choi P. M., Warner B. W. (2014). The Role of Growth Factors in Intestinal Regeneration and Repair in Necrotizing Enterocolitis. *Seminars in Pediatric Surgery*, 22 (2):101-111.
- * Wei L., Chengguan F., Weihong D., Shanwen H., Hui C., Mubashir E., Yang Y., Tian-rui X. (2020). Clinical use of vascular endothelial growth factor receptor inhibitors for the treatment of renal cell carcinoma. *European Journal of Medicinal Chemistry*, Vol. 200.
- * Berg J. M., Tymoczko J. L., Stryer L. (2006). *Biochemistry*, 6th Edition. Freeman W. H. Hardcover.
- * Krauss G. (2014). *Biochemistry of Signal Transduction and Regulation*, 5th Edition, Wiley-VCH, 25-26.
- * Alberts B., Johnson A., Lewis J., Raff M., Roberts K., Walter P. (2002). *Molecular Biology of the Cell*, 4th Edition, New York: Garland Science.
- * Karp G. (2013). *Cell and Molecular Biology*, 7th Edition, Wiley.

Mrežne stranice:

- * [web 1: https://courses.lumenlearning.com/wm-biology1/chapter/reading-types-of-signals/](https://courses.lumenlearning.com/wm-biology1/chapter/reading-types-of-signals/)
- * [web 2: https://www.khanacademy.org/science/biology/cell-signaling/mechanisms-of-cell-signaling/a/introduction-to-cell-signaling](https://www.khanacademy.org/science/biology/cell-signaling/mechanisms-of-cell-signaling/a/introduction-to-cell-signaling)
- * [web 3: https://www.britannica.com/science/steroid/Biosynthesis-and-metabolism-of-steroids#ref1001819](https://www.britannica.com/science/steroid/Biosynthesis-and-metabolism-of-steroids#ref1001819)
- * [web 4: https://www.khanacademy.org/science/biology/human-biology/neuron-nervous-system/a/overview-of-neuron-structure-and-function](https://www.khanacademy.org/science/biology/human-biology/neuron-nervous-system/a/overview-of-neuron-structure-and-function)
- * [web 5: http://watcut.uwaterloo.ca/webnotes/Pharmacology/Eicosanoids.html](http://watcut.uwaterloo.ca/webnotes/Pharmacology/Eicosanoids.html)
- * [web 6: http://2012.igem.org/Team:Chalmers-Gothenburg/Theory](http://2012.igem.org/Team:Chalmers-Gothenburg/Theory)
- * [web 7: https://www.pharmatutor.org/articles/role-of-secondary-messenger-system-in-signal-transduction?page=1%2C2](https://www.pharmatutor.org/articles/role-of-secondary-messenger-system-in-signal-transduction?page=1%2C2)
- * [web 8: https://link.springer.com/article/10.1186/s12918-016-0327-7](https://link.springer.com/article/10.1186/s12918-016-0327-7)
- * [web 9: https://www.researchgate.net/figure/Intracellular-signaling-pathways-mediated-by-Ca2-and-cAMP-Ca2-cAMP-interaction-When_fig1_282117477](https://www.researchgate.net/figure/Intracellular-signaling-pathways-mediated-by-Ca2-and-cAMP-Ca2-cAMP-interaction-When_fig1_282117477)
- * [web 10: https://www.cusabio.com/c-20601.html](https://www.cusabio.com/c-20601.html)
- * [web 11: https://www.sinobiological.com/research/signal-transduction/intrinsic-apoptosis](https://www.sinobiological.com/research/signal-transduction/intrinsic-apoptosis)
- * [web 12: https://www.cancerquest.org/cancer-biology/apoptosis?gclid=EAIaIQobChMIIPT_v-6q6wIVkqmyCh0HqQ4kEAAAYASAAEgLVyPD_BwE#2](https://www.cancerquest.org/cancer-biology/apoptosis?gclid=EAIaIQobChMIIPT_v-6q6wIVkqmyCh0HqQ4kEAAAYASAAEgLVyPD_BwE#2)