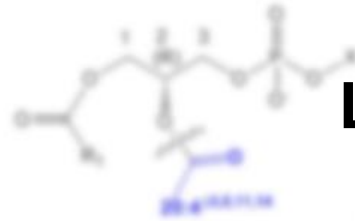


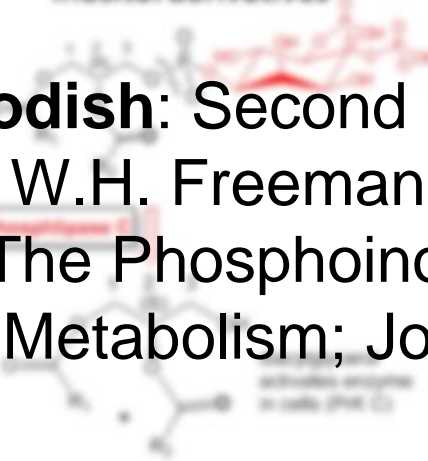


Lipidi in signalizacija

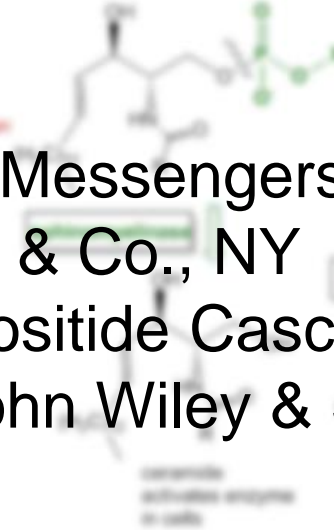
1-acyl, 2-arachidonyl
glycerophospholipid



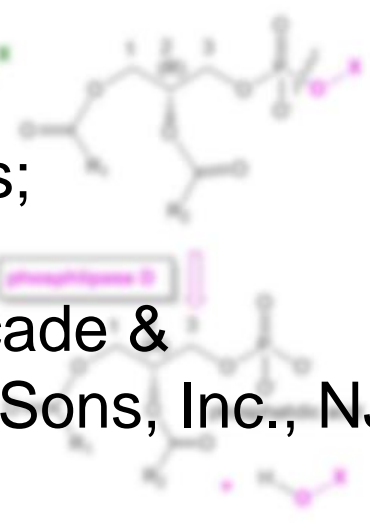
1,2-diacyl-sn-
phosphatidyl
inositol derivatives



sphingomyelin

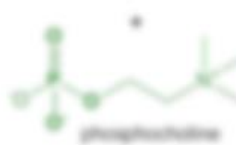
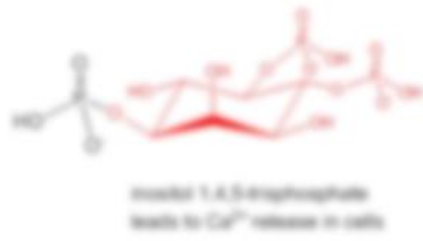
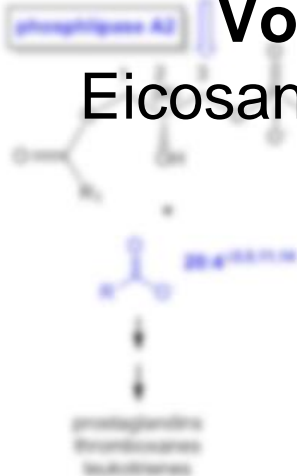


phosphatidyl X



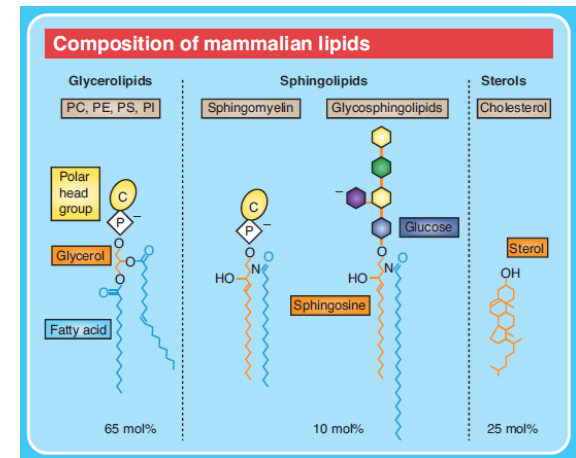
Lodish: Second Messengers;
W.H. Freeman & Co., NY

Voet: The Phosphoinositide Cascade &
Eicosanoid Metabolism; John Wiley & Sons, Inc., NJ



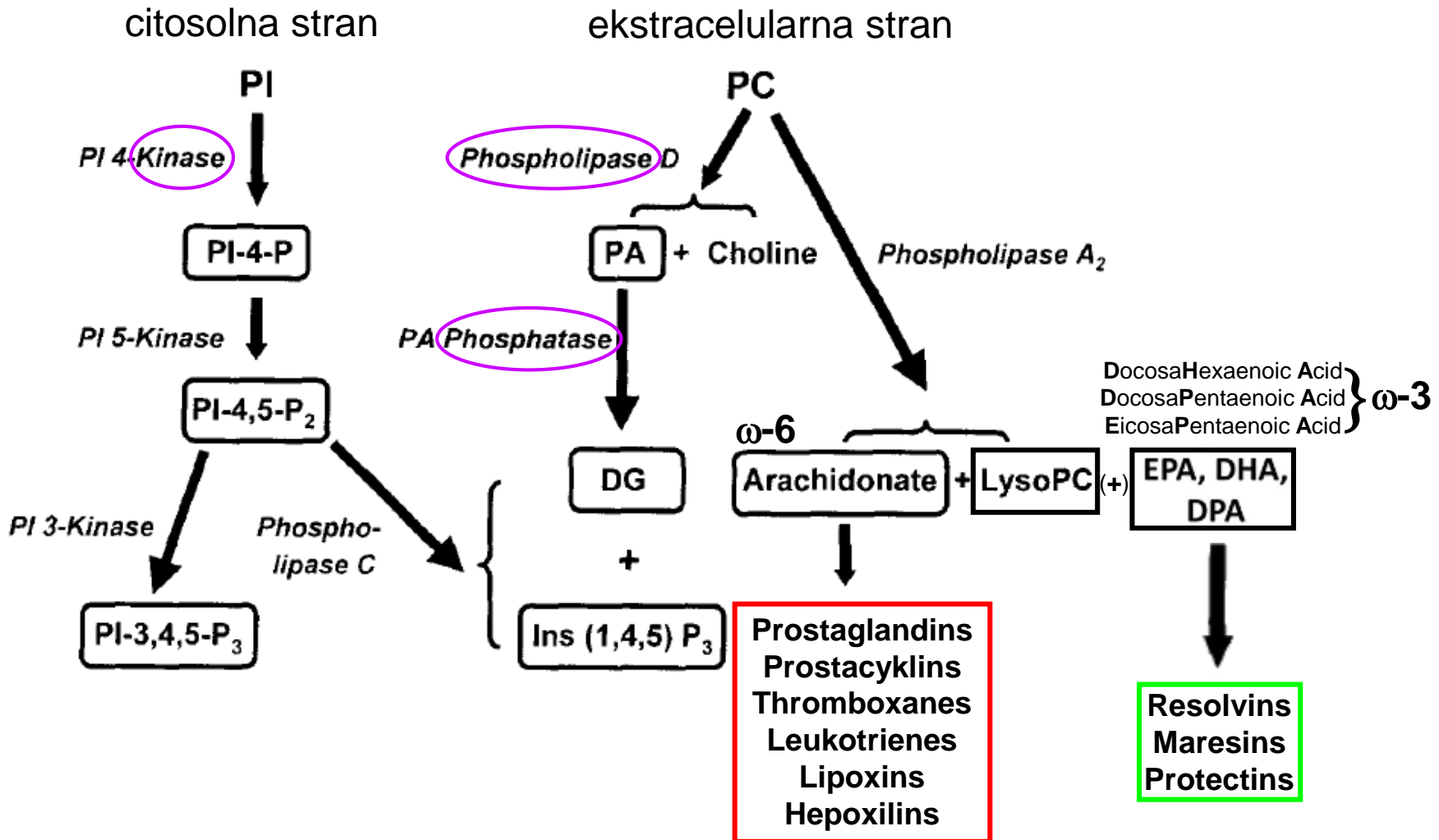
Razdelitev poglavja

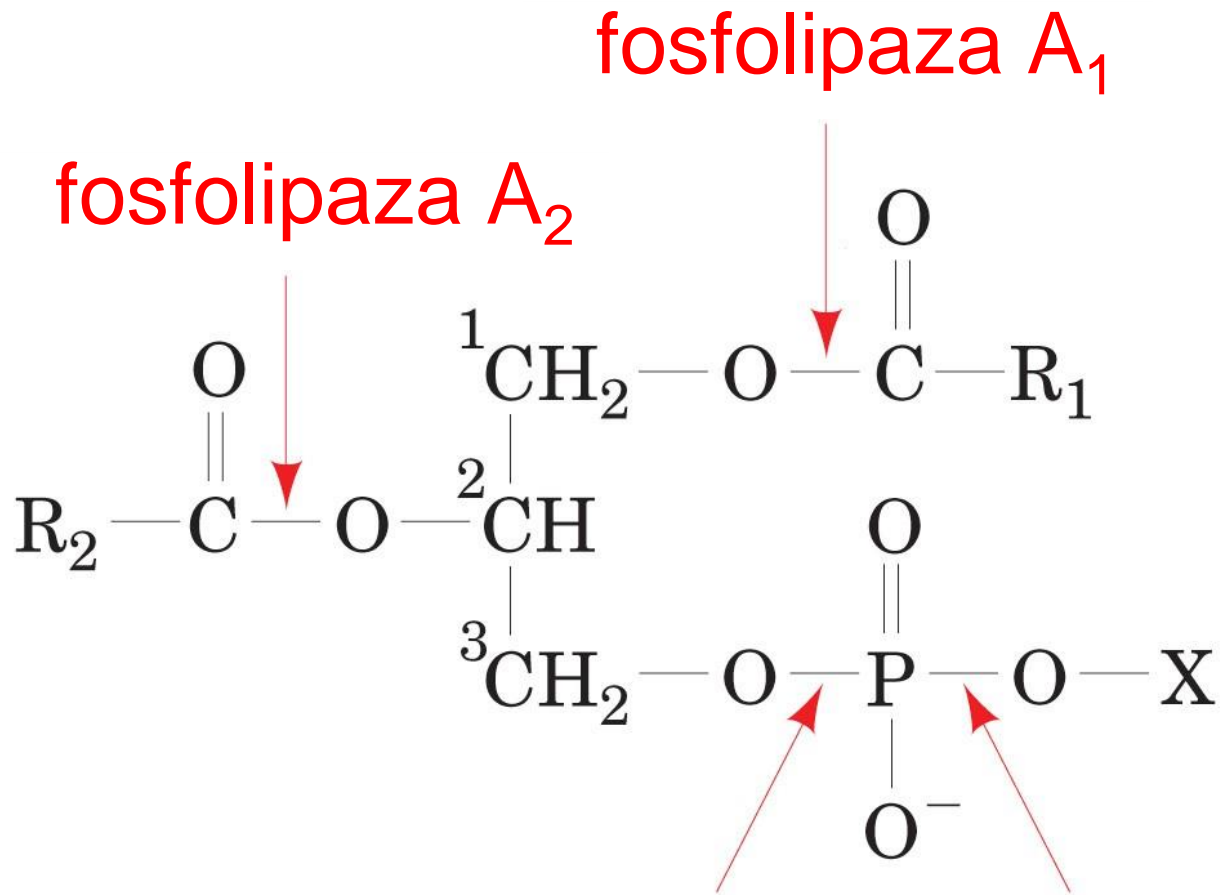
- Derivati **glicerola**:
fosfoinozitidi, diacilglicerol, lizofosfolipidi, plazmalogeni



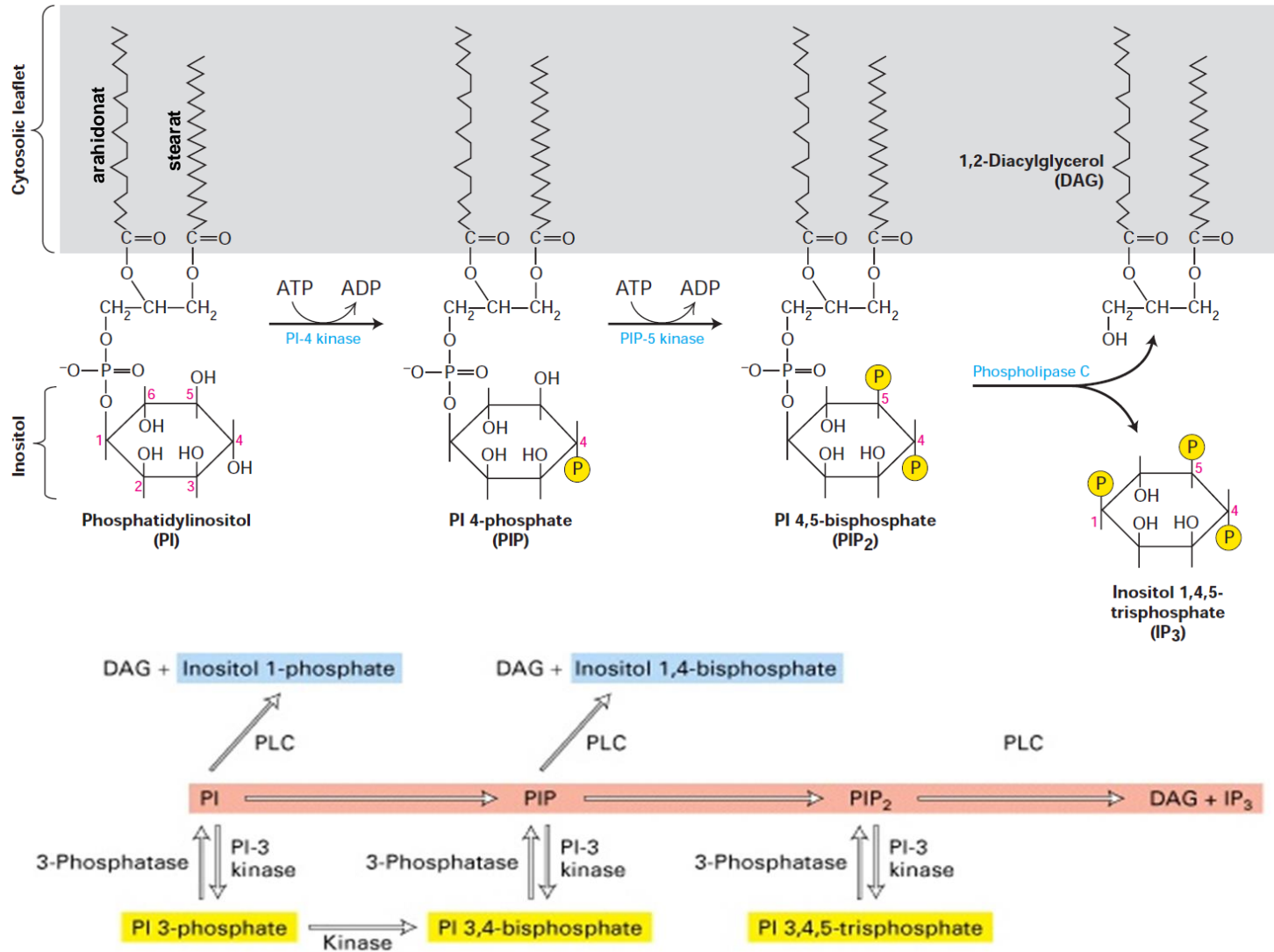
- Derivati **sfingozina**: *ceramidi, sfingozin-1-fosfat*
- Derivati **arahidonske kisline** - eikozanoidi:
prostaglandini, levkotrieni, tromboksani, resolvini...
- **Holesterol** in njegovi derivati: *steroidni hormoni*

Glicerofosfolipidi in signalizacija

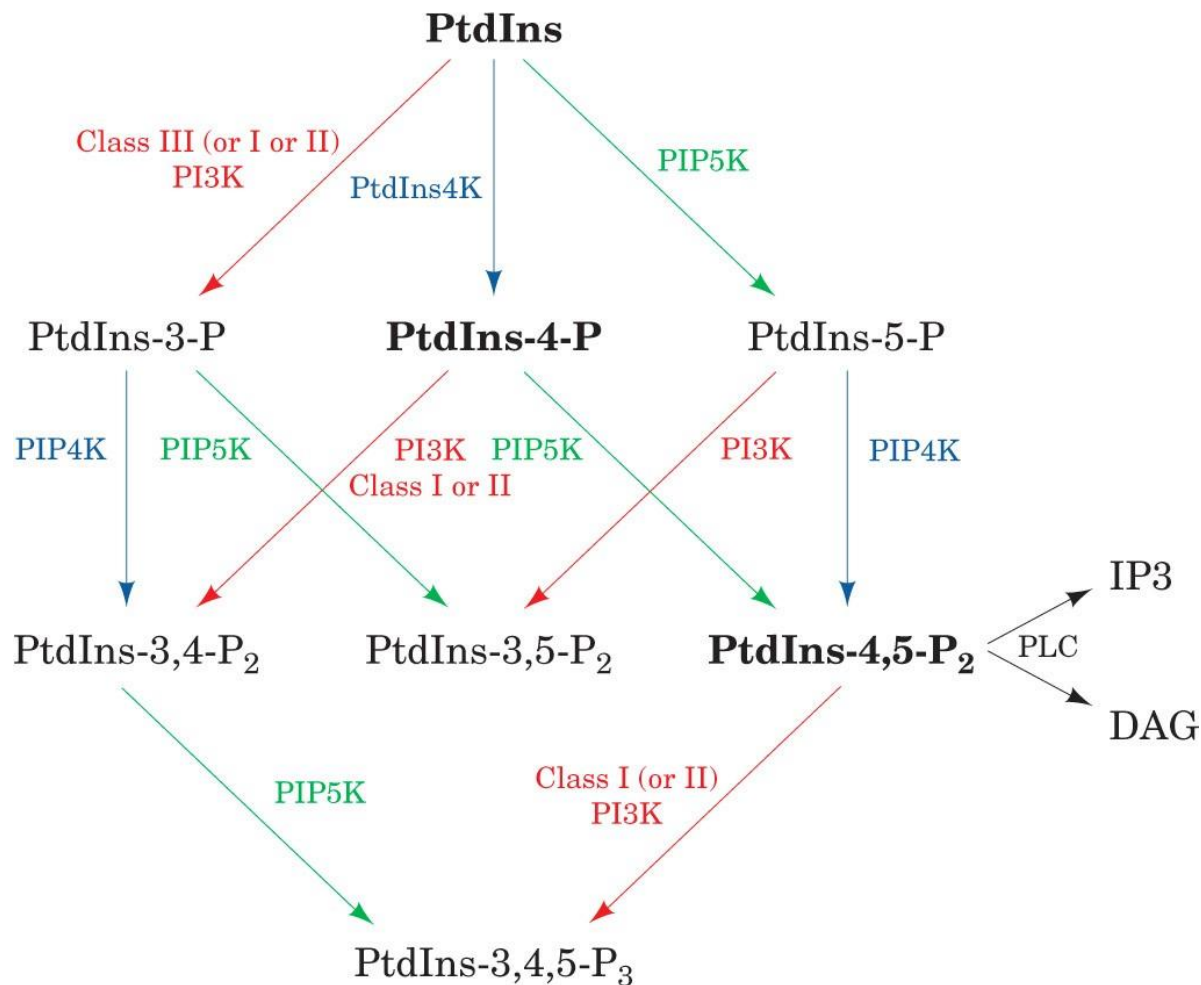




Derivati fosfatidilinozitol (PI)

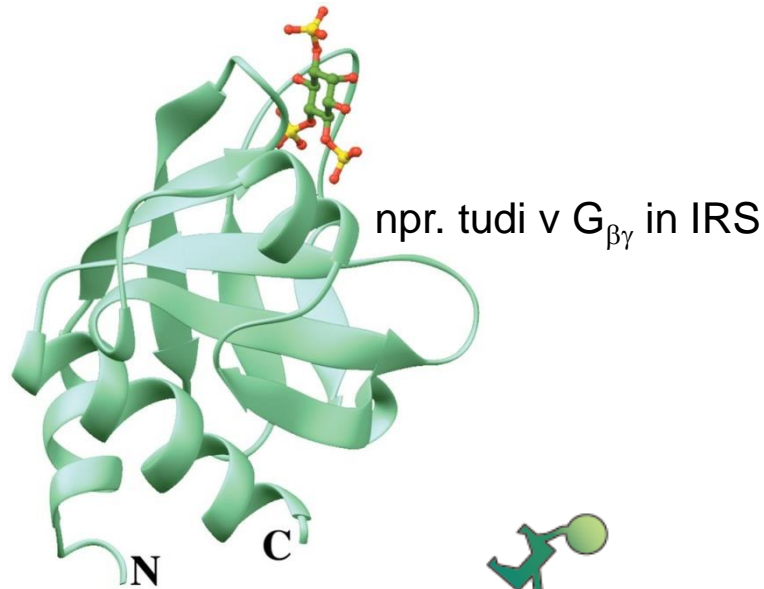


Biosinteza fosfoinozitudov v sesalskih celicah

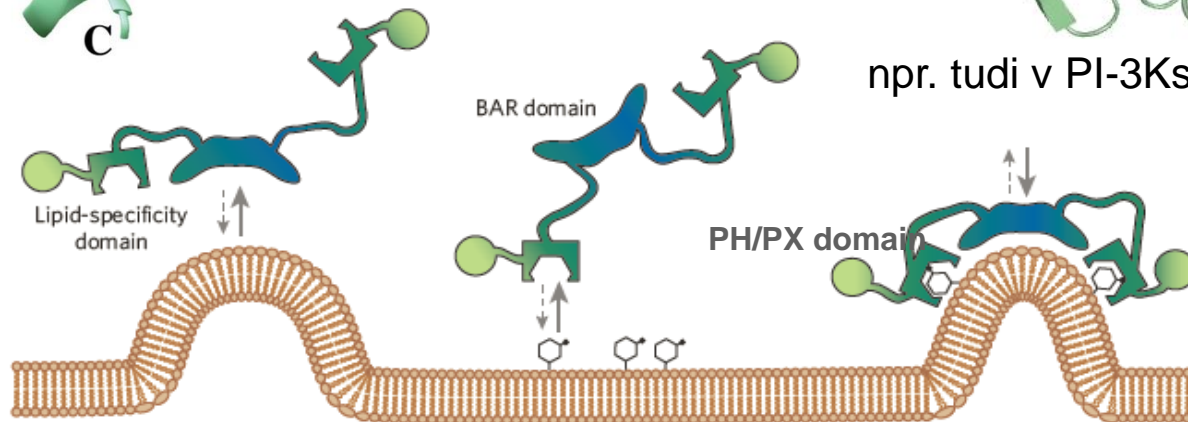
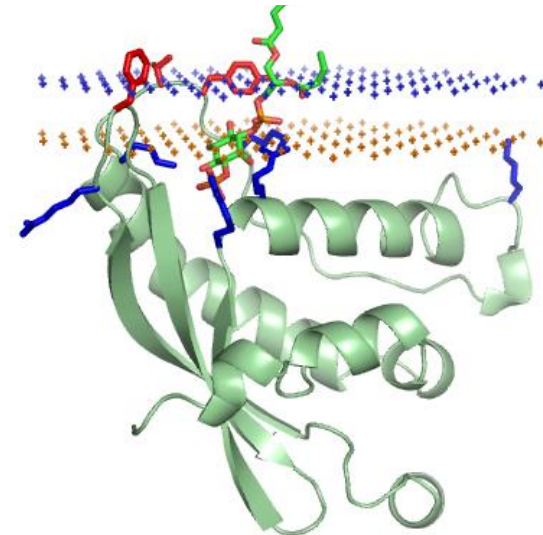


Fosfoinozitidi kot membranska sidra

3D-struktura **plekstrinu homologne (PH)** domene PLC- δ 1 v kompleksu s PI-3,4,5-P3. (veže tudi PI-4,5-P2)



3D-struktura **phagocytic oxidase ali phox (PX)** domene NADH oksidaze v kompleksu s PI-3-P.



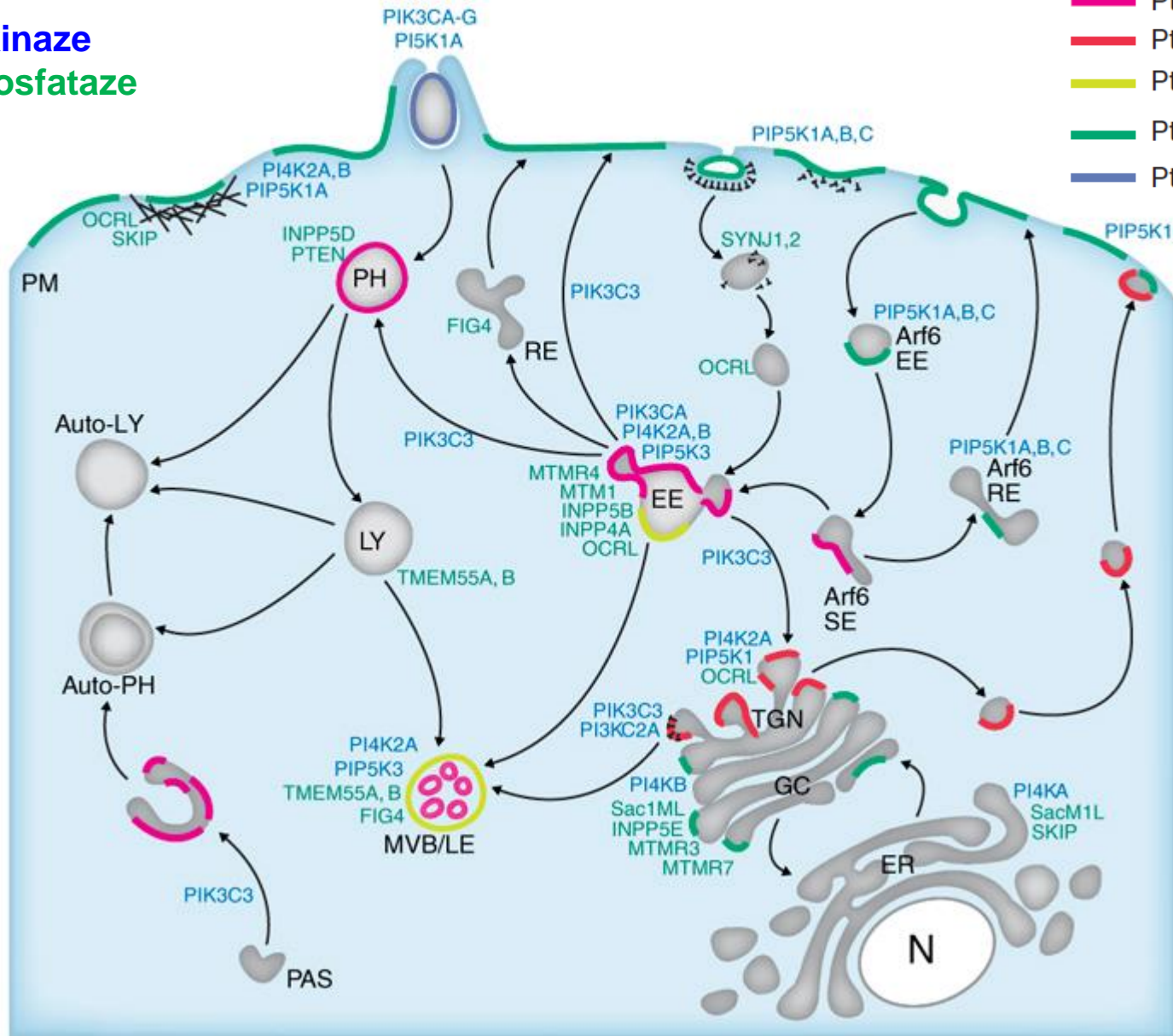
npr. tudi v PI-3Ks in PLD

Druge PI-vezavne domene v proteinih: GRAM, GLUE, FYVE, ENTH, FERM ...

Celična razporeditev fosfoinozitidov in encimov, ki jih modificirajo

PI-kinaze
PI-fosfataze

- █ PtdIns(3)P
- █ PtdIns(4)P
- █ PtdIns(3,5)P₂
- █ PtdIns(4,5)P₂
- █ PtdIns(3,4,5)P₃



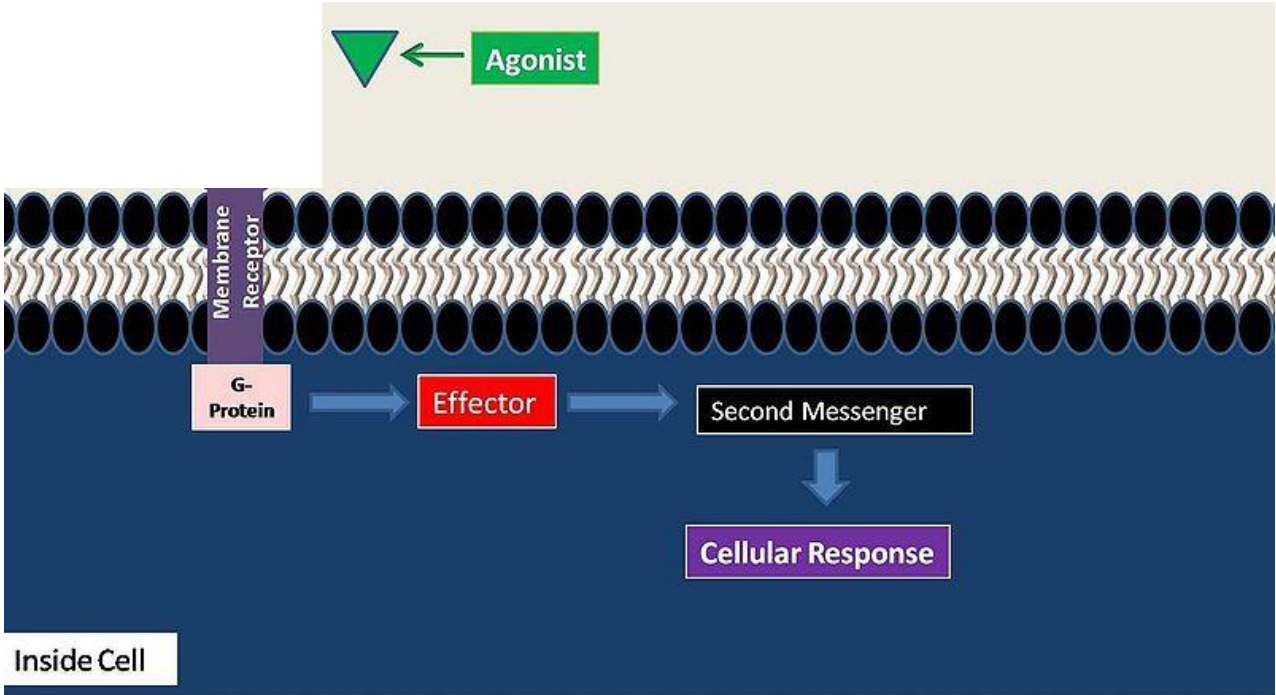
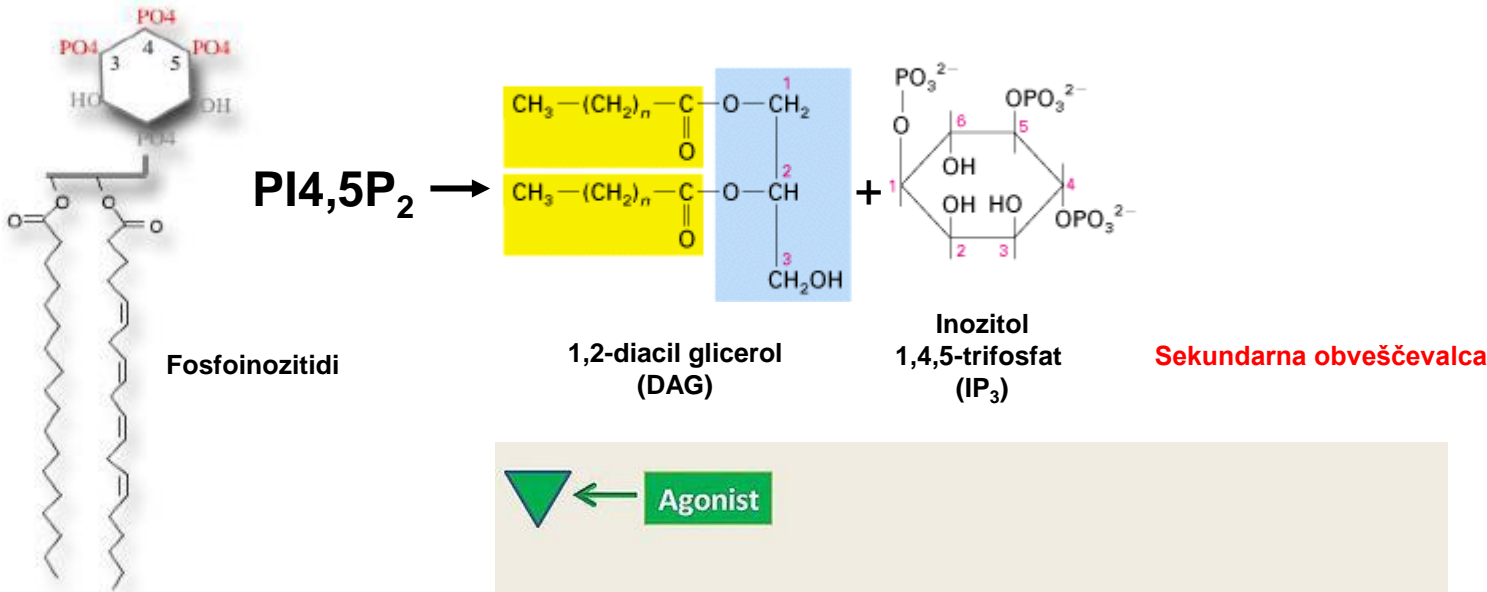
Proteini, ki se vežejo na fosfoinozotide, in sodelujejo pri membranskemu transportu

Fosfoinozitidi regulirajo tudi:

- celično rast,
- preurejanje citoskeleta
- dogajanja v jedru ...

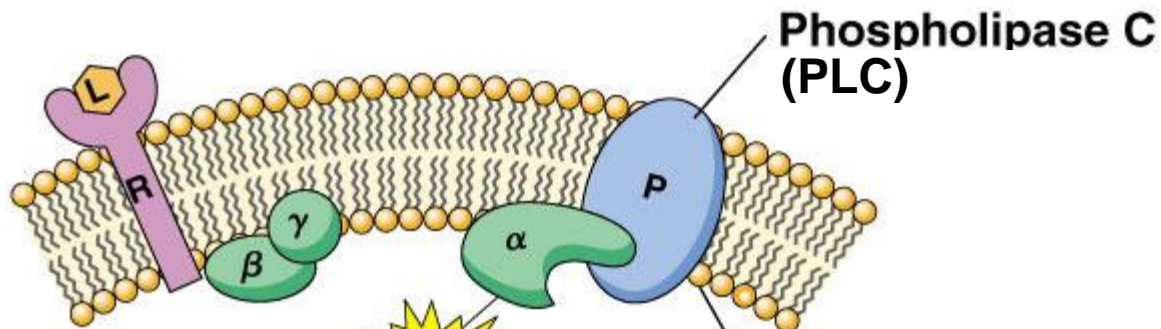
	PI targets	PI	PI-binding module	Membrane trafficking pathway	
Small GTPases accessory proteins	Arf-GEF	ARNO	PI45P2, PI345P3, PI34P2	PH	Endocytosis
		Cytohesin-1	PI345P3	PH	Phagocytosis
		EFA6	PI45P2	PH	Endocytosis
		ARAP1	PI345P3	PH (multiple)	Endocytosis
		ARAP2	PI345P3	PH (multiple)	Endocytosis
		ARAP3	PI345P3	PH (multiple)	Endocytosis
	Arf-GAP	Centaurin 1 α	PI345P3	PH (multiple)	Endocytosis
		ACAP1	PI45P2, PI34P2, PI35P2, PIP3	PH	Sorting at endosomes
		ACAP2	PI45P2	PH	Sorting at endosomes
		ASAP1	PI45P2, PIP3	PH	Sorting at endosomes
		AGAP1	PI45P2	PH	Endo-lysosomal trafficking
		AGAP2	PI45P2	PH	Endo-lysosomal trafficking
		GIT1	PI345P3	ND	Endocytosis
		ArfGAP1	PI45P2	ND	Vesicle budding at the Golgi
Rab-Rab-GAP	ArfGAP3	PI45P2	ND	ND	
	HERC1	PI45P2	RLD1	Coatomeer assembly Endocytosis	
Coats and adaptors	Rabphilin3A	PI45P2	C2	Secretion	
	AP-1 γ	PI4P	Positively charged patch	TGN-endosome trafficking	
	EpsinR	PI4P	ENTH	Sorting at endosomes	
	AP-2 α , AP-2 μ	PI45P2	Positively charged patch	Endocytosis	
	AP3	PI45P2	ND	Endo-lysosomal trafficking	
	AP180/CALM	PI45P2	ANTH	Endocytosis	
	CLINT	PI4P, PI35P2, PI45P3, PIP3	ENTH	Formation of clathrin-coated vesicles	
	HIP1/HIP1R	PI45P2, PI34P2, PI35P2	ENTH	Endocytosis	
	GGA s	PIP4	GAT	Sorting at TGN	
	Dab2	PI45P2	PTB	Endocytosis	
	ARH	PI45P2	ND	Endocytosis	
	Epsins 1-3	PI45P2	ENTH	Endocytosis	
	β -Arrestins	PI45P2	ND	Endocytosis	
	Hrs	PI3P	FYVE	Sorting at endosomes	
Sorting nexins	SNX1	PIP3, PI35P2, PI3P	PX	Sorting at endosomes	
	SNX2	PI3P>PI4P>PI5P	PX	Sorting at endosomes	
	SNX3	PI3P	PX	Endosomes TGN trafficking	
	SNX5	PI4P, PI5P, PI35P2	PX	Sorting at endosomes	
	SNX9	PI3P, PI34P2, PI35P2, PI45P2	PX	Sorting at endosomes	
	SNX10	PI3P	PX	Endocytosis	
	SNX13	PI3P=PI5P>PI35P2, PI4P	PX	Sorting at endosomes	
	SNX16	PI3P	PX	Endo-lysosomal trafficking	
	SNX17	PI3P	PX	Sorting at endosomes	
	ESCRT	ESCRTII	PI3P>PI34P2	GLUE	Endo-lysosomal trafficking
ESCRTIII		PI3P, PI35P2	ND	Endo-lysosomal trafficking	
Fission	Dynamin1, 2, 3	PI45P2	PH	Severing vesicles and tubules from the TGN and PM	
	Amphiphysin 2-Bin1	PI45P2	Exon10	Endocytosis	
Fusion	EEA1	PI3P	FYVE	Endosomes	
	Rabenosyn5	PI3P	FYVE	Endosomes	
	Synaptotagmin	PI45P2	C2	Regulated exocytosis	
	SCAMP2	PI45P2	Hydrophobic region	Regulated exocytosis	
	VAMP8	PI3P	ND	Phagocytosis	
	Exophilin4/Slp-2	PI45P2	C2	Regulated exocytosis	
	SNAP25/Syntaxin1A	PI45P2	ND	Regulated exocytosis	
Actin and MT-based motors	KIF1A	PI45P2	PH	TGN-PM and synaptic vesicles from transport	
	KIF16B	PI3P, PI345P3	PX	Sorting at endosomes	
	GAKIN/KIF13B	PI345P3	FHA	Neuronal vesicles transport	
	Myosin VI	PI45P2	ND	Golgi-PM and endocytic vesicle transport	
	Myosin 1C	PI45P2	PH	Glut4 trafficking and Golgi-PM trafficking	
	Myosin X	PI345P3	PH	Phagocytosis	
	Dynein/dynactin	PI345P3	ND	ER-Golgi and endosome-TGN transport	

Derivati PI kot sekundarni obveščevalci



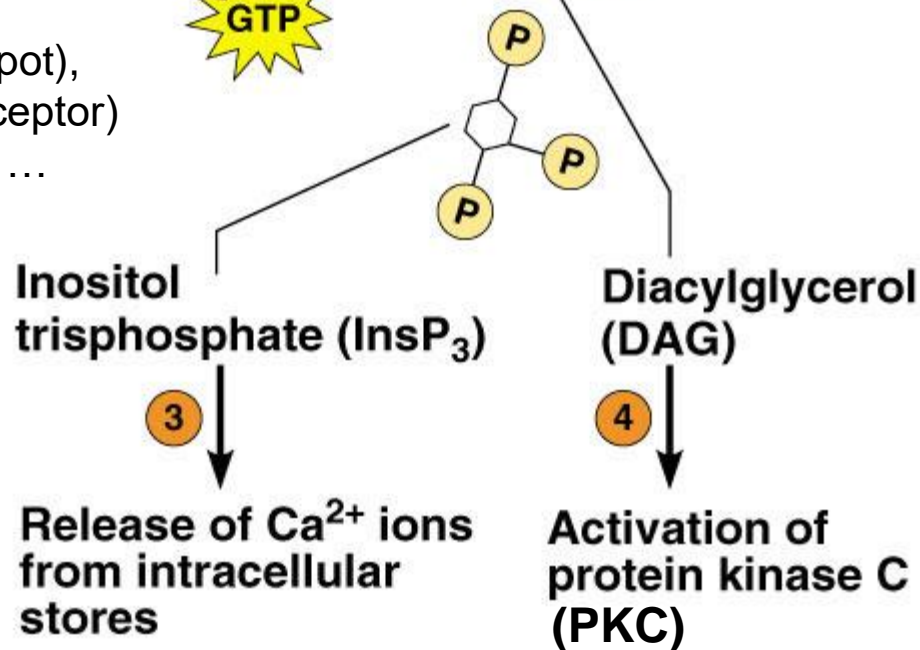
R = **GPCR** (PLC β , PLC γ \Rightarrow IP $_3$ /DAG pot)

L = **hormon** (vazopresin, TSH, tromboksan A $_2$, angiotenzin ...)



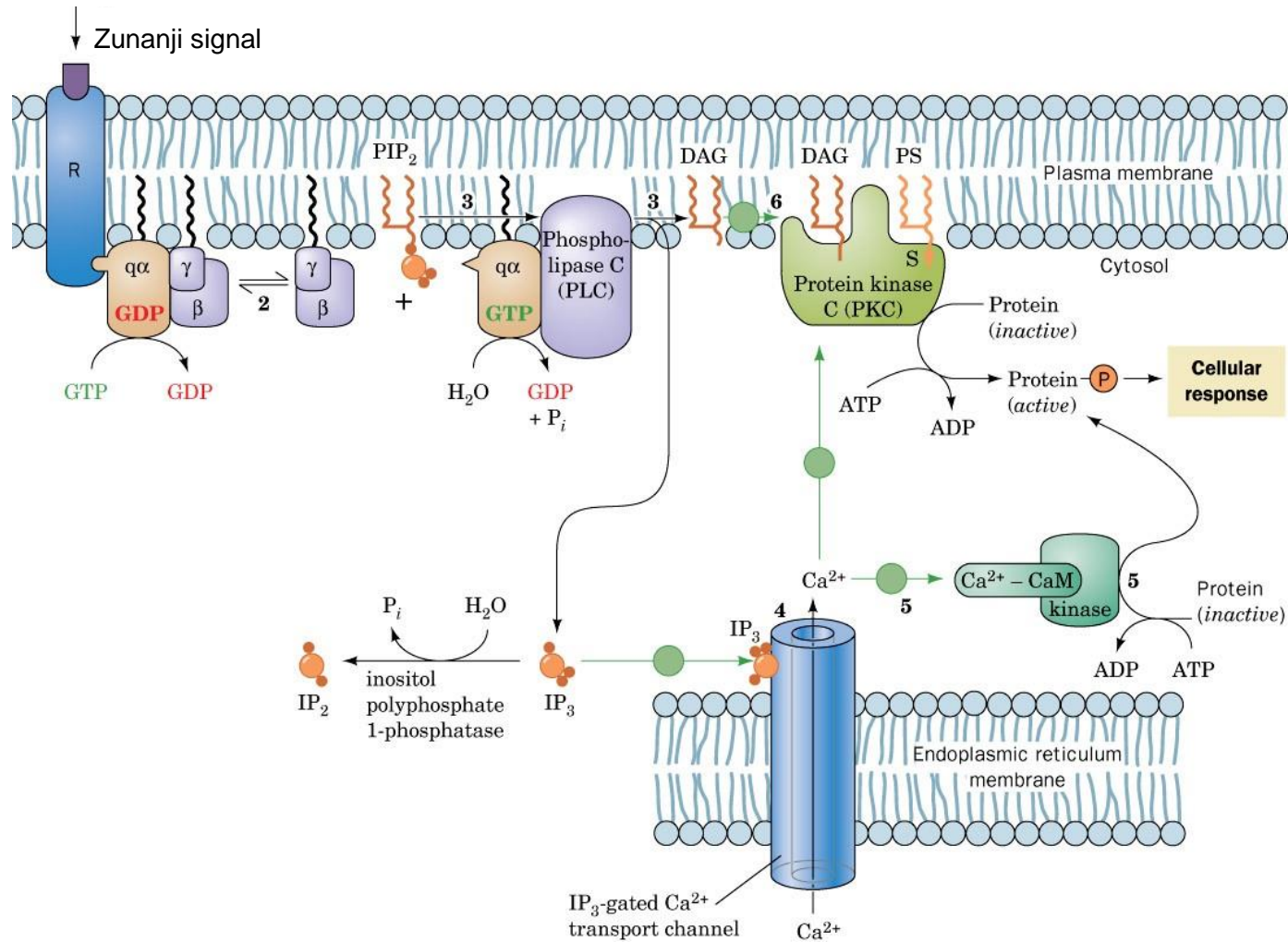
R = **RTK** (PLC γ \Rightarrow IP $_3$ /DAG pot),
(npr. citokinski, T-celični receptor)

L = **rastni faktorji, citokini, ...**



13 sesalskih **PLC** je na osnovi strukture razvrščenih v 6 skupin (β , γ , δ , ϵ , ζ , η), ki se razlikujejo v načinu aktivacije.

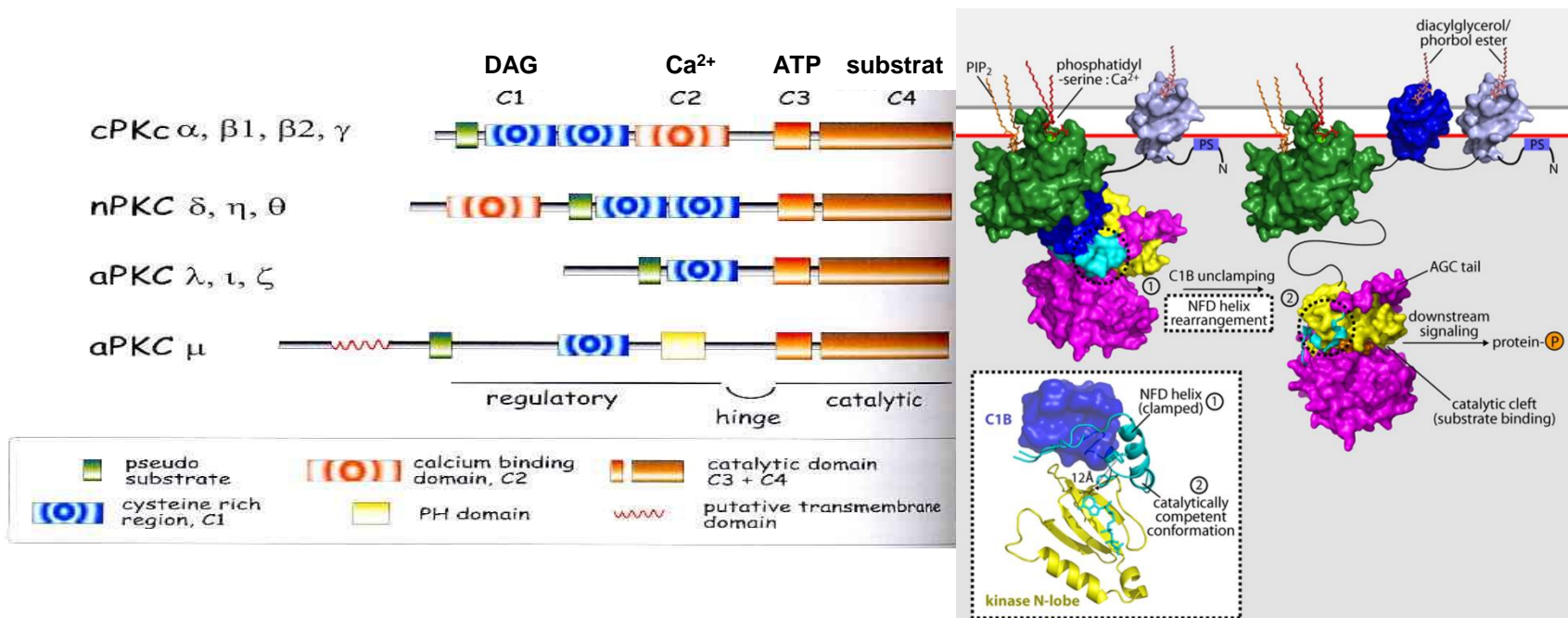
Signalizacija preko GPCR–PIP2–PKC sistema



Prenos signala, ki vključuje G_q, stimulira **PLC**, tako da iz PIP₂ nastaneta DAG (so-aktivator za PKC) in IP₃ (odpre Ca²⁺-kanalčke v membrani ER).

Družina protein kinaz C

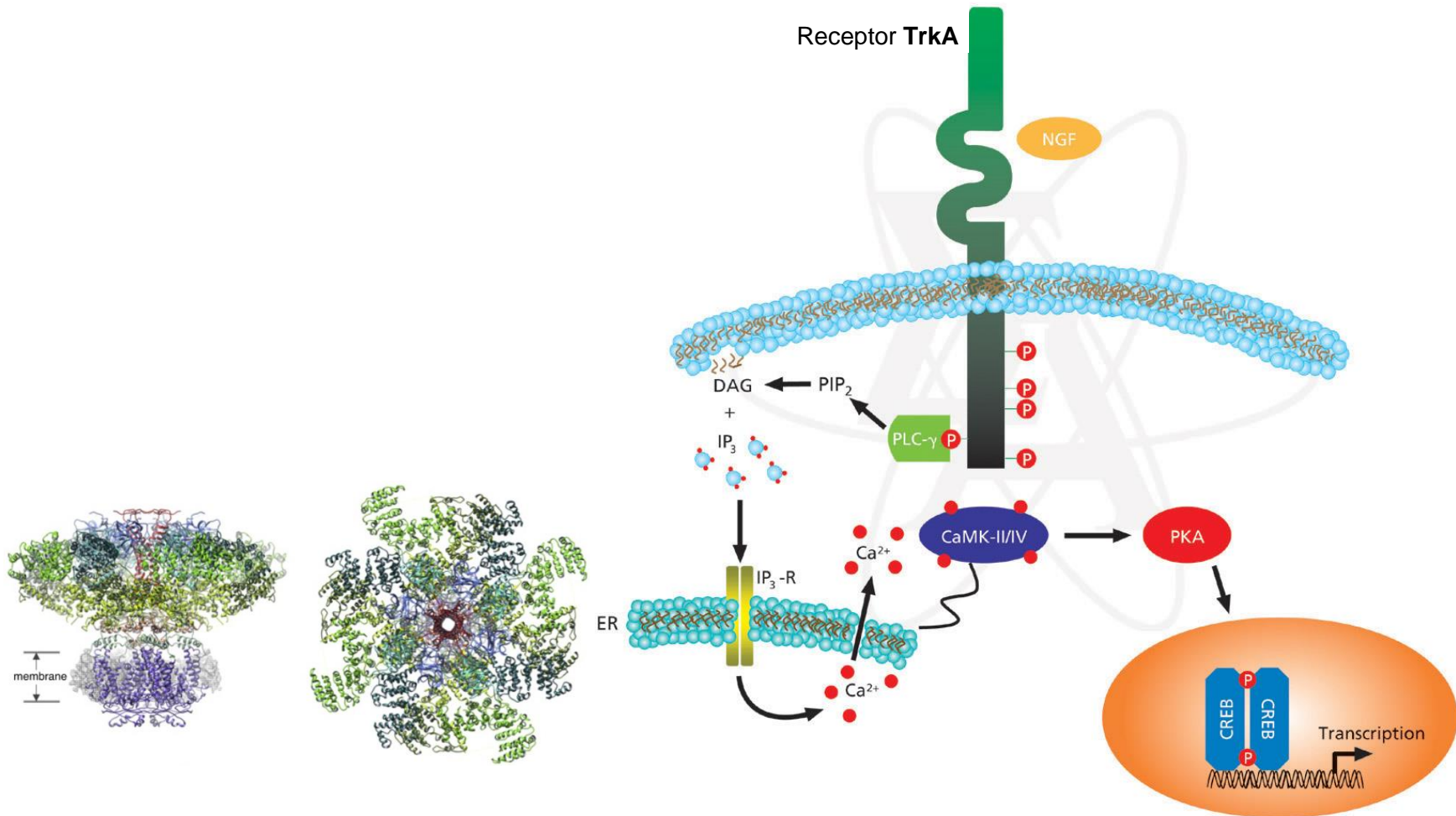
Poddružina	Izooblake	Aktivatorji
konvencionalne (cPKC)	α , $\beta 1$, $\beta 2$, γ	DAG, PS, Ca^{2+}
nove (nPKC)	δ , ϵ , η , θ	DAG, PS
atipične (aPKC)	λ , τ , ξ , μ (PKD)	PS



PKC, s fosforilacijo specifičnih Ser in Thr, nadzirajo aktivnost proteinov v več signalnih kaskadah.

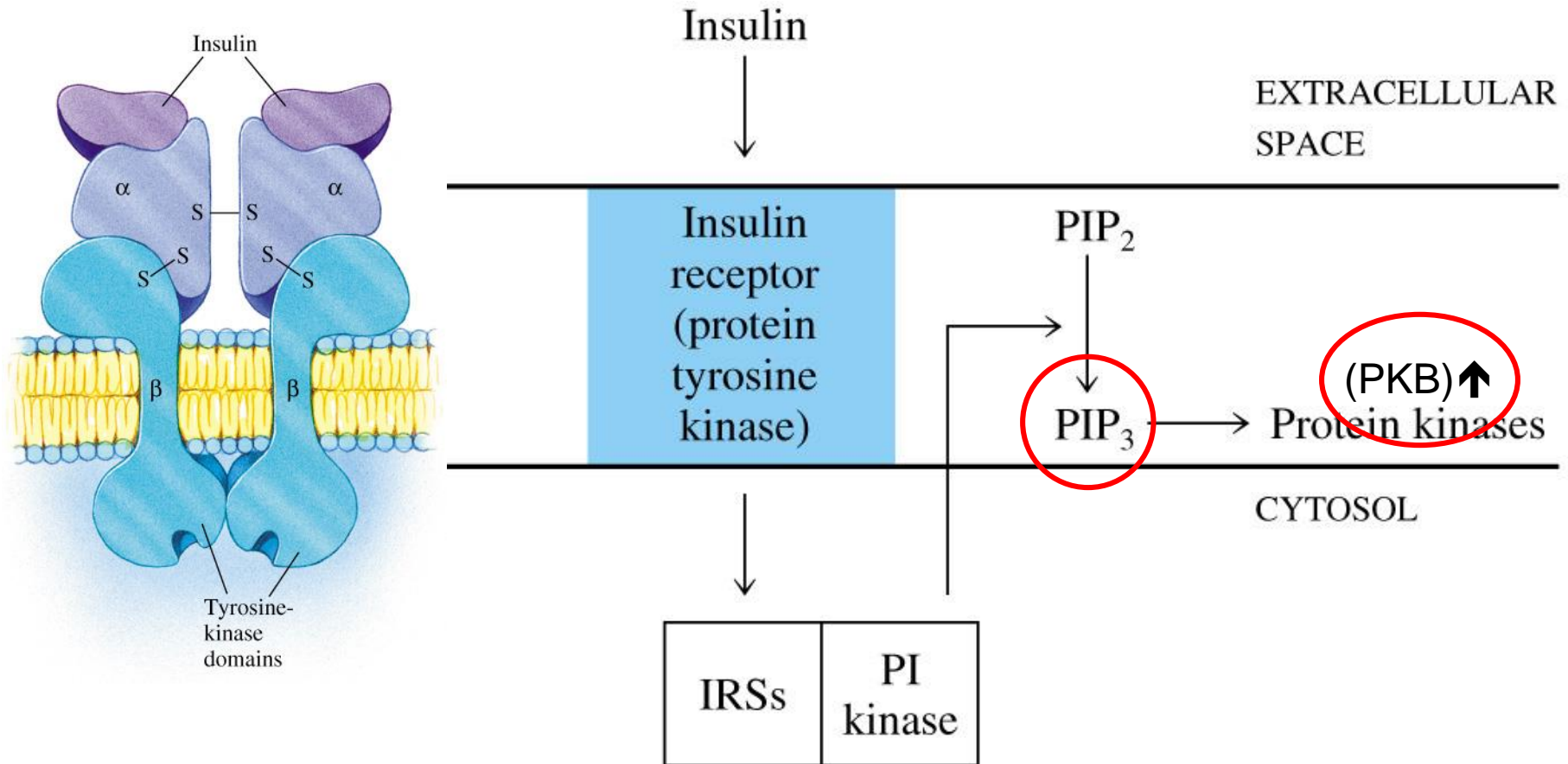
cPKC in nPKC se aktivirajo v isti signalni poti kot PLC.

Signalizacija preko RTK–PIP2–PLC sistema



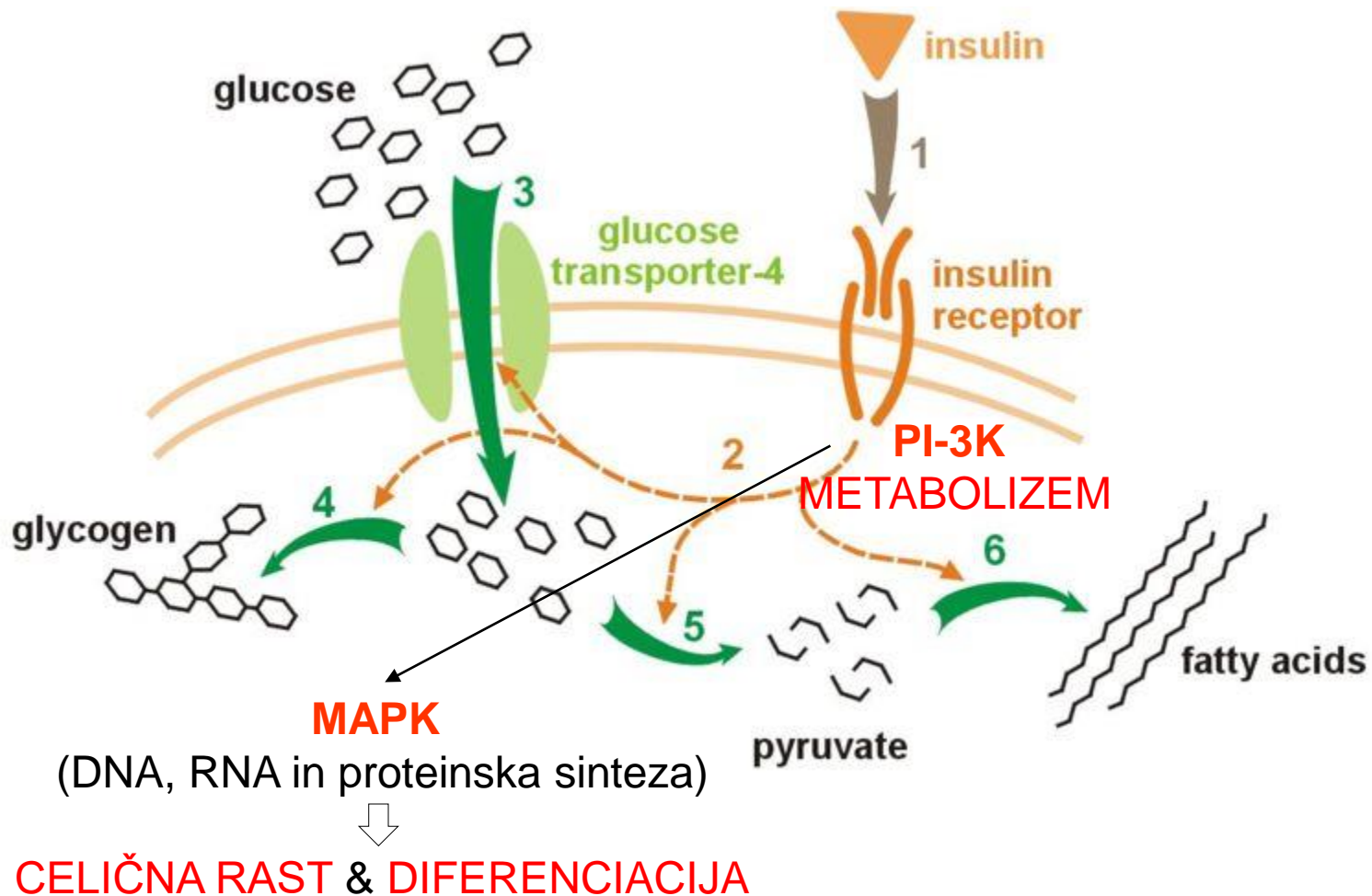
Prenos signala, ki vključuje RTK in **PLC γ** ; nastajata DAG in IP₃. Iz ER se sprosti v citosol Ca²⁺, ta pa se veže npr. na kalmodulin (CaM). Več učinkov je posledica delovanja od Ca²⁺/CaM-odvisnih protein kinaz (CaMK).

Signalizacija preko RTK–PIP2–PI-3K sistema: fosfoinozitidi kot stimulatorji katalitske aktivnosti



Inzulinski receptor je Tyr-kinaza (RTK), ki fosforilira proteinske substrate v citosolu (IRS = Insulin Receptor Substrate). Ti se vežejo na **PI-3 kinazo (PI-3K)**, jo aktivirajo, da katalizira nastanek PIP₃. PIP₃ potem signal prenese na znotrajcelične protein-kinaze, **aktivira** npr. **PKB**.

Učinki inzulina na celico

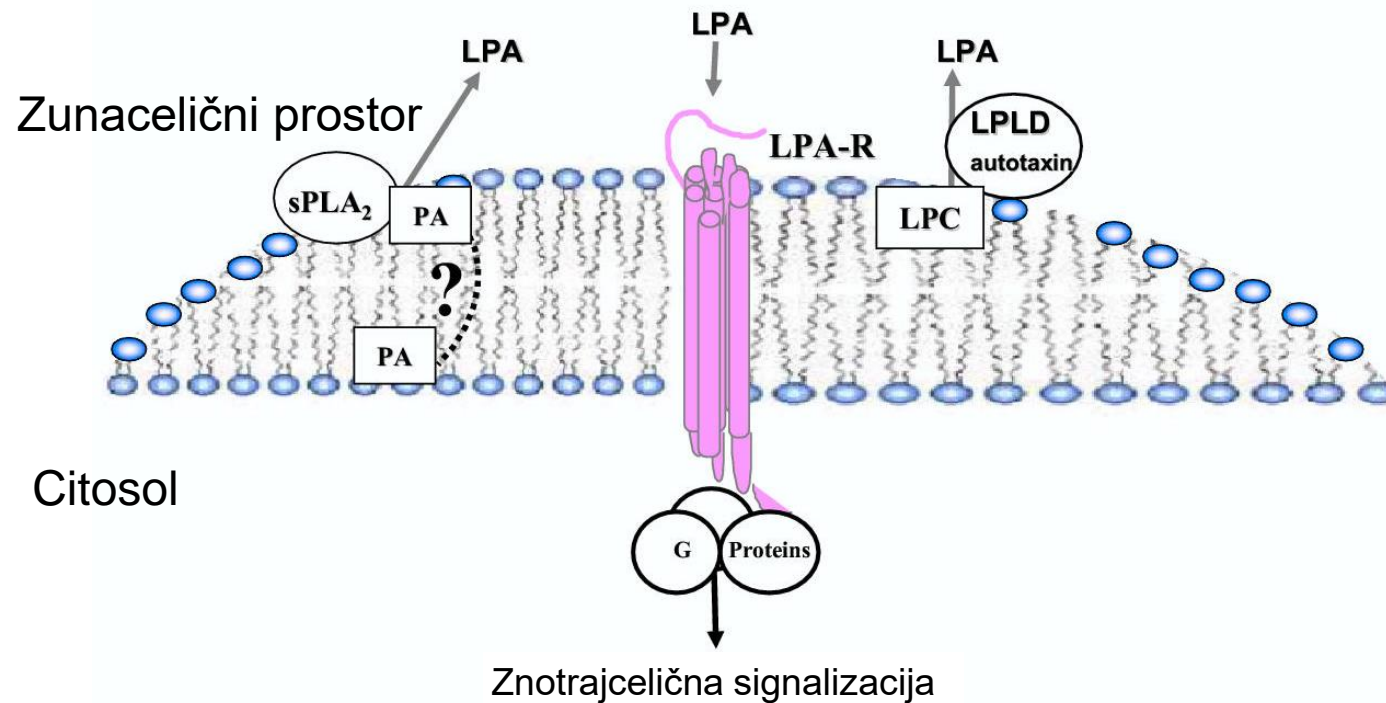


Nekateri procesi, ki so posledica nastanka IP_3 (in posledično dviga $[Ca^{2+}]_i$)

Tkivo	Sprožitelj sinteze IP_3	Proces
Pankreas (acinarne celice)	Acetilholin	Izločanje prebavnih enc. (amilaza, tripsinogen)
Parotidna žleza (žleza slinavka)	Acetilholin	Izločanje amilaze
Pankreas (β celice)	Acetilholin	Izločanje insulina
Gladke mišice žil ali želodca	Acetilholin	Skrčenje
Jetra	Vazopresin	Glikogen v Glc
Trombociti	Trombin	Agregacija, spr. oblike, izločanje hormonov
Mastociti	Antigen	Izločanje histamina
Fibroblasti	Rastni faktor	Sinteza DNA, celična delitev

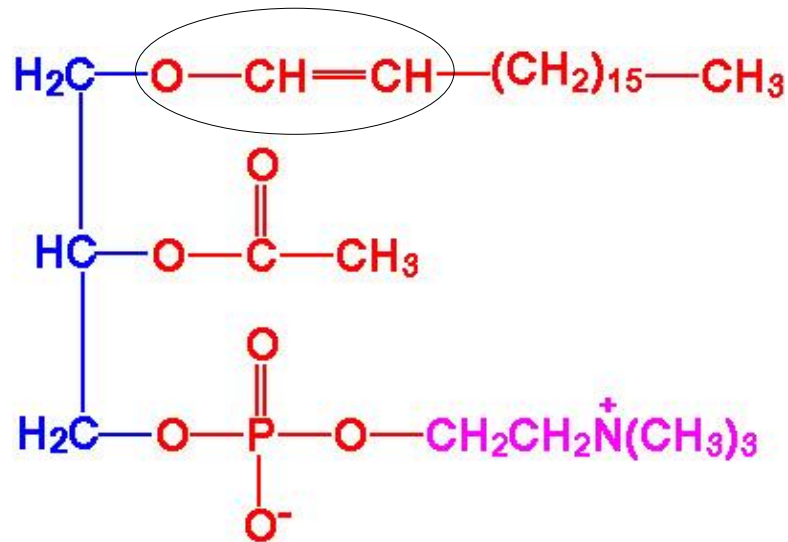
Fosfogliceridi kot hormoni

Signalizacija z lizofosfatidno kislino (LPA)



LPA se z visoko-afiniteto veže na LPA (ali EDG = Endothelial Differentiation G-protein-coupled) receptorje (1-6), ki sodijo med GPCR.
Na podoben način poteka tudi **signalizacija z LPC**.

Signalizacija z aktivacijskim faktorjem za trombocite (PAF)

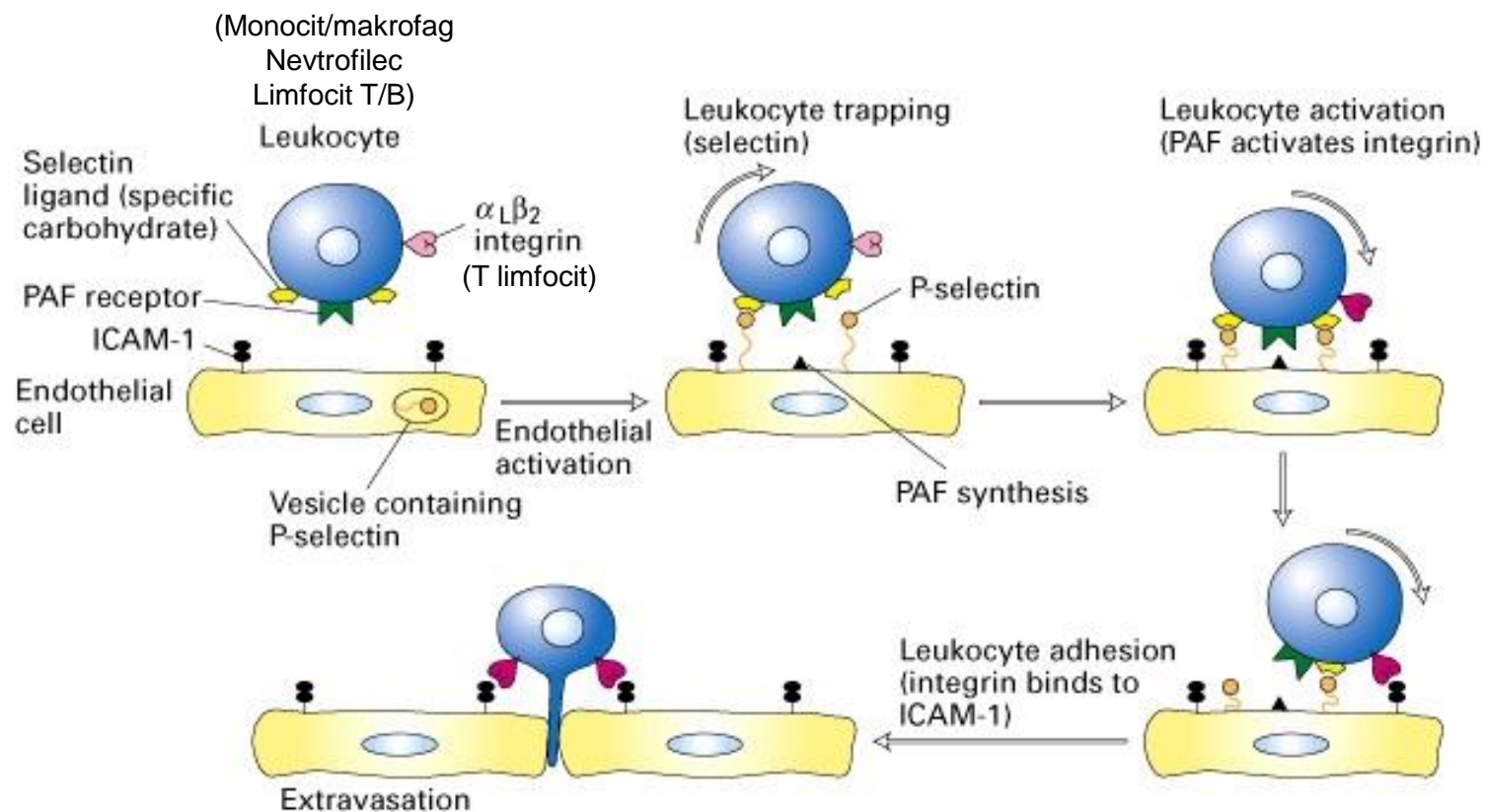


PAF spada med plazmalogene

PAF deluje z vezavo na PAF receptor, ki tudi sodi med GPCR. Regulira mnogo levkocitnih funkcij, sproži agregacijo in degranulacijo trombocitov, vnetni odziv in anafilakso. Vpliva tudi na propustnost žil, pospeši metabolizem arahidonske kisline ...

Koncentracijo PAF nadzira PAF-acetil hidrolaza (PAF-AH).

PAF sodeluje tudi pri ekstravazaciji levkocitov



Integrini na levkocitih se aktivirajo po interakciji PAF s PAFR (GPCR). Po aktivaciji se lahko vežejo na endotelijski ICAM, ki spadajo med CAM iz naddružine Ig.

Nekateri procesi, ki jih PL regulirajo kot hormoni

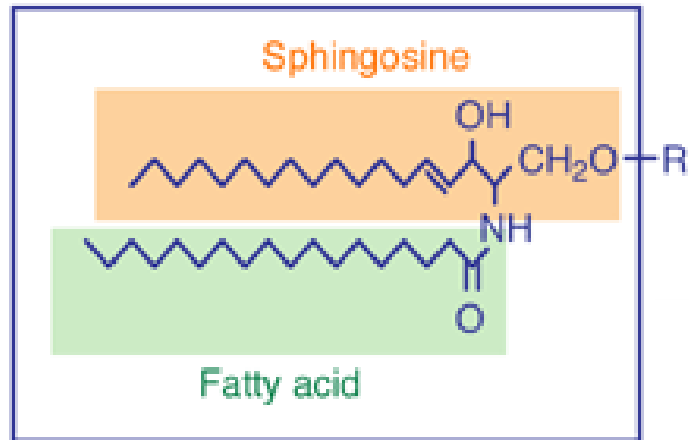
LPA je močan mitogen (proliferativni učinek na celice).

LPC povzroča vnetne učinke (poveča sintezo endotelijskih CAM, rasnih faktorjev, aktivira makrofage).

PAF izločajo bazofilci in mastociti v reakcijah takojšnje preobčutljivosti, makrofagi in nevtrofilci pa v vnetnih reakcijah. Je močan bronhokonstriktor, povzroča agregacijo trombocitov, vazodilatacijo, vnetje, anafilaksijo, sodeluje pri ekstravazaciji levkocitov.

Sfingolipidi in signalizacija

Strukture sfingozina (C18-aminoalkohol) in ceramida ter njihovih derivatov, sfingomielina in glikosfingolipidov.



Substituenta (R)

Sfingolipid

H

Ceramid

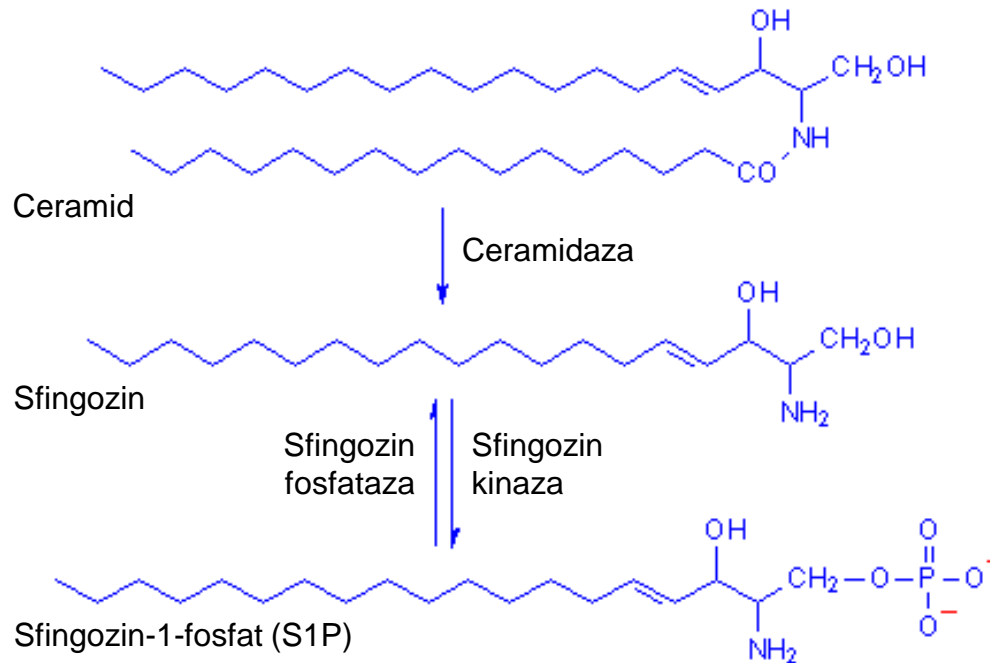
Fosfoholin

Sfingomielin

Mono/polisaharid

Glikosfingolipid

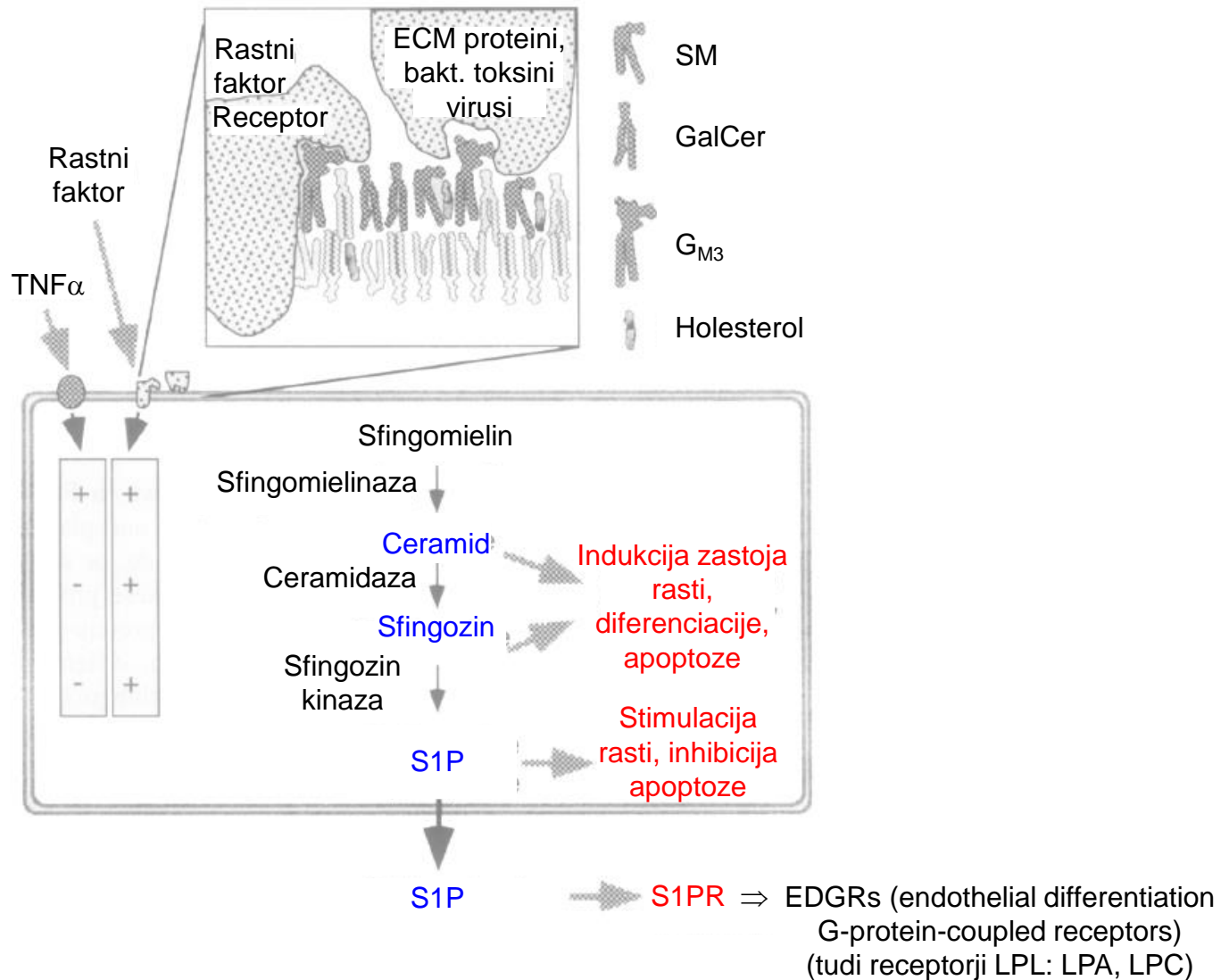
Sfingozin-1-fosfat



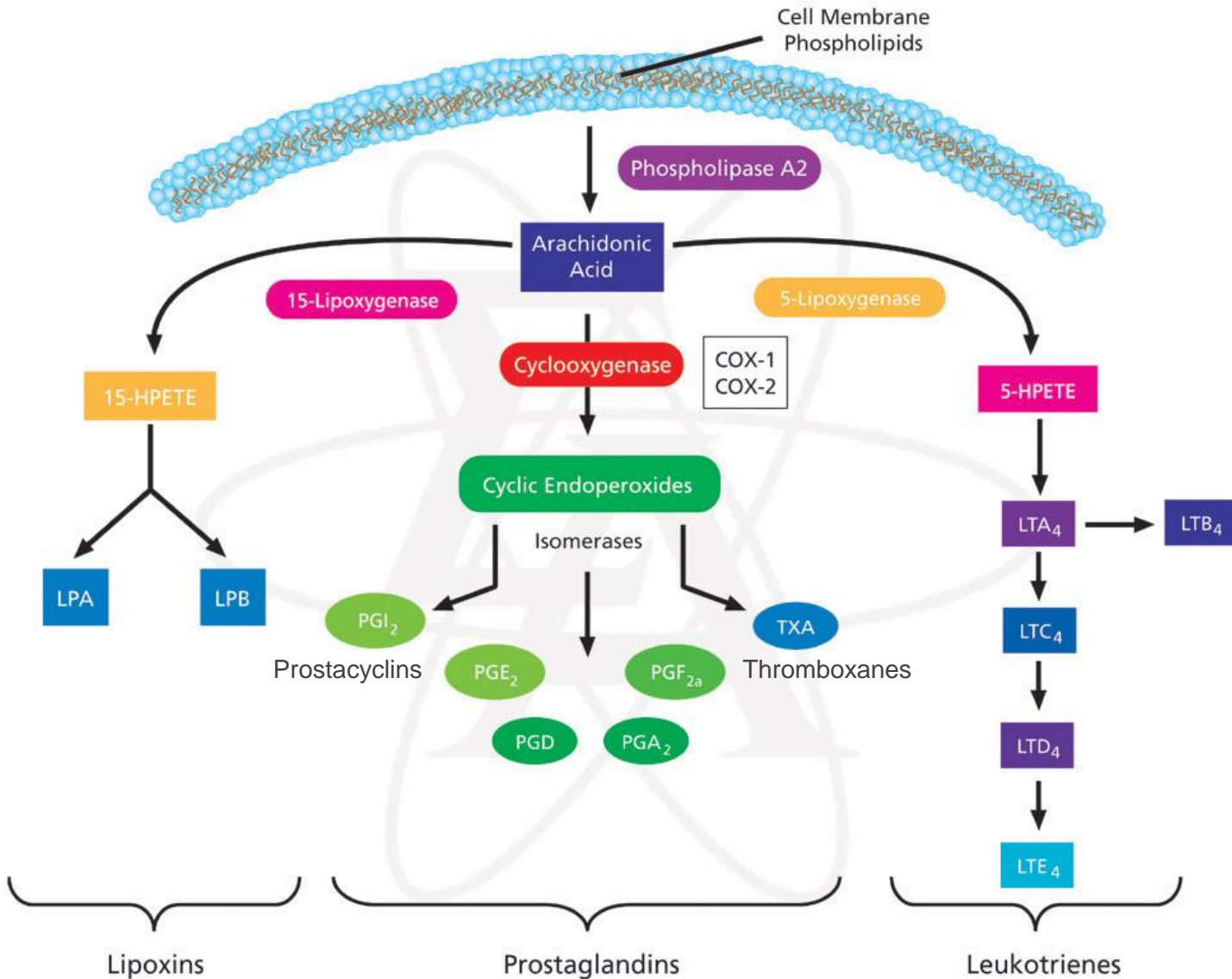
S1P se sprošča ob aktivaciji trombocitov, kjer se tudi sintetizira (+ monociti, mastociti).

Vpliva na **proliferacijo**, **diferenciacijo**, **prepustnost žil**, **angiogenezo**, **apoptozo**.

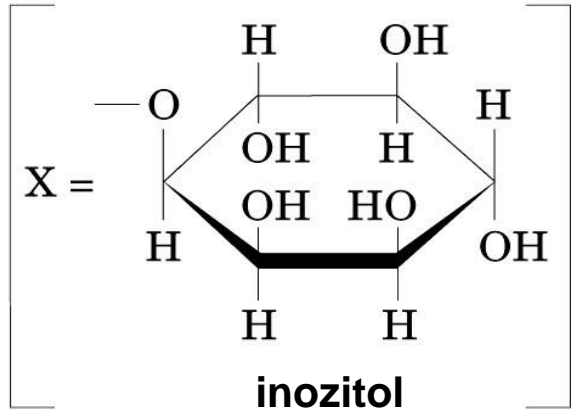
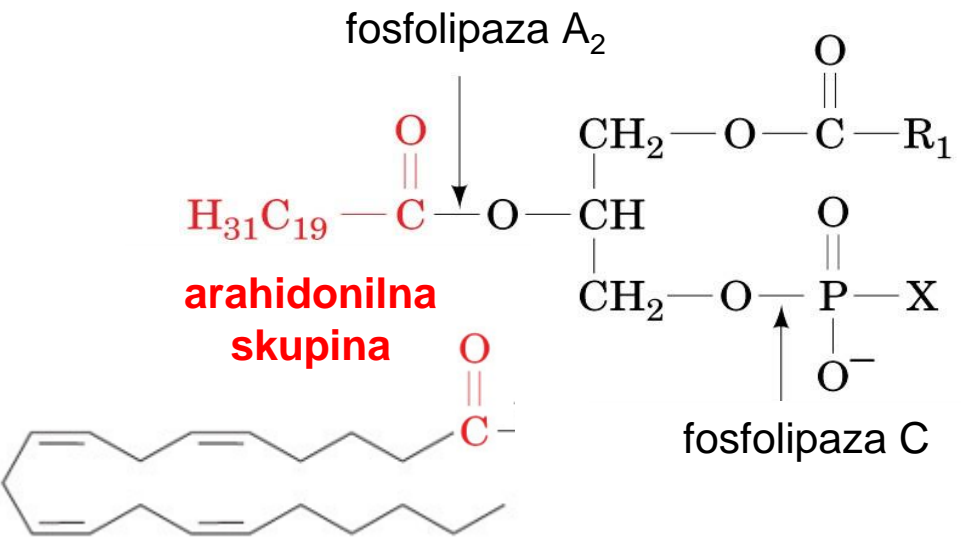
Shematski prikaz nekaterih funkcij sfingolipidov



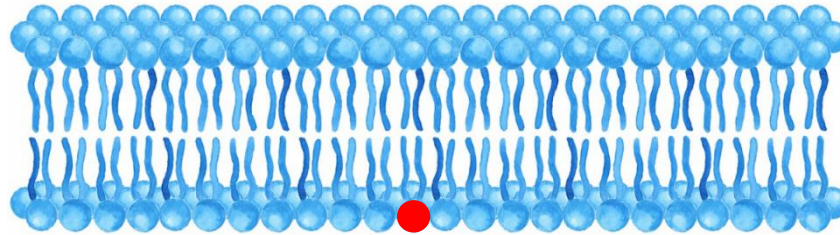
Eikozanoidi in signalizacija



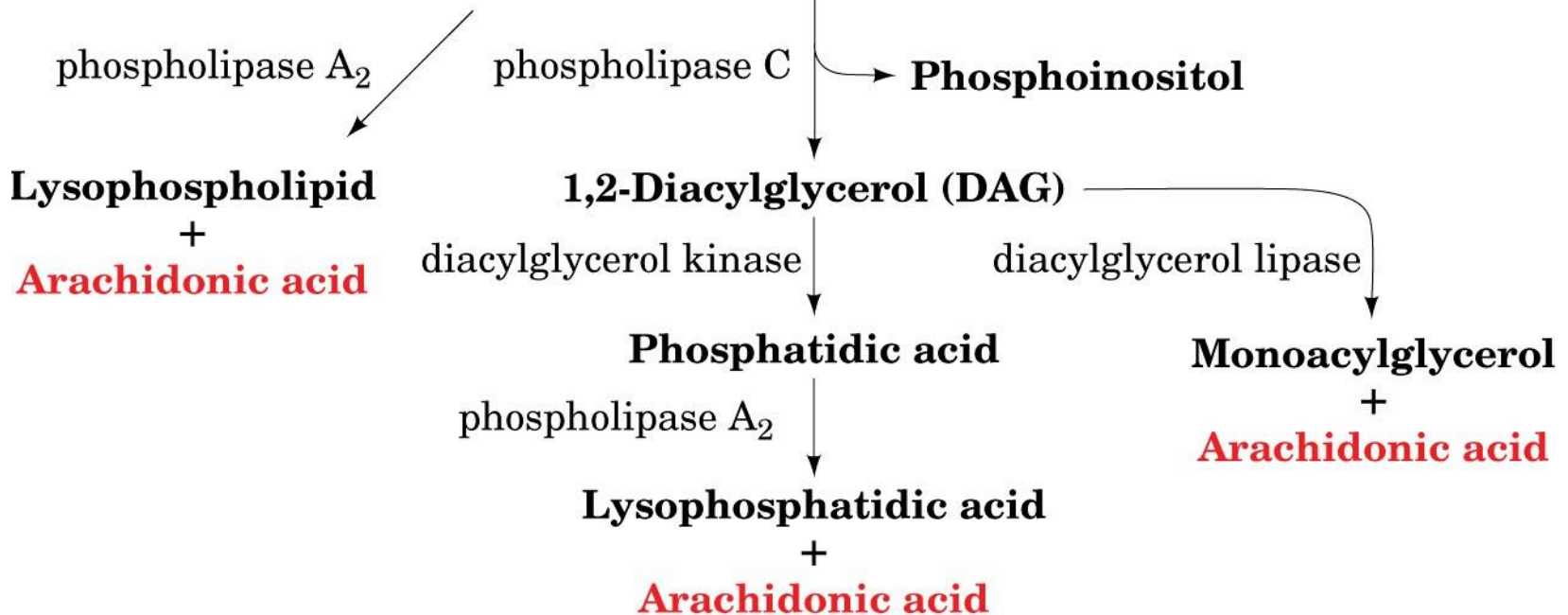
Sproščanje arahidonske kisline s hidrolizo PL



Poti sproščanja arahidonske kisline s hidrolizo fosfolipidov

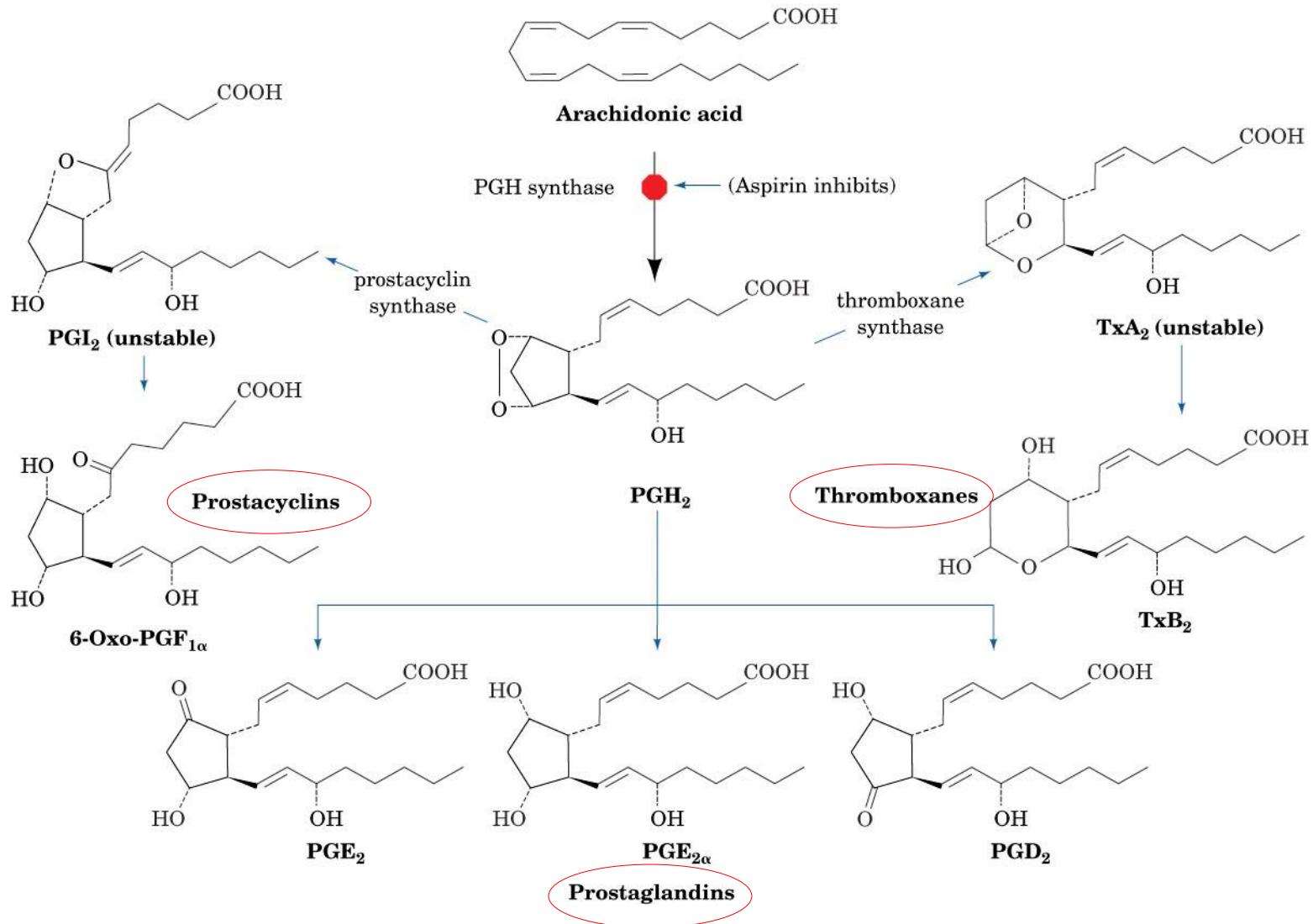
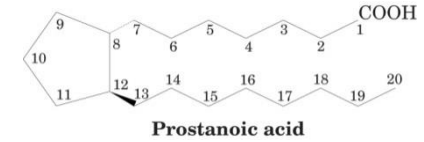


Phospholipid
(phosphatidylinositol)

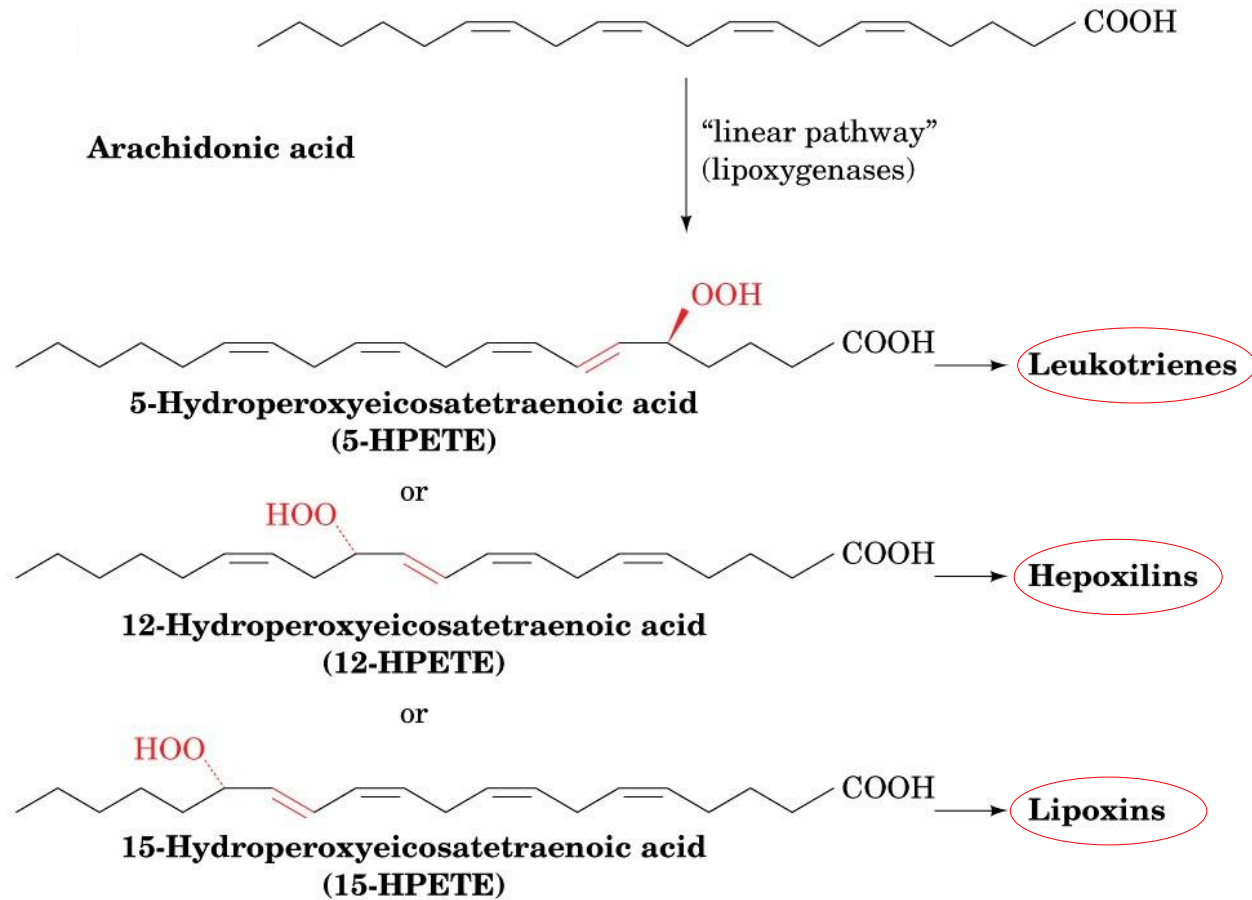


“Ciklična pot” metabolizma AA

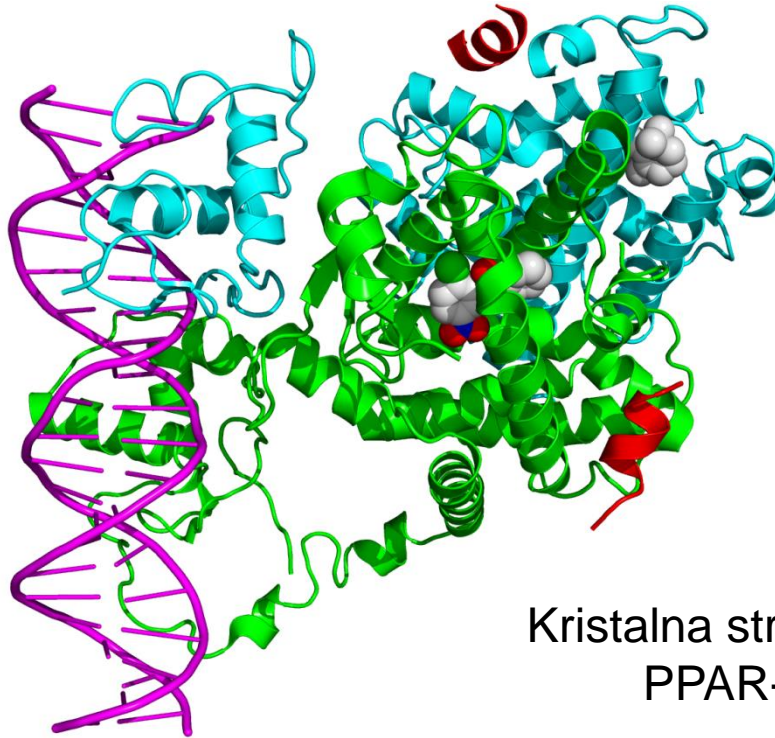
Sinteza prostanooidov ⇒



“Linearna pot” metabolizma AA



Eikozanoidi delujejo kot hormoni



Kristalna struktura jedrnega receptorja
PPAR- γ v kompleksu z DNA

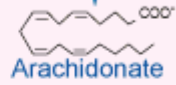
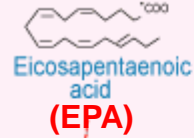
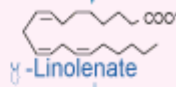
Znanih je vsaj 9 **GPCR**, na katere se vežejo eikozanoidi. Poleg tega nekateri eikozanoidi aktivirajo tudi **jedrne receptorje**, ki potem regulirajo izražanje specifičnih genov. Na ta način sodelujejo pri uravnavanju razvoja, homeostazi in metabolizmu organizma.

Lastnosti nekaterih eikozanoidov

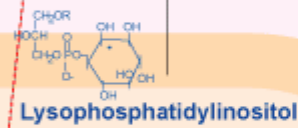
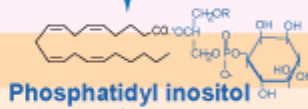
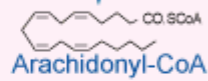
Eiko-zanoid	Glavna mesta nastanka	Glavne biološke aktivnosti
PGD ₂	Mastociti	Inhibira agregacijo trombocitov in levkocitov; zmanjša proliferacijo T-celic, migracijo limfocitov ter izločanje IL-1 α in IL-2; inducira vazodilatacijo in tvorbo cAMP
PGE ₂	Ledvica, vranica, srce	Inducira vazodilatacijo in tvorbo cAMP; pospeši učinke bradikininina in histamina; inducira krčenje maternice in agregacijo trombocitov; vzdržuje odprto fetalno arterijo (<i>ductus arteriosus</i>); zmanjša proliferacijo T-celic, migracijo limfocitov ter izločanje IL-1 α in IL-2
PGF _{2a}	Ledvica, vranica, srce	Inducira vazokonstrikcijo, bronhokonstrikcijo in kontrakcijo gladkih mišic
PGH ₂	-	Je prekursor tromboksanov A ₂ in B ₂ ; inducira agregacijo trombocitov in vazokonstrikcijo
PGI ₂	Srce, žilne endotelijske celice	Inhibira agregacijo trombocitov in levkocitov; zmanjša proliferacijo T-celic, migracijo limfocitov ter izločanje IL-1 α in IL-2; inducira vazodilatacijo in tvorbo cAMP
TXA ₂	Trombociti	Inducira agregacijo trombocitov, vazokonstrikcijo, proliferacijo limfocitov in bronhokonstrikcijo
TXB ₂	Trombociti	Inducira vazokonstrikcijo
LTB ₄	Monociti, bazofilci, nevtrofilci, eozinofilci, mastociti, epiteljske celice	Inducira kemotakso in agregacijo levkocitov, prevodnost žil, proliferacijo T-celic in izločanje INF- γ , IL-1 α in IL-2
LTC ₄	Monociti in alveolarni makrofagi, bazofilci, eozinofilci, mastociti, epiteljske celice	Je komponenta SRS-A („Slow-Reacting Substance of Anaphylaxis“); inducira vazodilatacijo, prevodnost žil in bronhokonstrikcijo ter izločanje INF- γ
LTD ₄	Monociti in alveolarni makrofagi, eozinofilci, mastociti, epiteljske celice	Je glavna komponenta SRS-A; inducira vazodilatacijo, prevodnost žil in bronhokonstrikcijo ter izločanje INF- γ
LTE ₄	Mastociti in bazofilci	Je komponenta SRS-A; inducira vazodilatacijo in bronhokonstrikcijo



Diet (Fish oils)

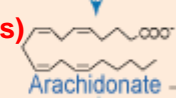


6.2.1.15

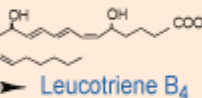


Phospholipase A2
3.1.1.4

Steroidal Anti-inflammatory Drugs (Corticosteroids)

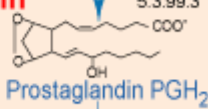


1.13.11.12

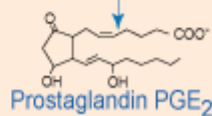
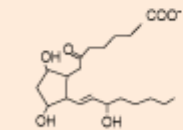


Non-steroidal Anti-inflammatory Drugs eg. Aspirin (NSAID)

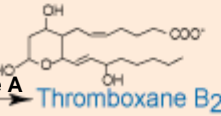
Prostaglandin synthase
5.3.99.3



5.3.99.4



Thromboxane A synthase

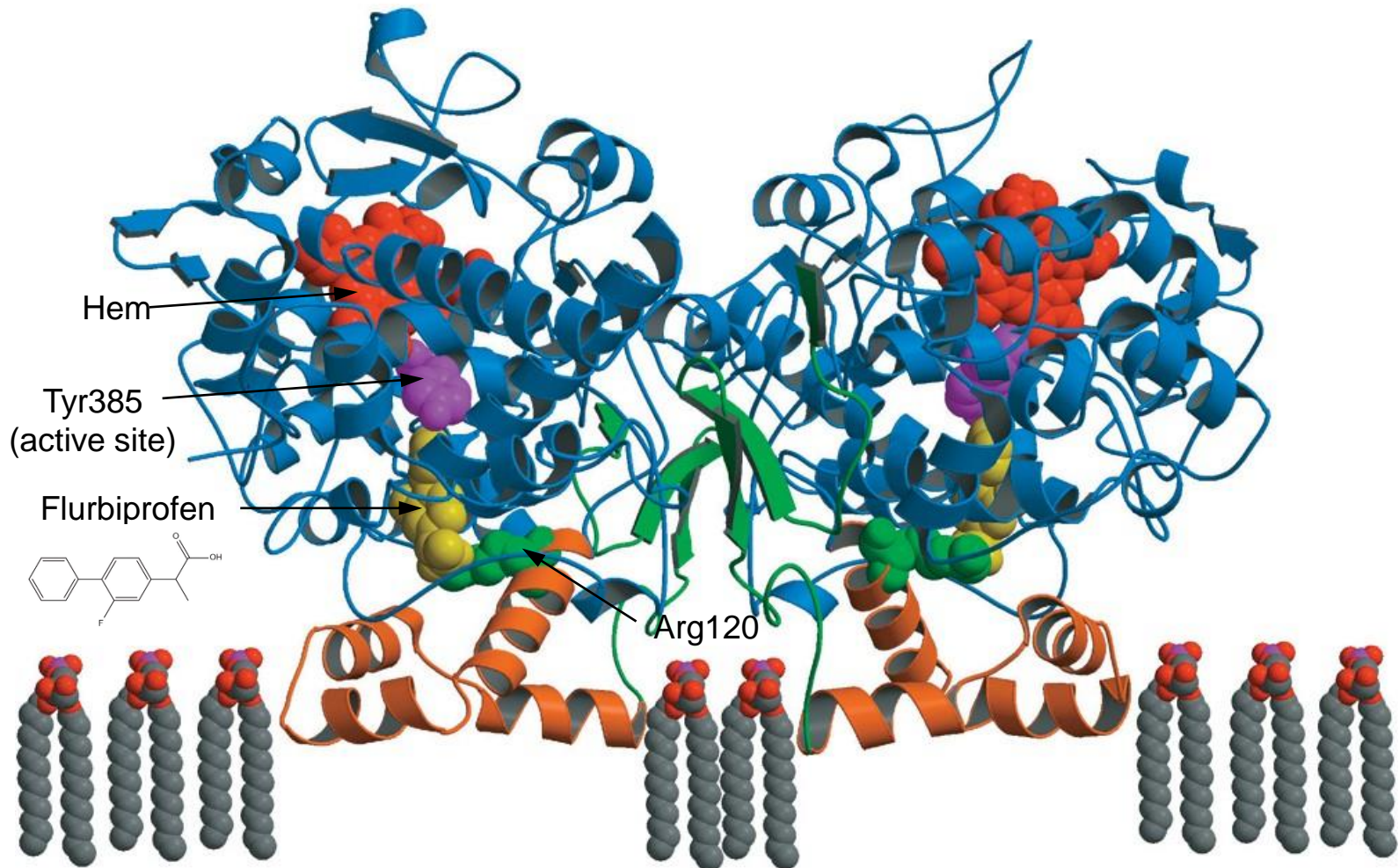


ENDOPLASMIC RETICULUM

Histamine
Adrenalin
Thrombin
etc.

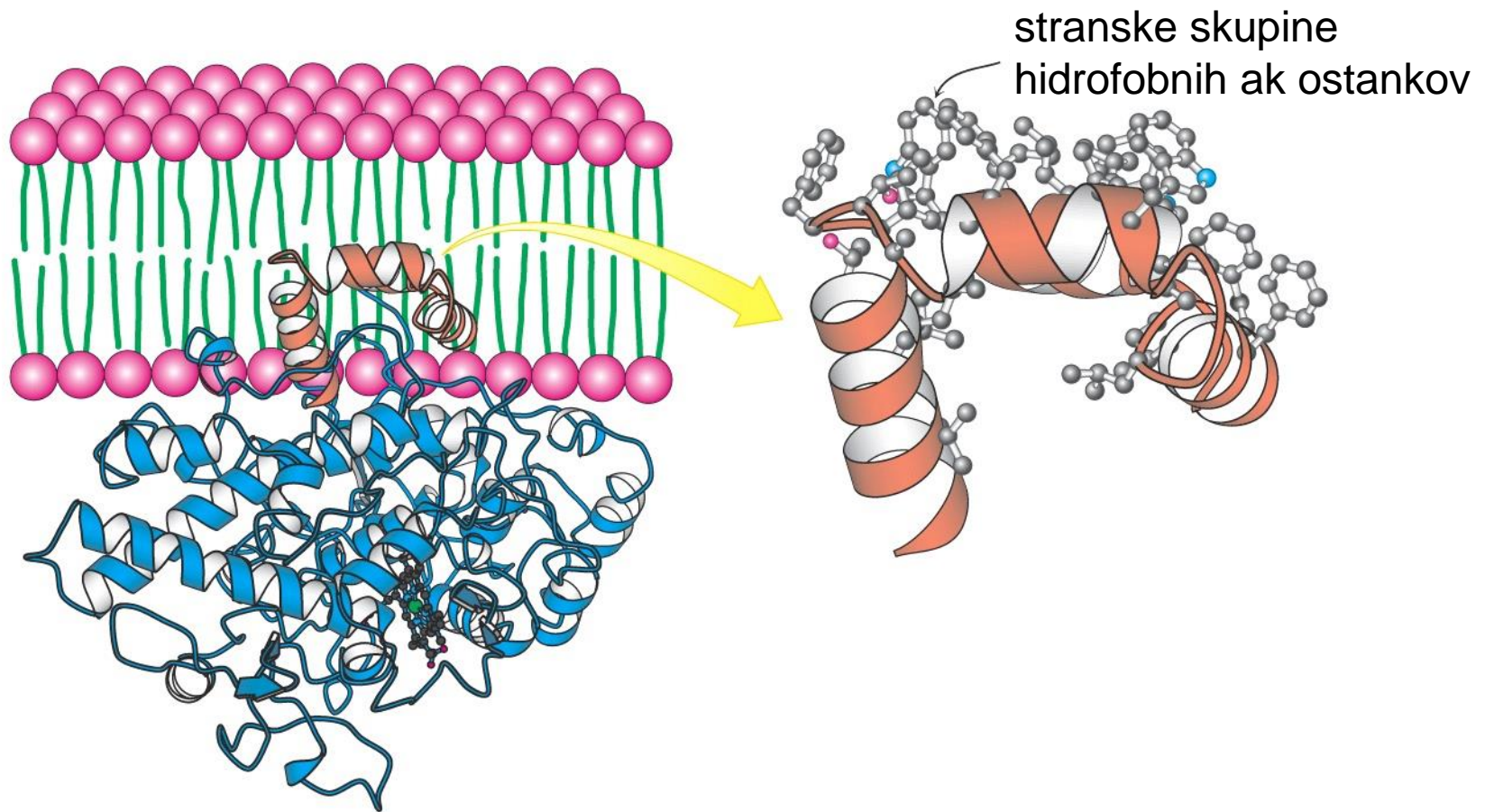


PGH₂ sintaza (tudi COX) je protein v membrani ER

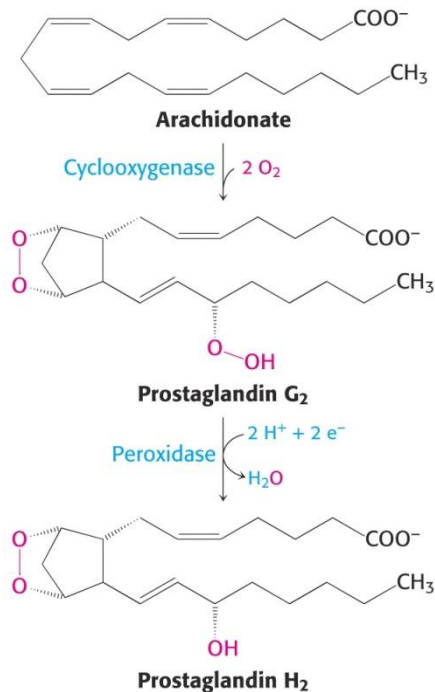


Kristalna struktura ovčje PGH₂ sintaze v kompleksu z NSAID flurbiprofenom (reverzibilni inhibitor COX-I in COX-II).

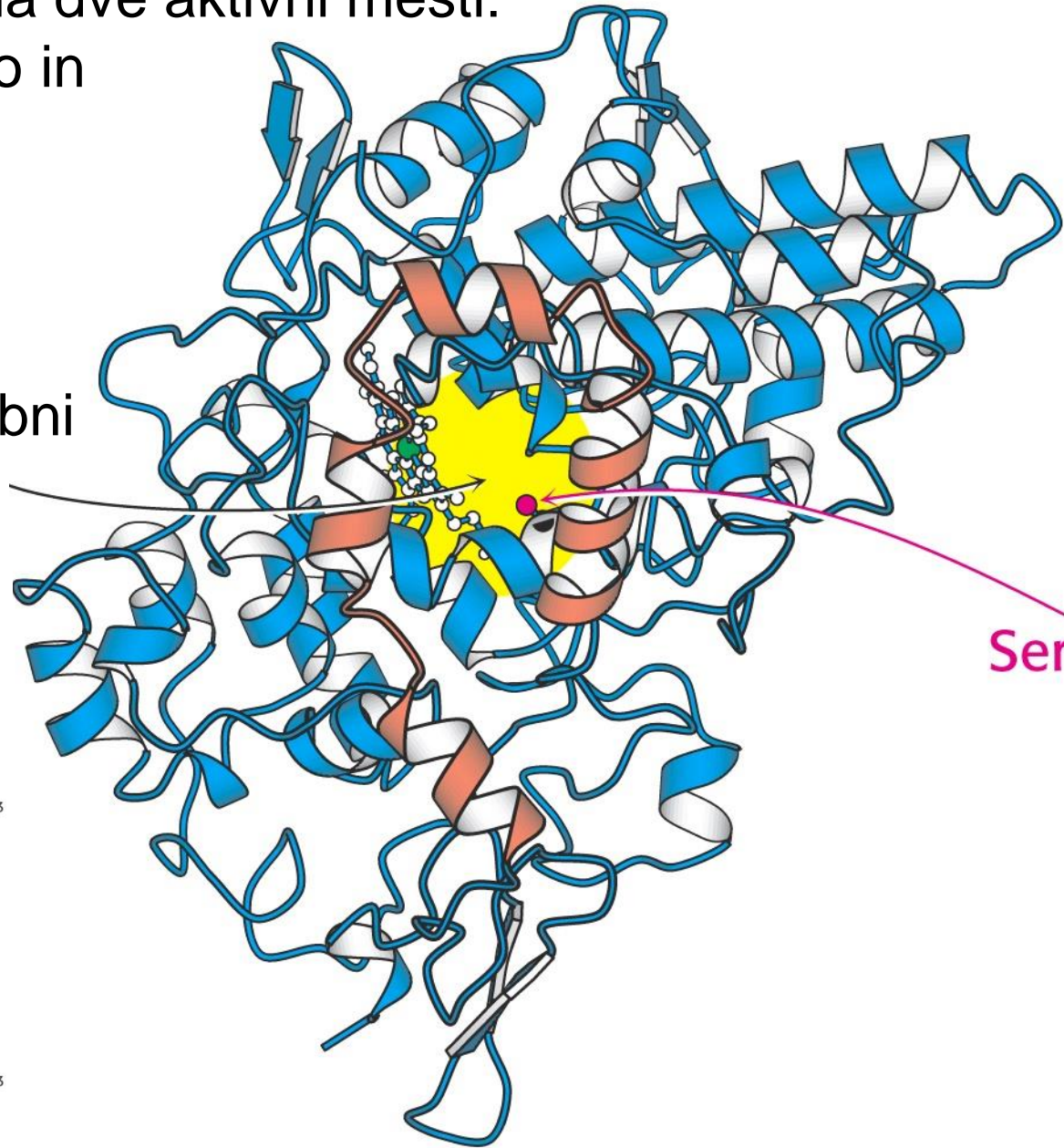
PGH₂ sintaza je ne-transmembranski integralni membranski protein



PGH₂ sintaza ima dve aktivni mesti:
ciklooksigenazno in
peroksidazano



Hidrofobni
kanal

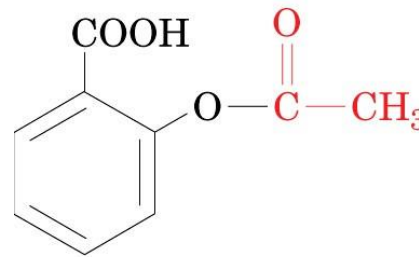


Ser 530

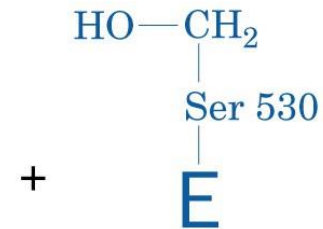
Inhibicija PGH_2 sintaze z aspirinom je ireverzibilna



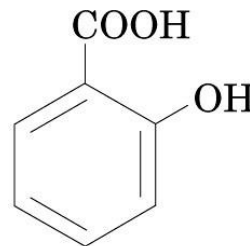
Analgetik
Antipiretik
Antitrombotik
Antiinflamatorik



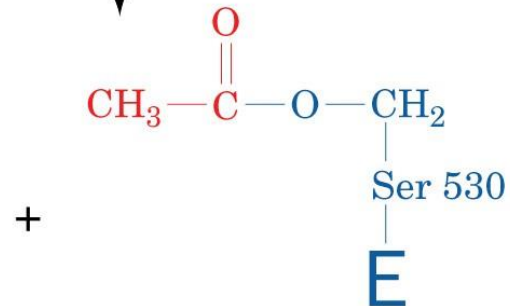
Aspirin



PGH₂ sintaza
(aktivna)

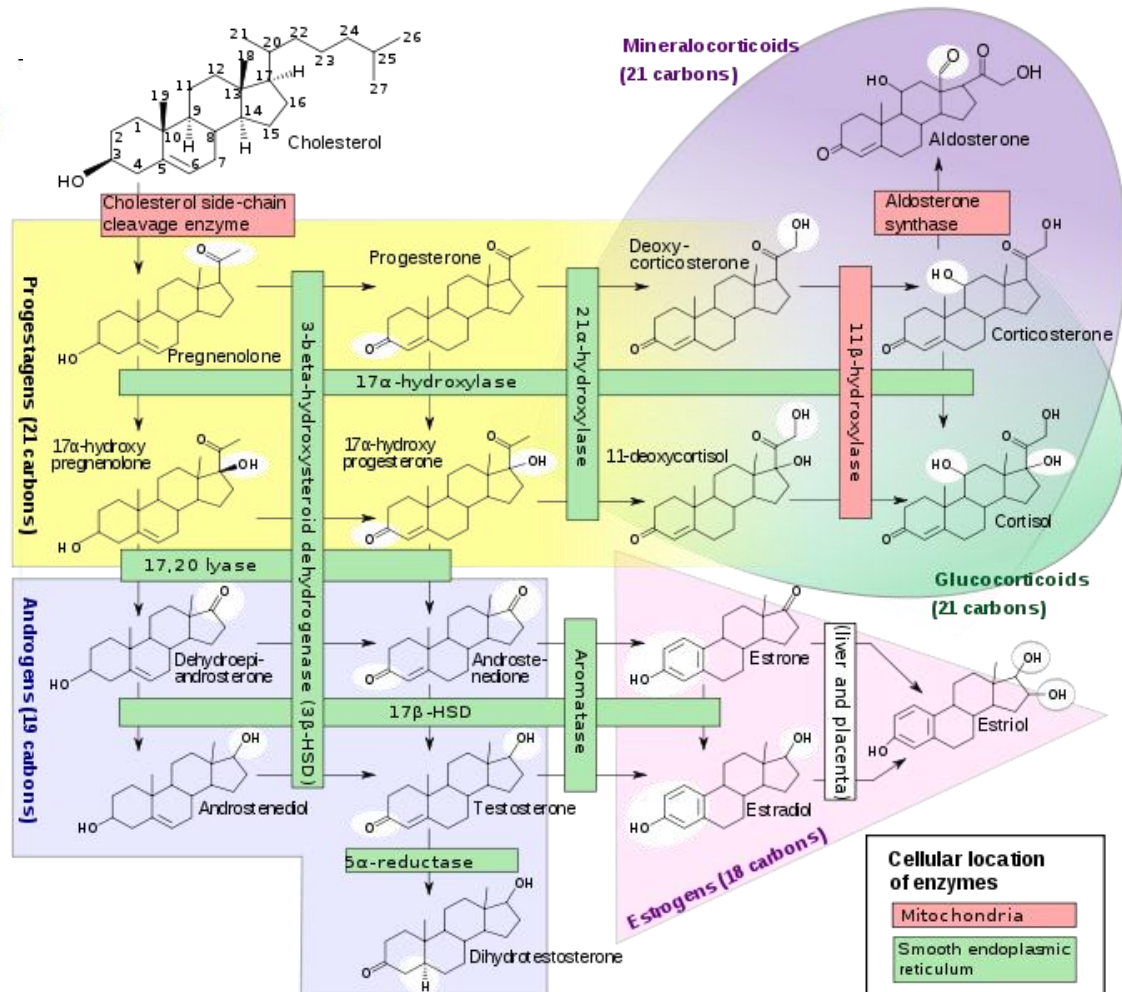
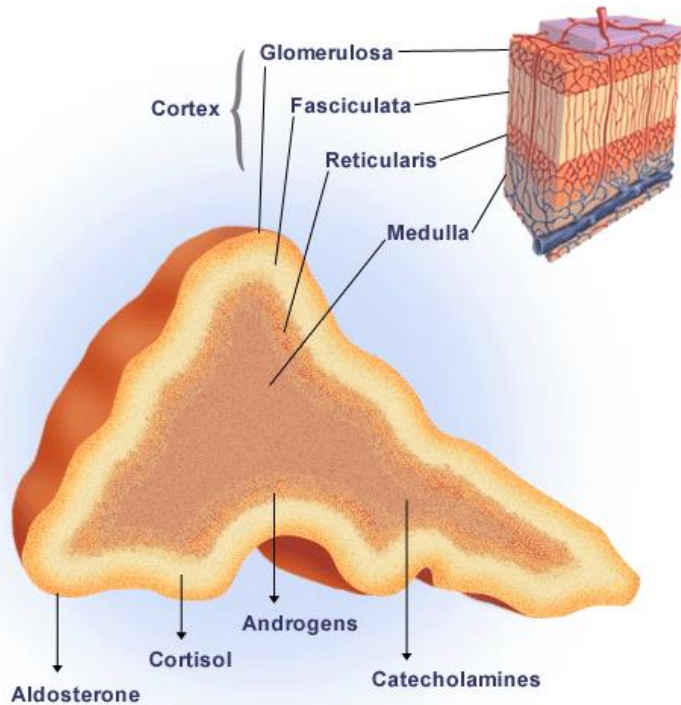


Salicilna kislina

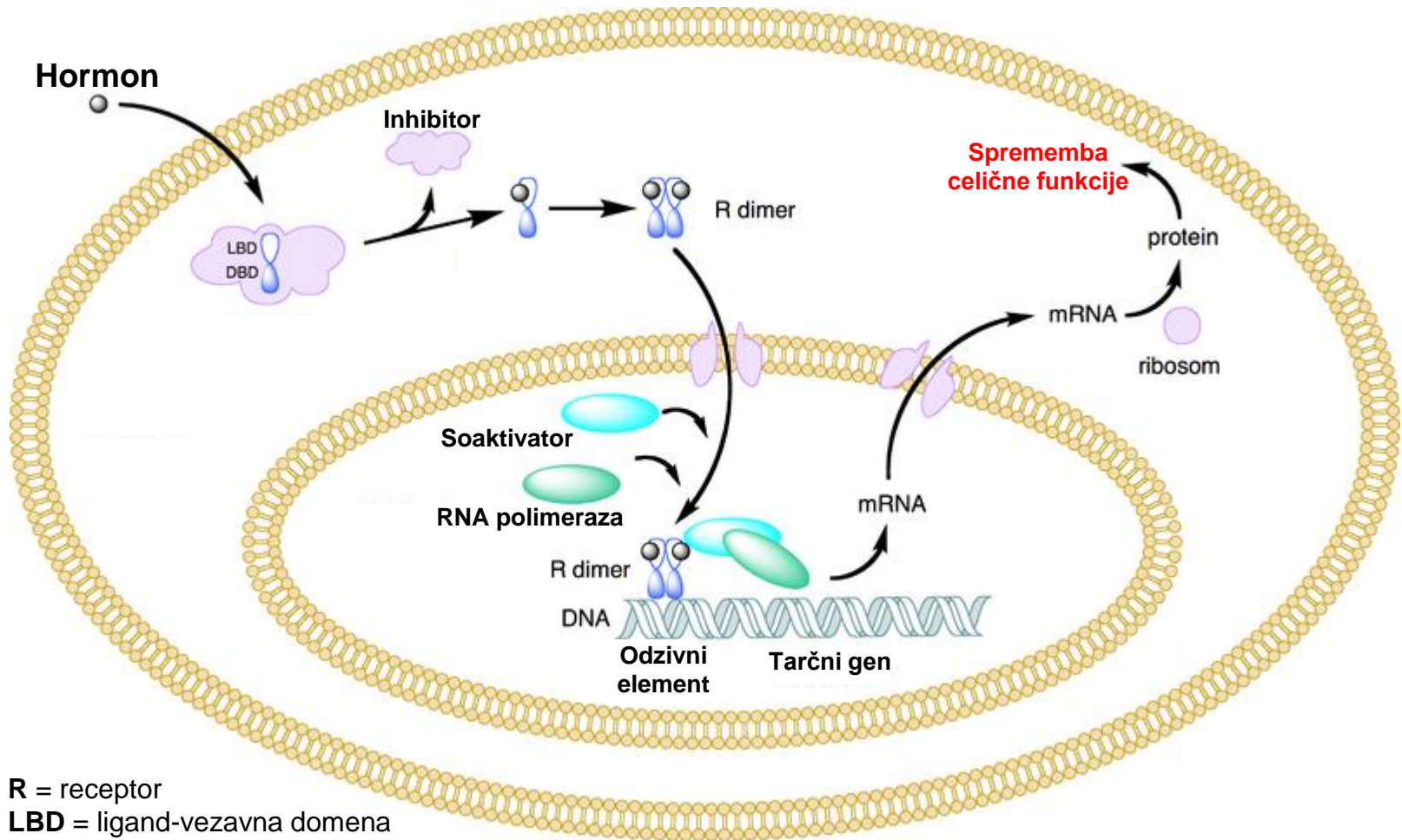


PGH₂ sintaza
(neaktivna)

Steroidni hormoni - derivati holesterola



Steroidni hormoni difundirajo preko plazemske membrane in se vežejo na znotrajcelične receptorje



R = receptor

LBD = ligand-vezavna domena

DBD = DNA-vezavna domena

Nekateri procesi, ki jih regulirajo steroidni hormoni

Progestageni: vzdržujejo nosečnost, prisotni v progestacijski, pa tudi v drugih fazah menstrualnega cikla.

Androgeni: stimulirajo ali nadzorujejo razvoj in vzdrževanje moških lastnosti pri vretenčarjih (aktivnost moških spolnih organov, razvoj sekundarnih moških spolnih znakov).

Estrogeni: poglobitni ženski spolni hormoni.

Glukokortikoidi: regulirajo metabolizem glukoze, zavirajo imunsko aktivnost (blažijo vnetje, alergijo, astmo, avtoimune bolezni in sepso; zavirajo razvoj raka).

Mineralokortikoidi: vplivajo na ravnotežje soli in vode v organizmu (aktivna reabsorbcija Na^+ , izločanje K^+ in H^+ , pasivna absorbcija vode).

Dodatna literatura

- Wymann, M.P. & Schneider, R. (2008): Lipid signalling in disease. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 9, 162-176.
- Maceyka, M. & Spiegel, S. (2014): Sphingolipid metabolites in inflammatory disease. *Nature.* 510, 58-67.
- Dickson, E.J. & Hille B. (2019): Understanding phosphoinositides: rare, dynamic, and essential membrane phospholipids. *Biochem. J.* 476, 1-23.