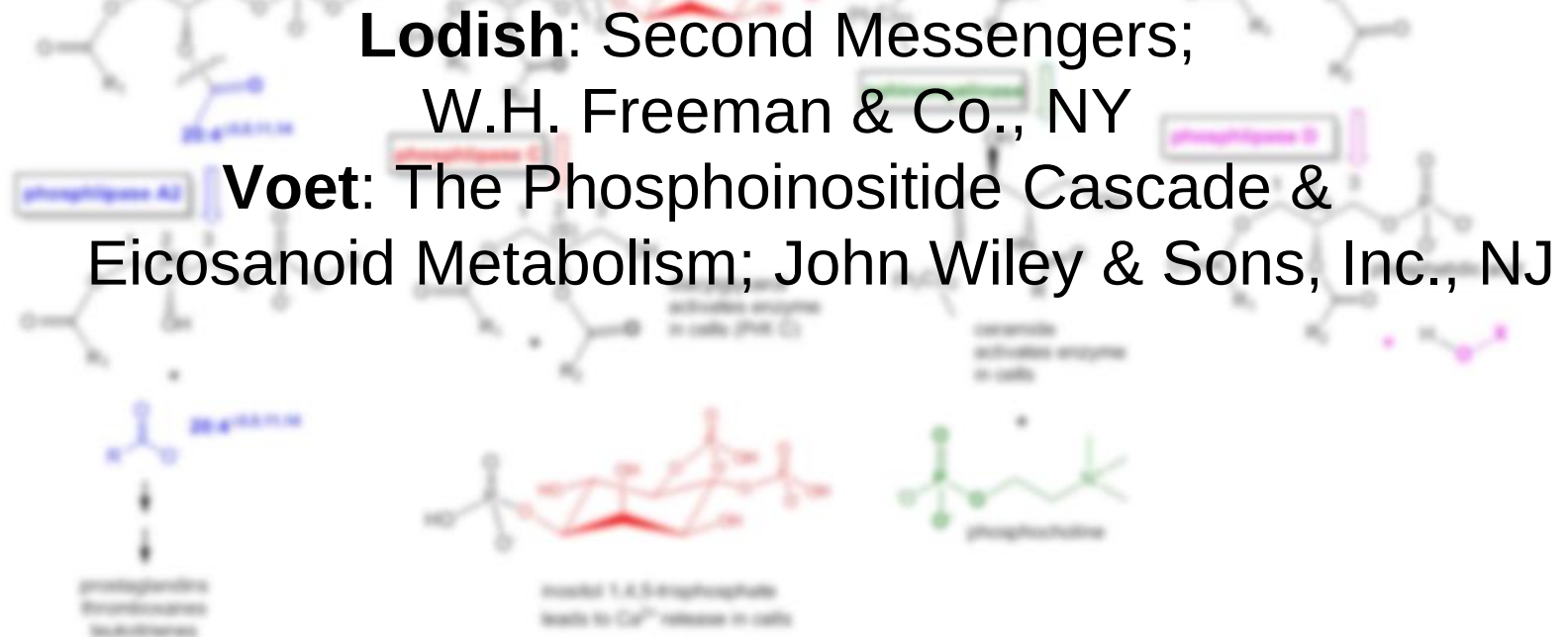
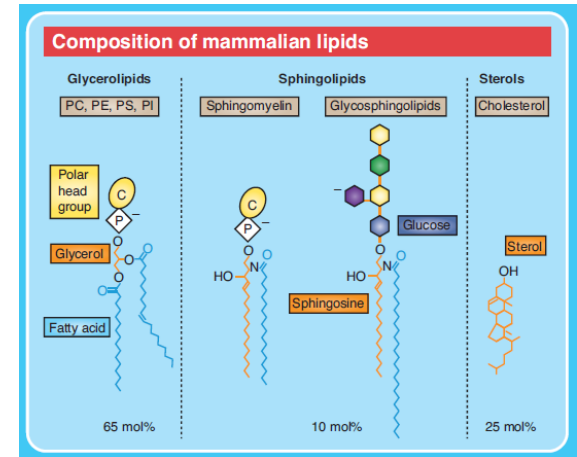


Lipidi in signalizacija

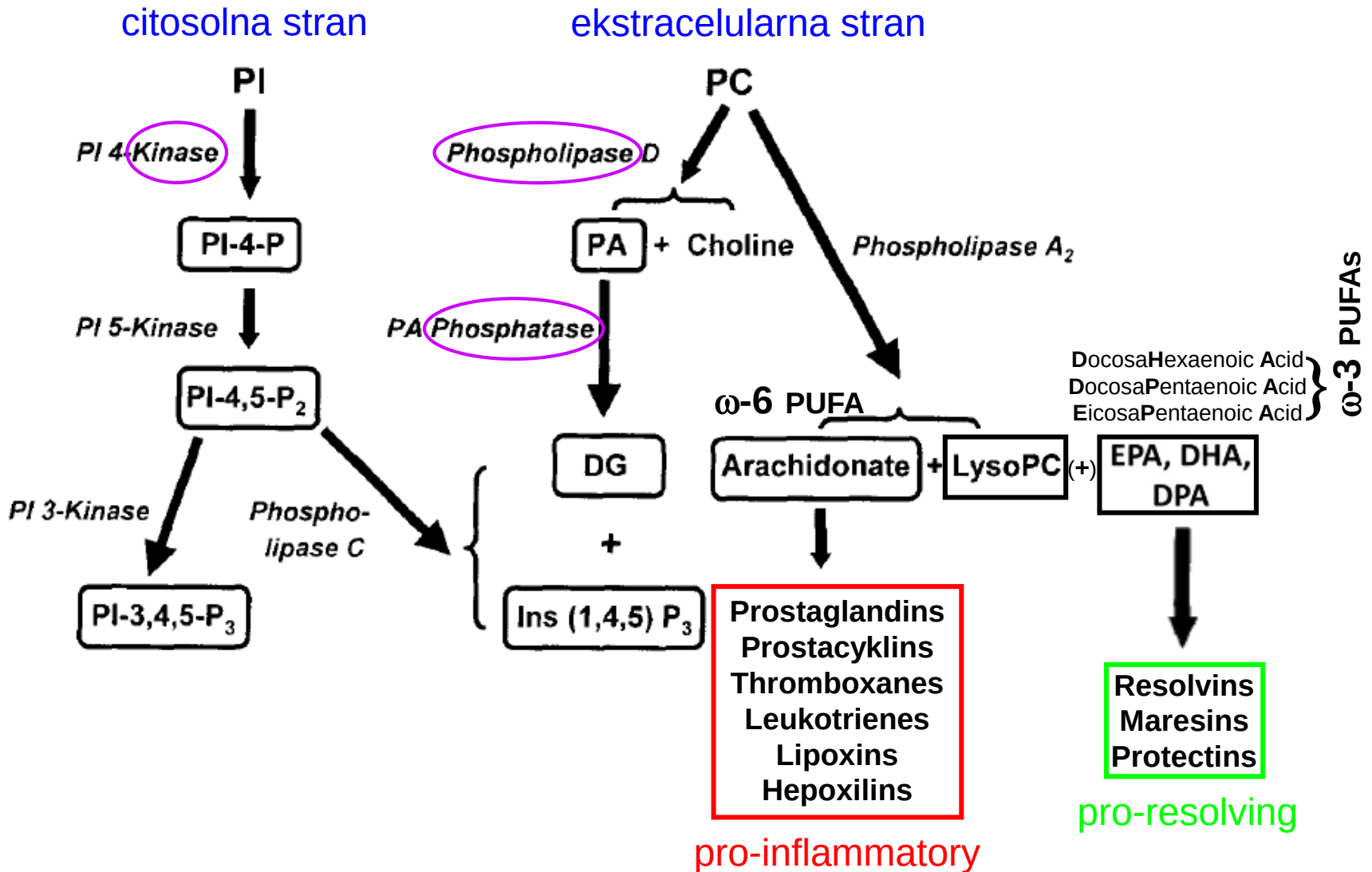


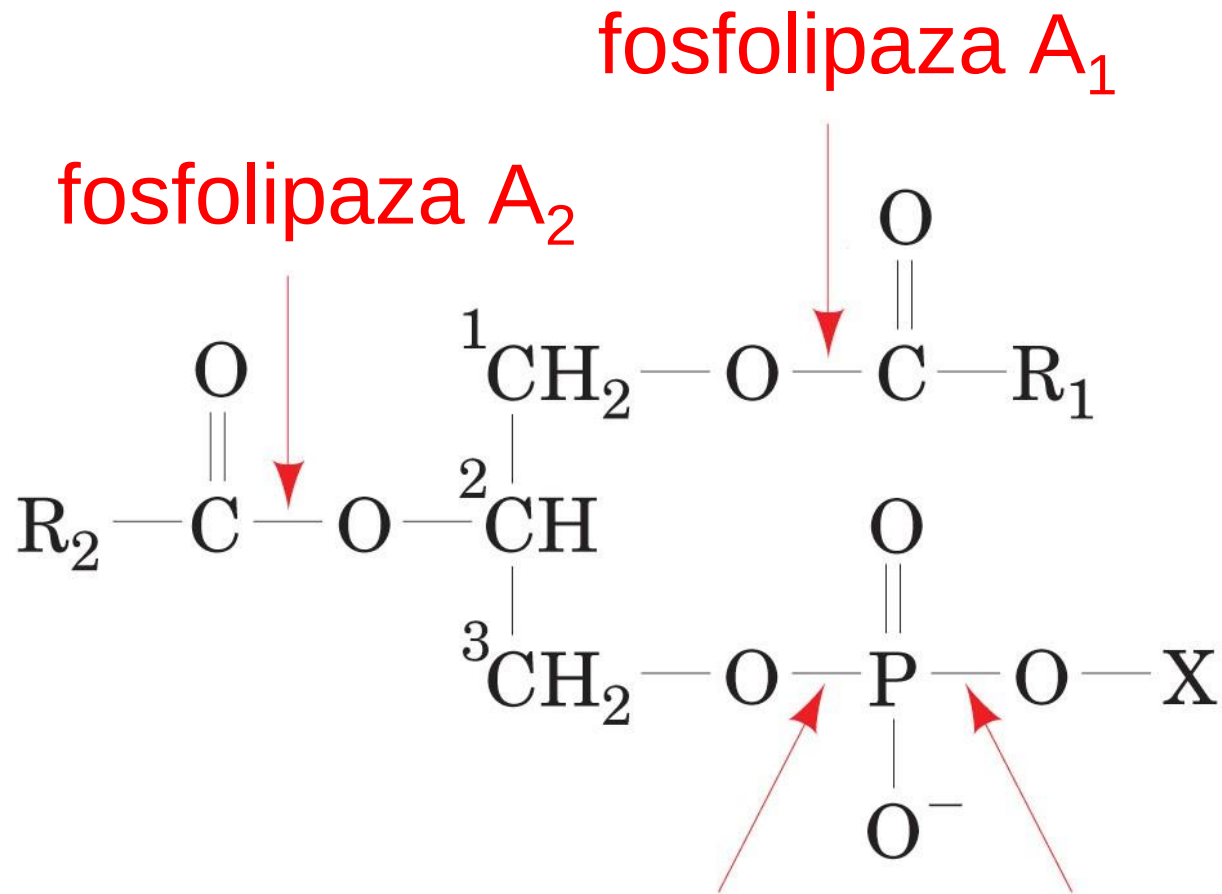
Razdelitev poglavja

- Derivati **glicerofosfolipidov**: *fosfoinozitidi, diacilglicerol, lizofosfolipidi, plazmalogeni*
- Derivati **arahidonske kisline** - eikozanoidi: *prostaglandini, levkotrieni, tromboksani, resolvini ...*
- Derivati **sfingolipidov**: *ceramidi, sfingozin-1-fosfat ...*
- **Holesterol** in njegovi derivati: *steroidni hormoni*



Glicerofosfolipidi in signalizacija

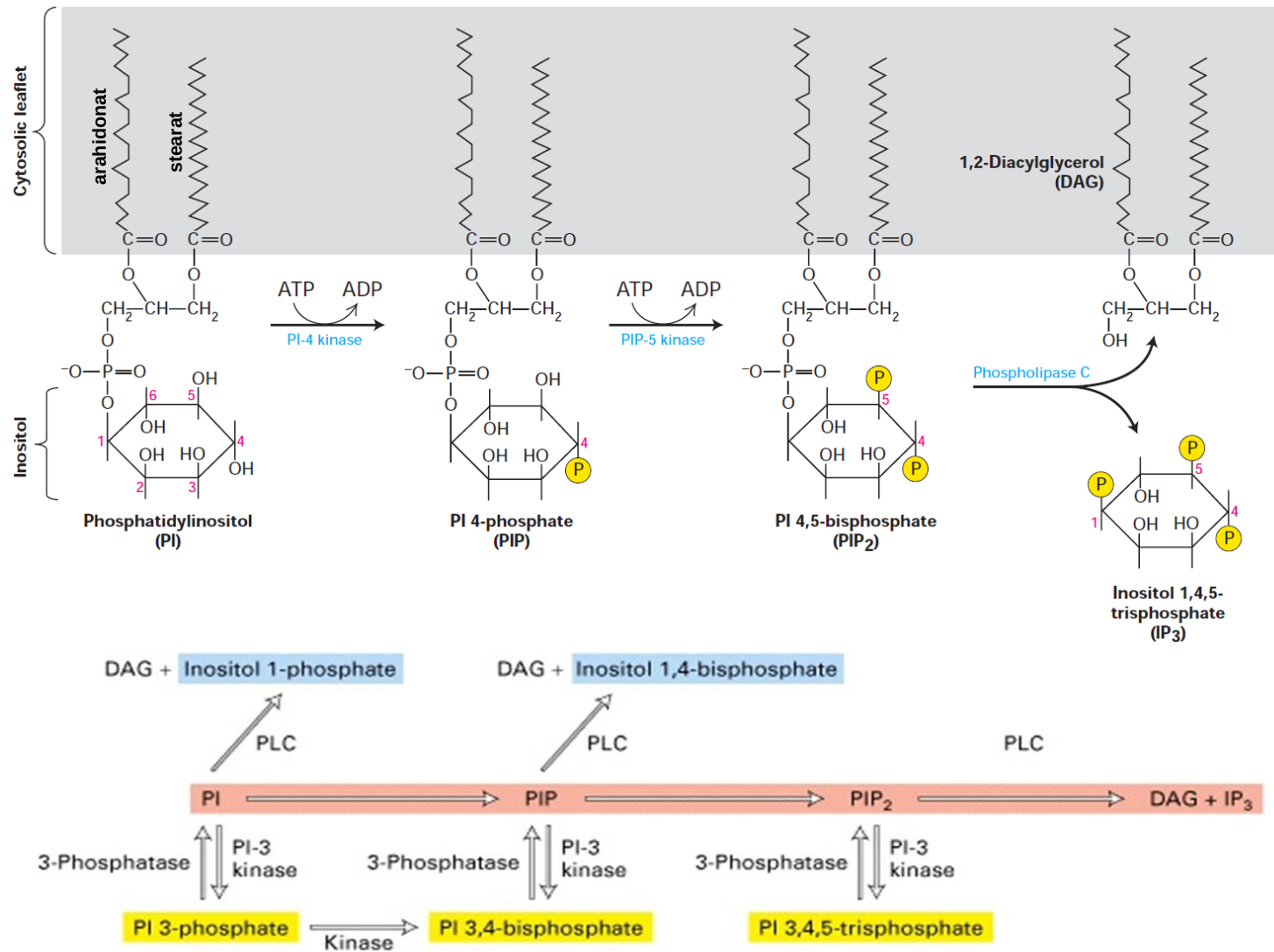




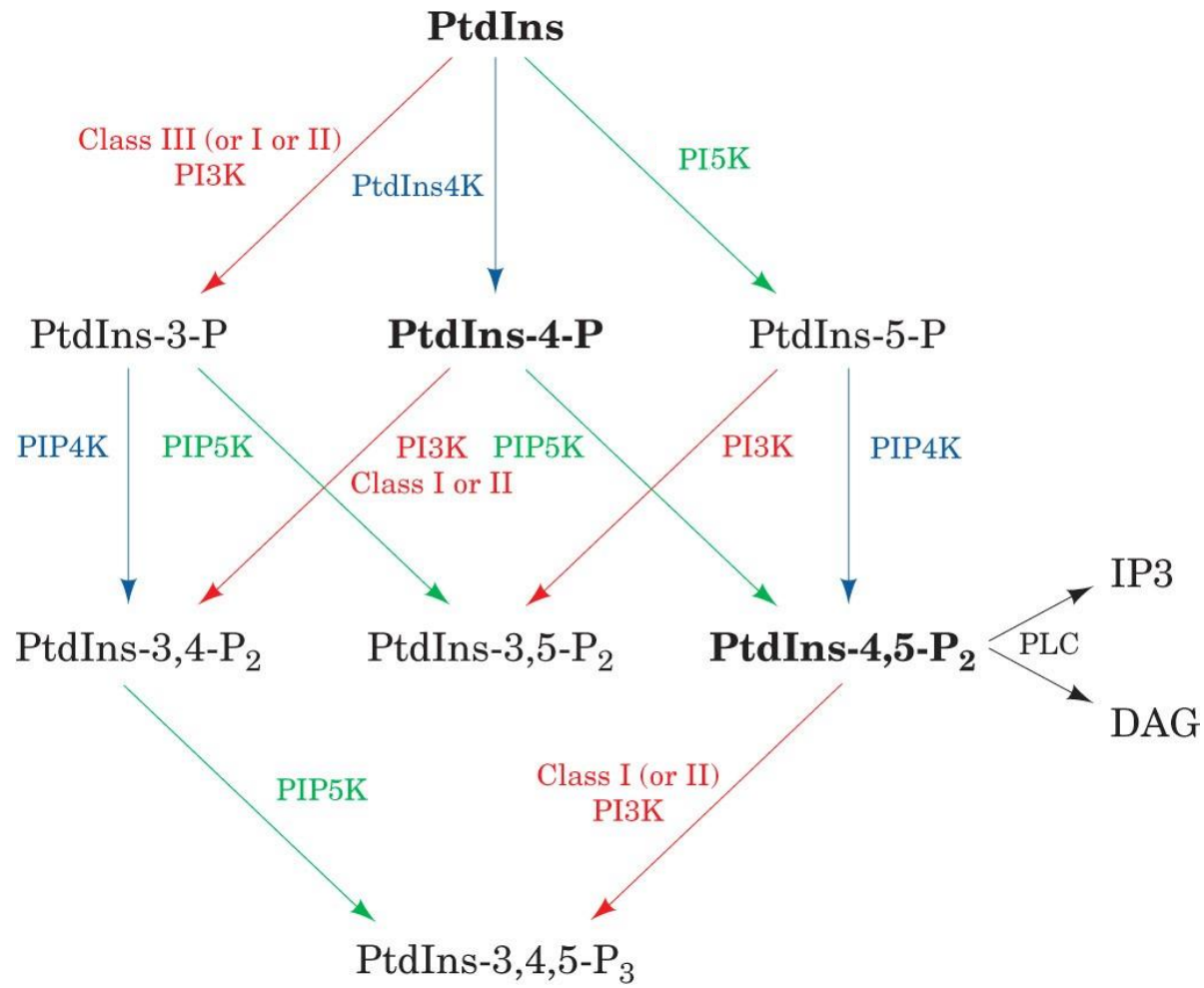
fosfolipaza C

fosfolipaza D

1

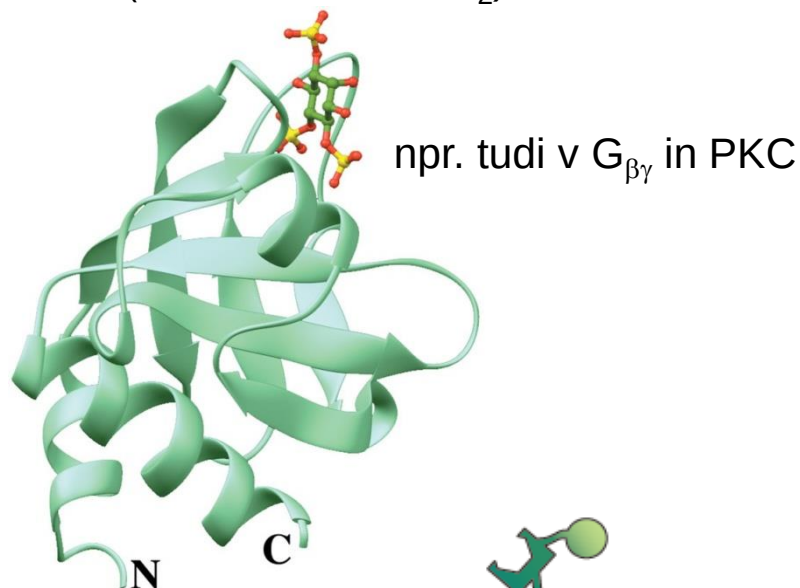


Biosinteza fosfoinozitudov v sesalskih celicah

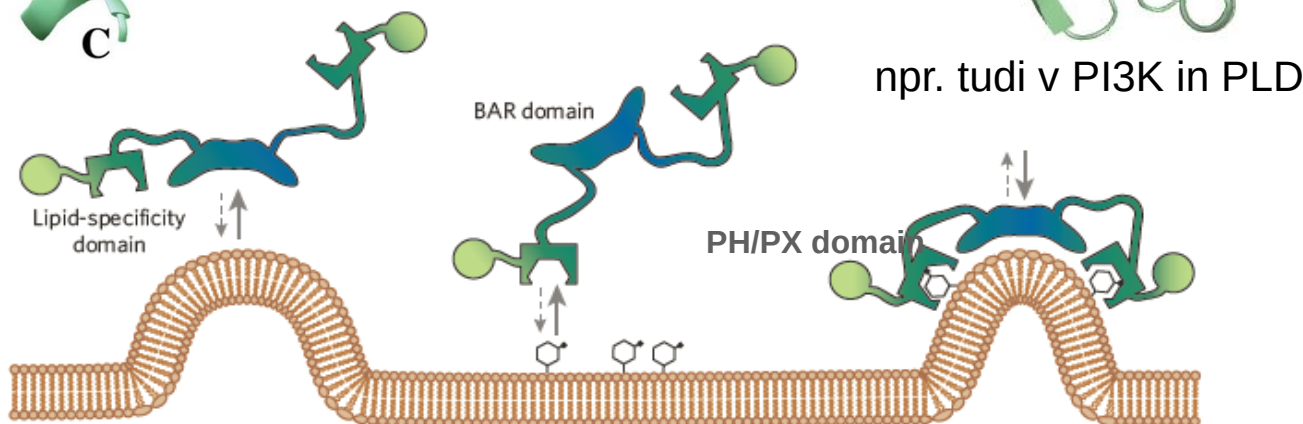
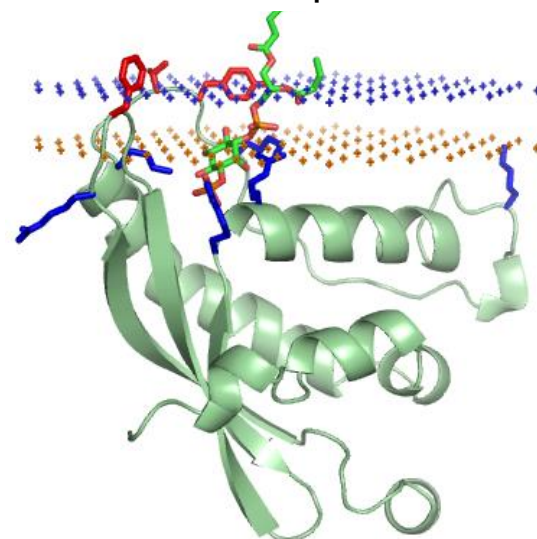


Fosfoinozotidi kot membranska sidra

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



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

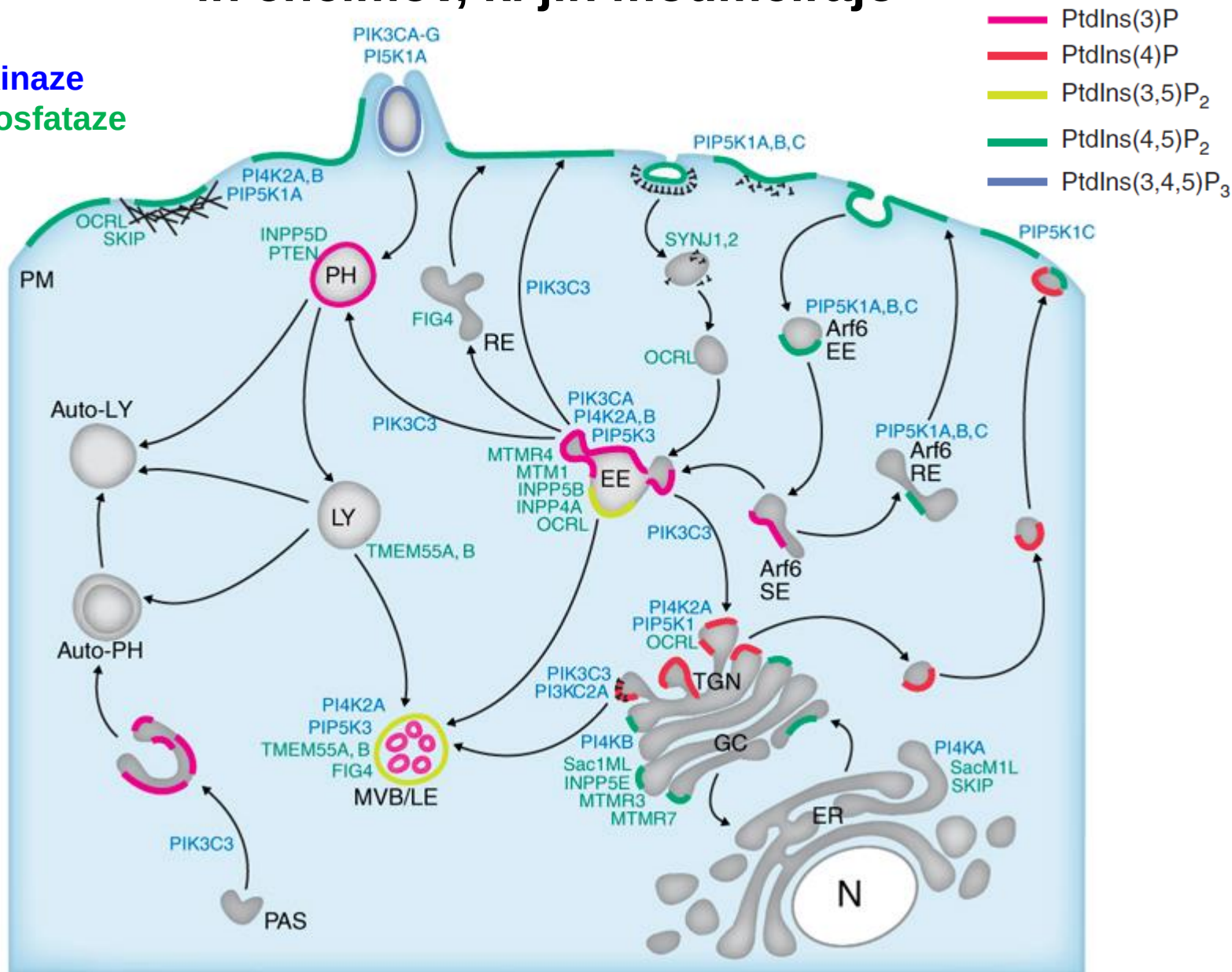


Druge PI-vezavne domene v proteinih: GRAM, GLUE, FYVE, ENTH, FERM ...

Celična razporeditev fosfoinozitidov in encimov, ki jih modificirajo

PI-kinaze

PI-fosfataze



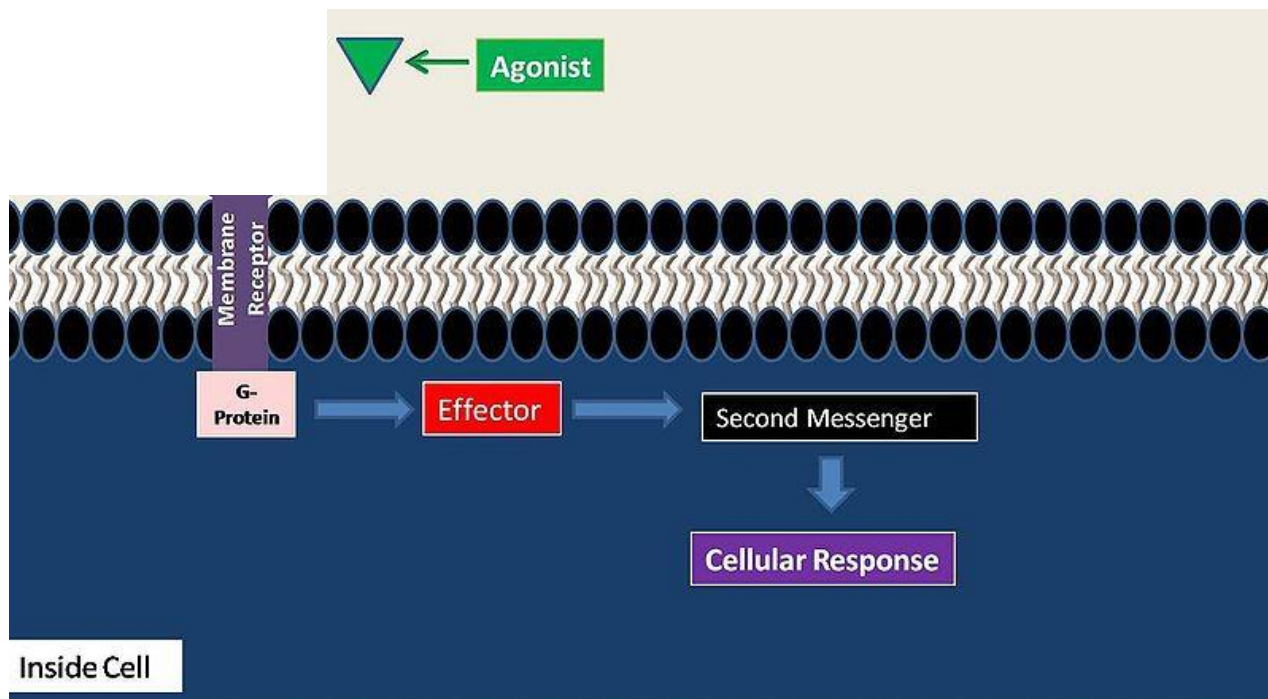
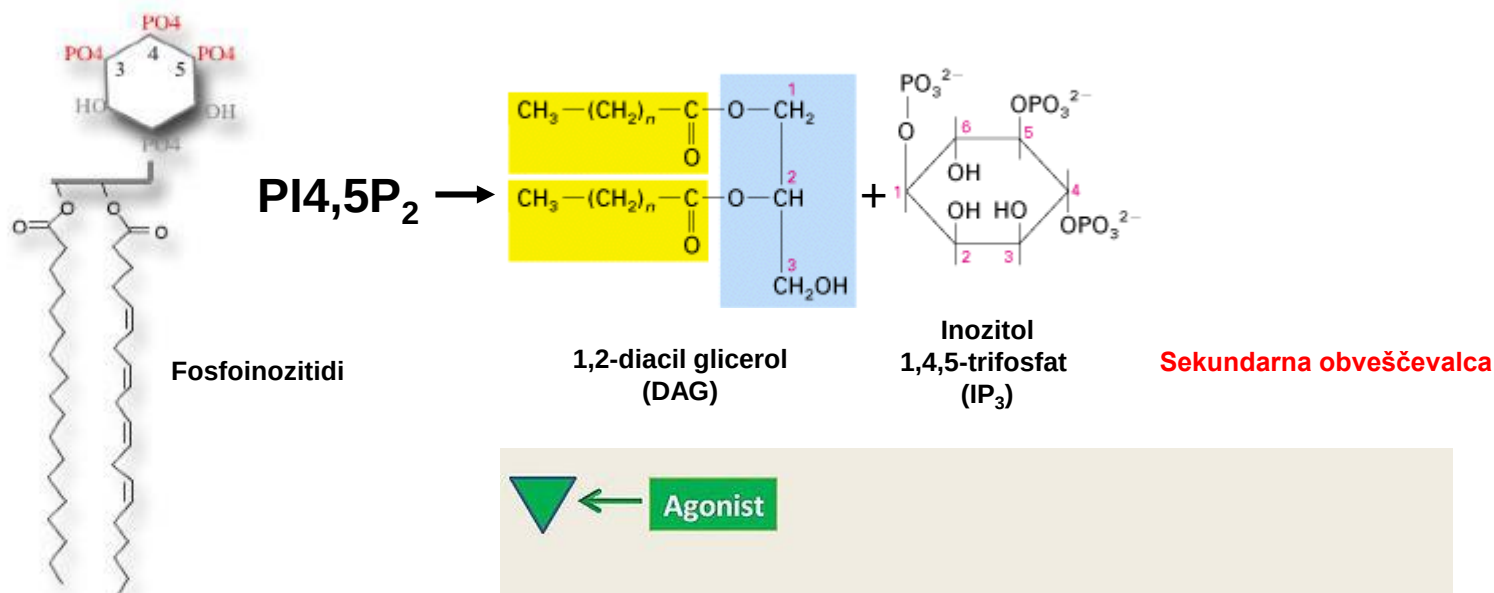
Proteini, ki se vežejo na fosfoinozotide, in sodelujejo pri membranskemu transportu

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	Endocytosis
		Cytohesin-1	PI345P3	Phagocytosis
		EFA6	PI45P2	Endocytosis
	Arf-GAP	ARAP1	PI345P3	PH (multiple) Endocytosis
		ARAP2	PI345P3	PH (multiple) Endocytosis
		ARAP3	PI345P3	PH (multiple) Endocytosis
		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
	Rab-Rab-GEF	AGAP1	PI45P2	PH Endo-lysosomal trafficking
		AGAP2	PI45P2	PH Endo-lysosomal trafficking
		GIT1	PI345P3	ND Endocytosis
		ArfGAP1	PI45P2	ND Vesicle budding at the Golgi
		ArfGAP3	PI45P2	ND
		HERC1	PI45P2	RLD1 Coatomeer assembly Endocytosis
		Rabphilin3A	PI45P2	C2 Secretion
Coats and adaptors		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
		GGA3	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	PI3P, 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
		ESCRTII	PI3P>PI34P2	GLUE Endo-lysosomal trafficking
ESCRT		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

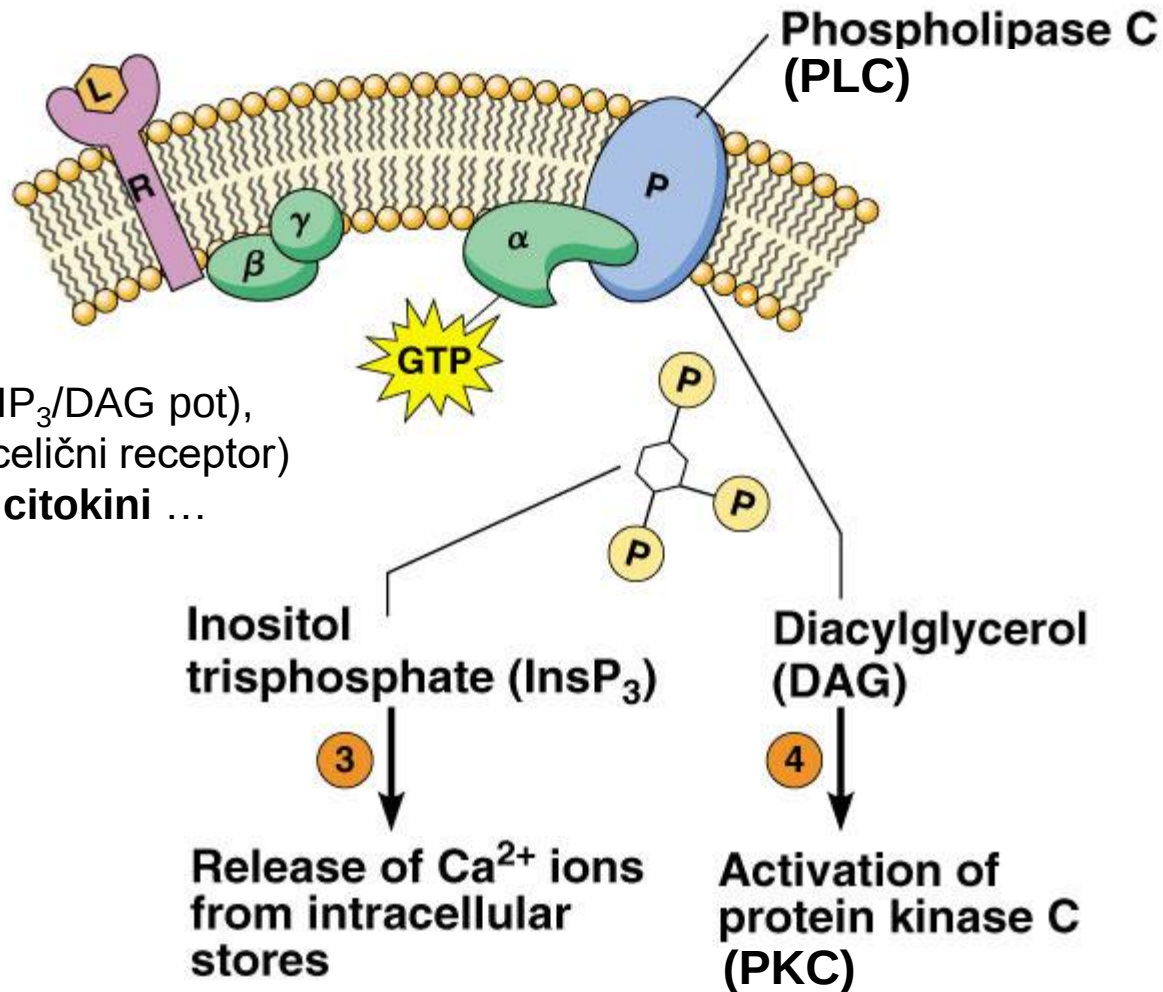


R = GPCR (**PLC β** $\Rightarrow$ IP₃/DAG pot)

L = hormon (vazopresin, TSH, tromboksan A₂, angiotenzin ...)

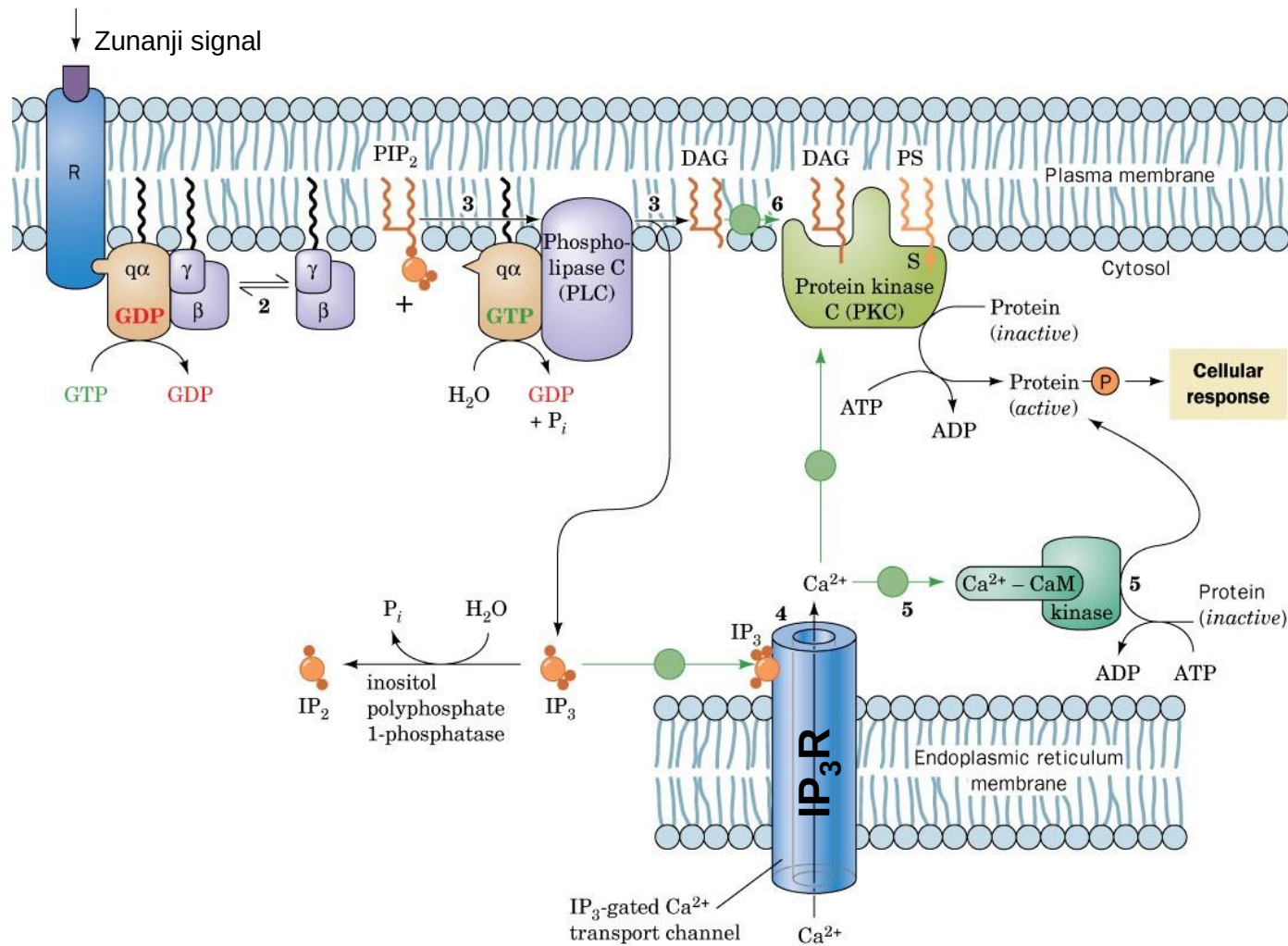
R = RTK (**PLC γ** $\Rightarrow$ IP₃/DAG pot),
(npr. citokinski, T-celični receptor)

L = rastni faktorji, citokini ...



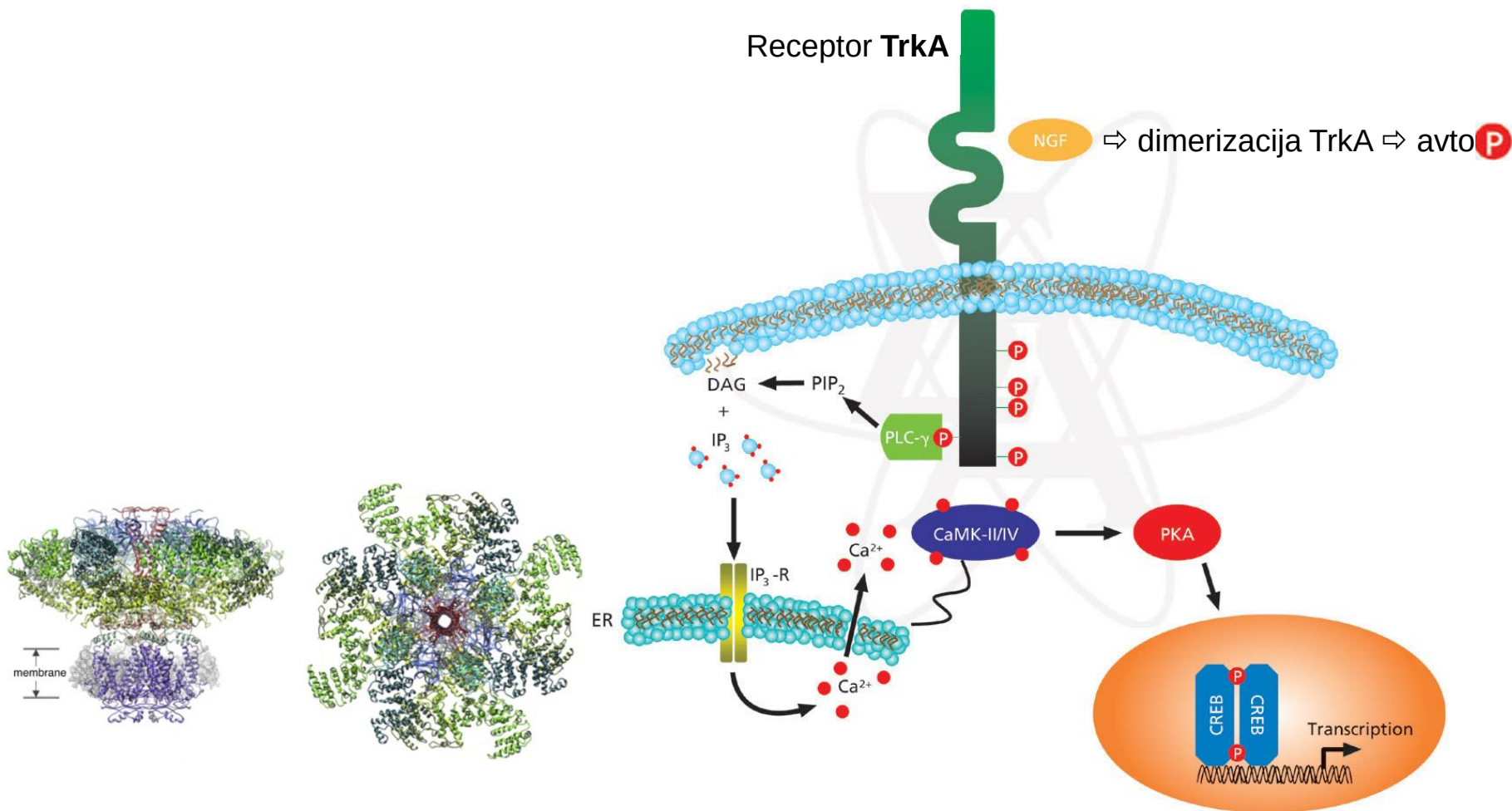
13 sesalskih **PLC** je na osnovi strukture razvrščenih v 6 skupin (**β**, **γ**, δ, ε, ζ, η), ki se razlikujejo v načinu aktivacije

Signalizacija preko GPCR–PIP2-PKC sistema



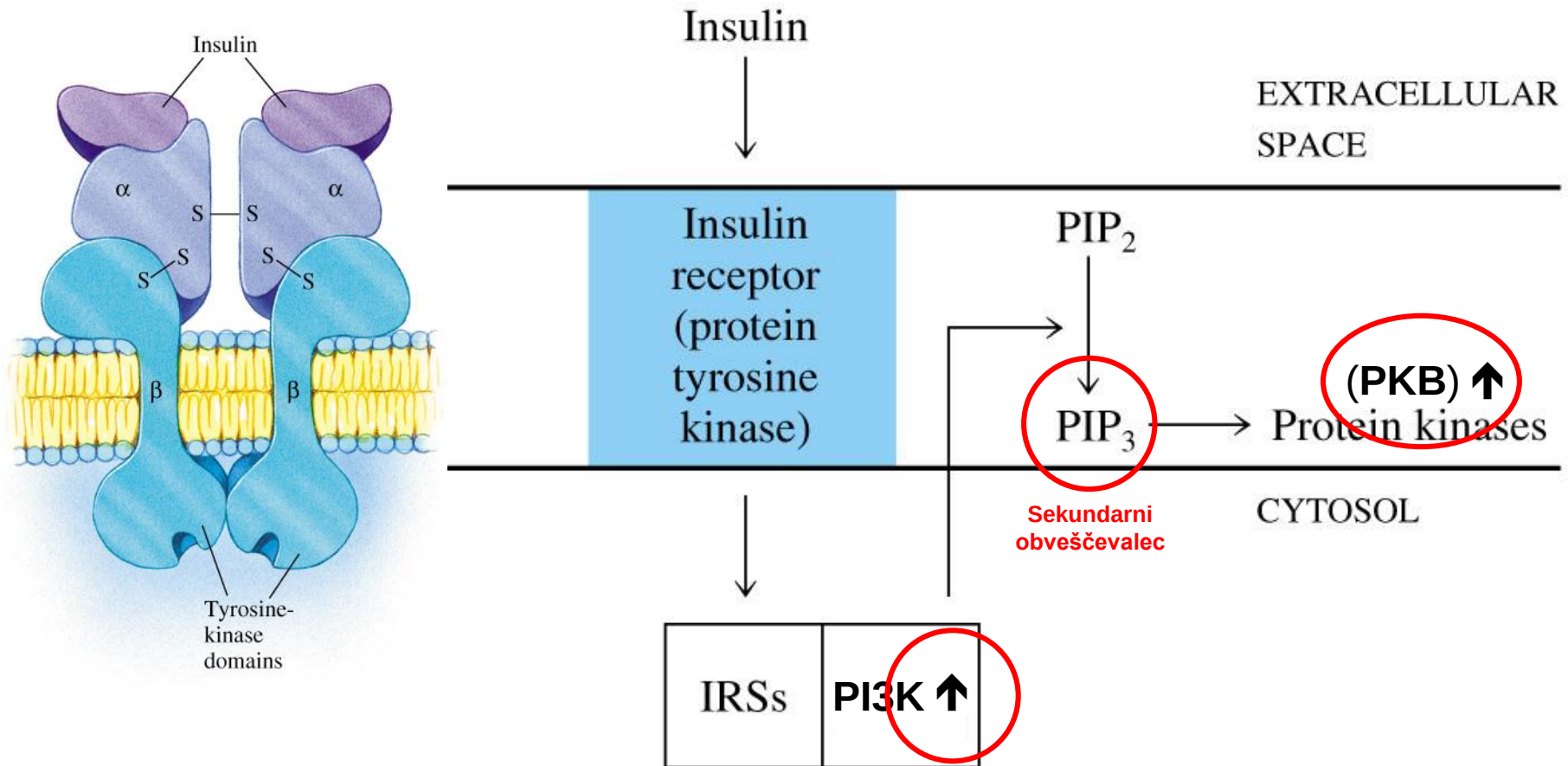
Prenos signala, ki vključuje $G_{\alpha q}$, stimulira **PLC β** , tako da iz PIP₂ nastaneta DAG (so-aktivator za PKC) in IP₃ (odpre Ca²⁺-kanalčke v membrani ER).

Signalizacija preko RTK–PIP2–CaMK sistema



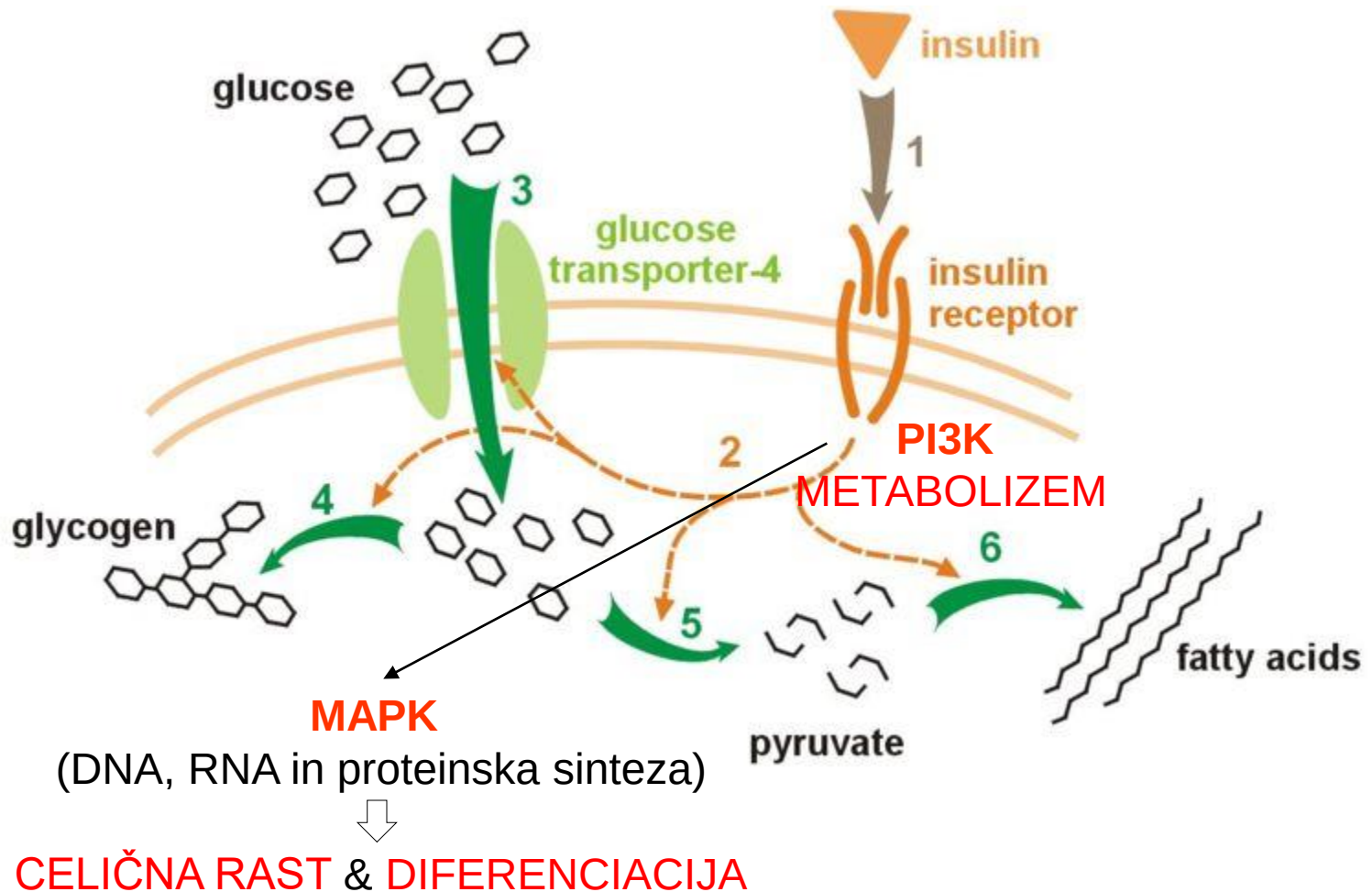
Prenos signala, ki vključuje RTK in **PLC γ** ; nastajata DAG in IP₃. Iz ER se v citosol sprosti Ca²⁺, ki se veže npr. na kalmodulin (CaM). Aktivacija Ca²⁺/CaM-odvisnih protein kinaz (CaMK) sproži razne fiziološke učinke, npr. preko **aktivacije PKA**.

Signalizacija preko RTK–PIP2–PI3K sistema: fosfoinozitidi kot stimulatorji katalitske aktivnosti

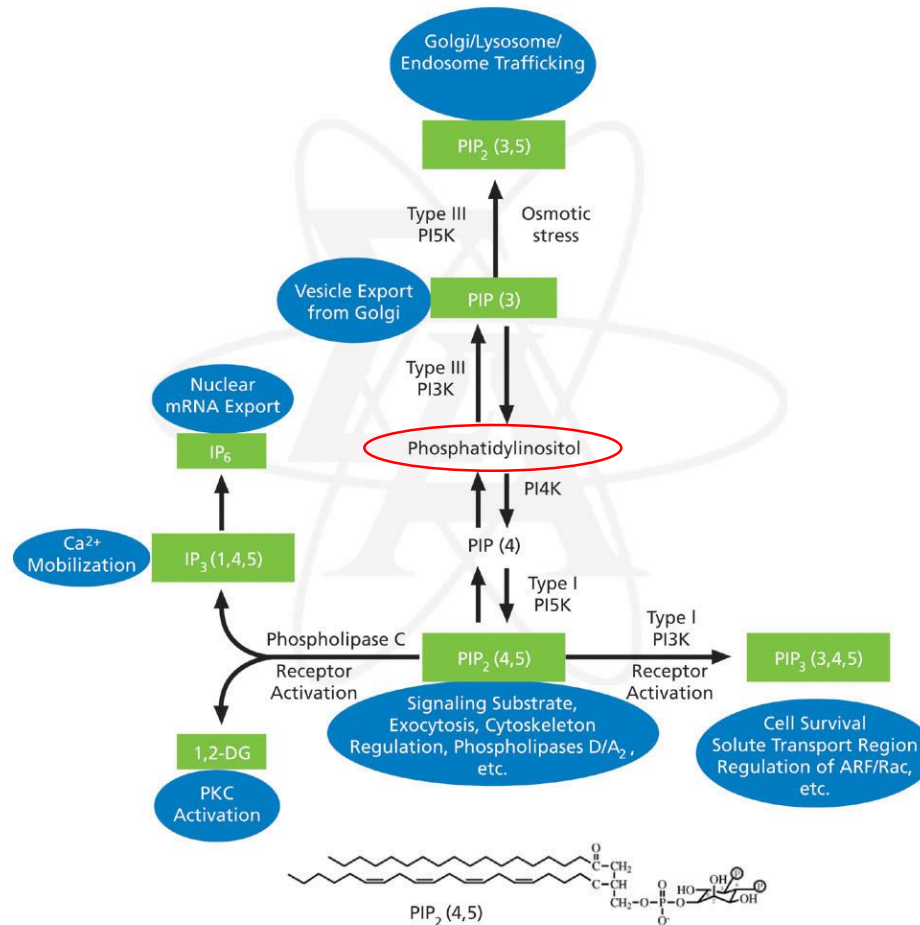


Inzulinski receptor je Tyr-kinaza (RTK), ki fosforilira proteinske substrate v citosolu (IRS = Insulin Receptor Substrate). Ti se vežejo na **PI3K**, jo aktivirajo, da katalizira nastanek PIP₃. **PI3K** potem signal prenese na znotrajcelične protein-kinaze, **aktivira** npr. **PKB** (z vazavo na PH domeno).

Učinki inzulina na celico



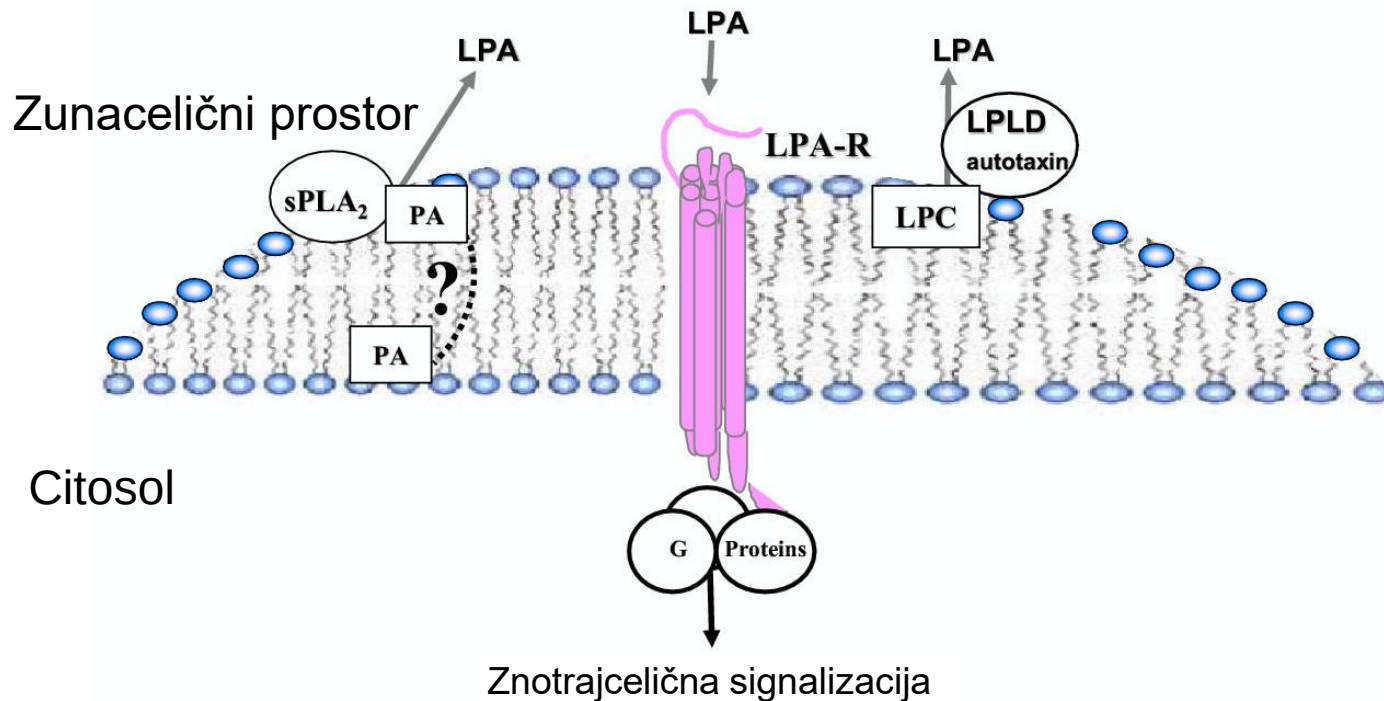
Fosfoinozitidi in signalizacija



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

Signalizacija z lizofosfolipidi



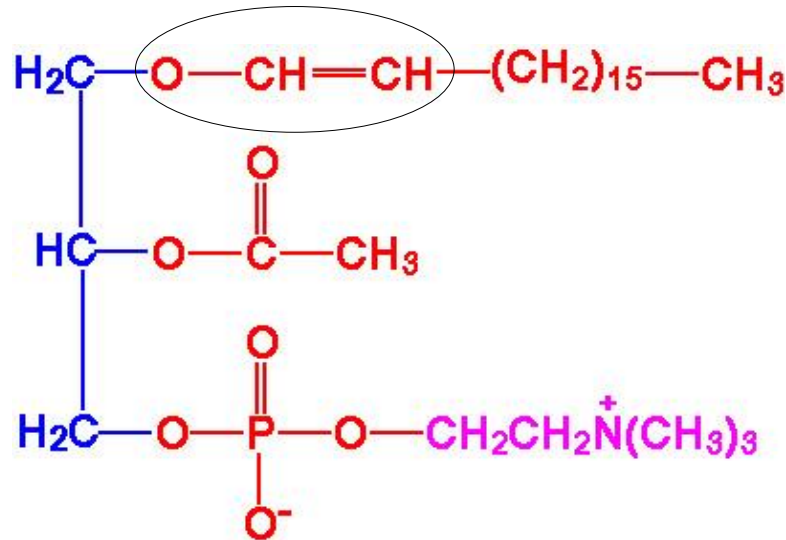
LPA se z visoko-afiniteto veže na LPA receptorje (ali EDGRs = Endothelial Differentiation Gene Receptors), ki so GPCR.

LPAR(1–3): proliferacija, migracija in preživetje celic.

Na podoben način poteka tudi **signalizacija z LPC**.

Signalizacija s plazmalogeni

PAF: aktivacijski faktor za trombocite

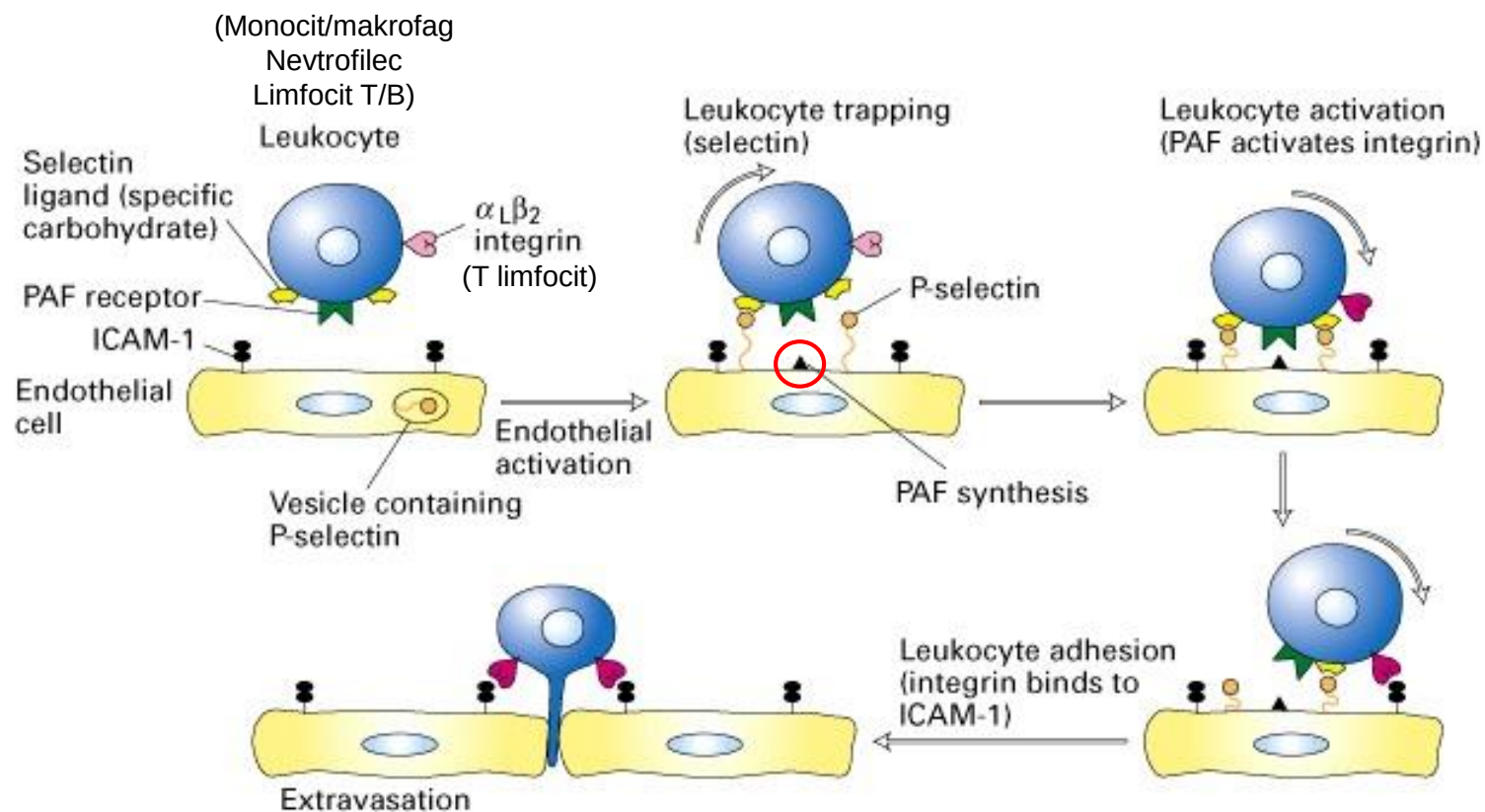


PAF deluje z vezavo na PAF receptor, ki tudi sodi med GPCR.

Regulira številne funkcije levkocitov, npr. 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



Integrinski receptor na levkocitu se aktivira po interakciji PAF s PAFR (GPCR). Po aktivaciji se veže na endotelijski CAM iz naddružine Ig (Inter-CAM), kar učvrsti vezavo med celicama.

Nekateri procesi, ki jih PL regulirajo kot hormoni

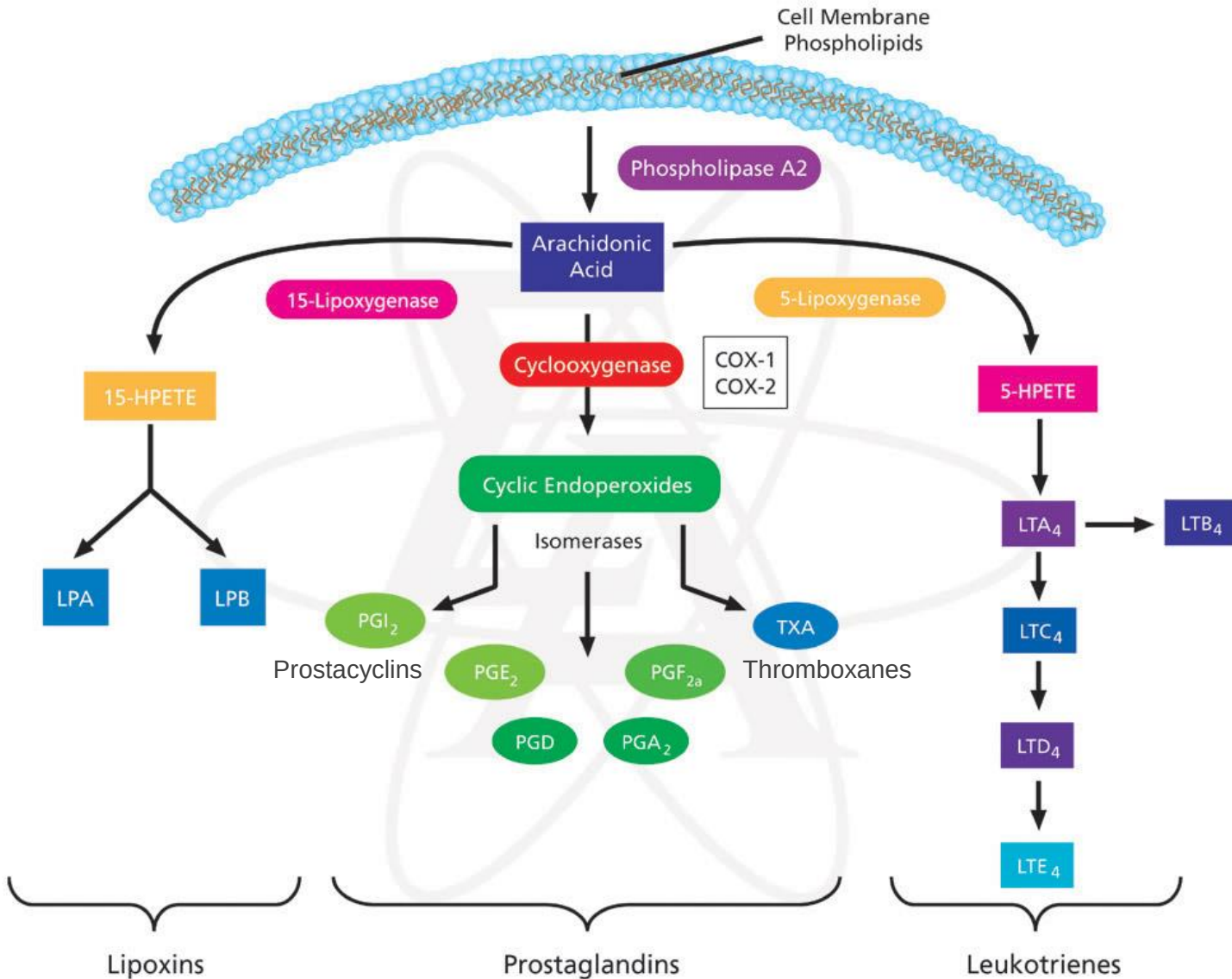
LPA je močan mitogen (proliferativni učinek na celice).

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

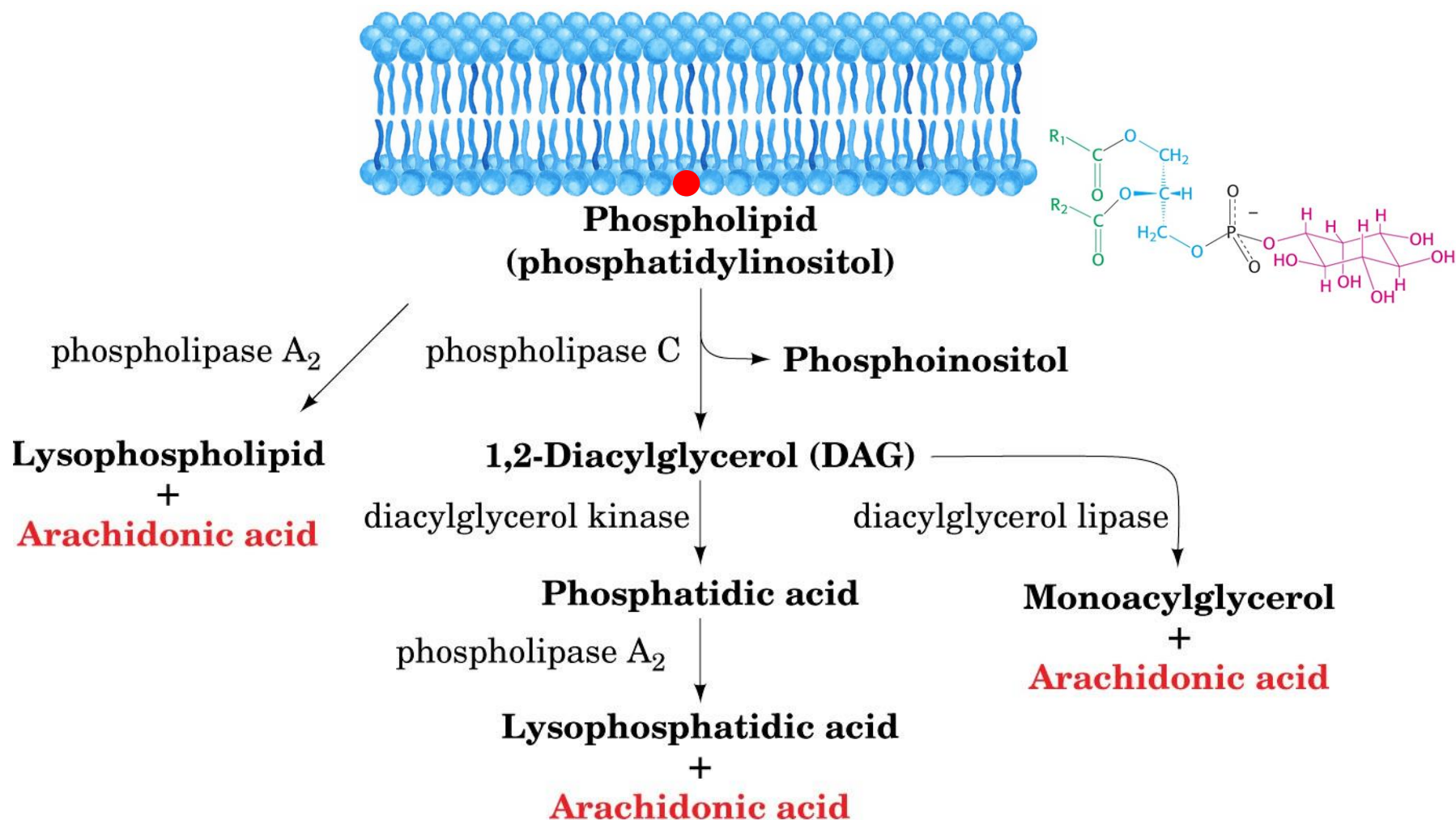
PAF izločajo bazofilci in mastociti v reakcijah takojšnje preobčutljivosti, makrofagi in nevtrofilci pa v vnetnih reakcijah. Je močan bronhokonstriktor, povzroča agregacijo trombocitov, vazodilatacijo, vnetje, anafilaksijo, sodeluje pri ekstravazaciji levkocitov.

PAVZA – 10 MINUT

Eikozanoidi in signalizacija

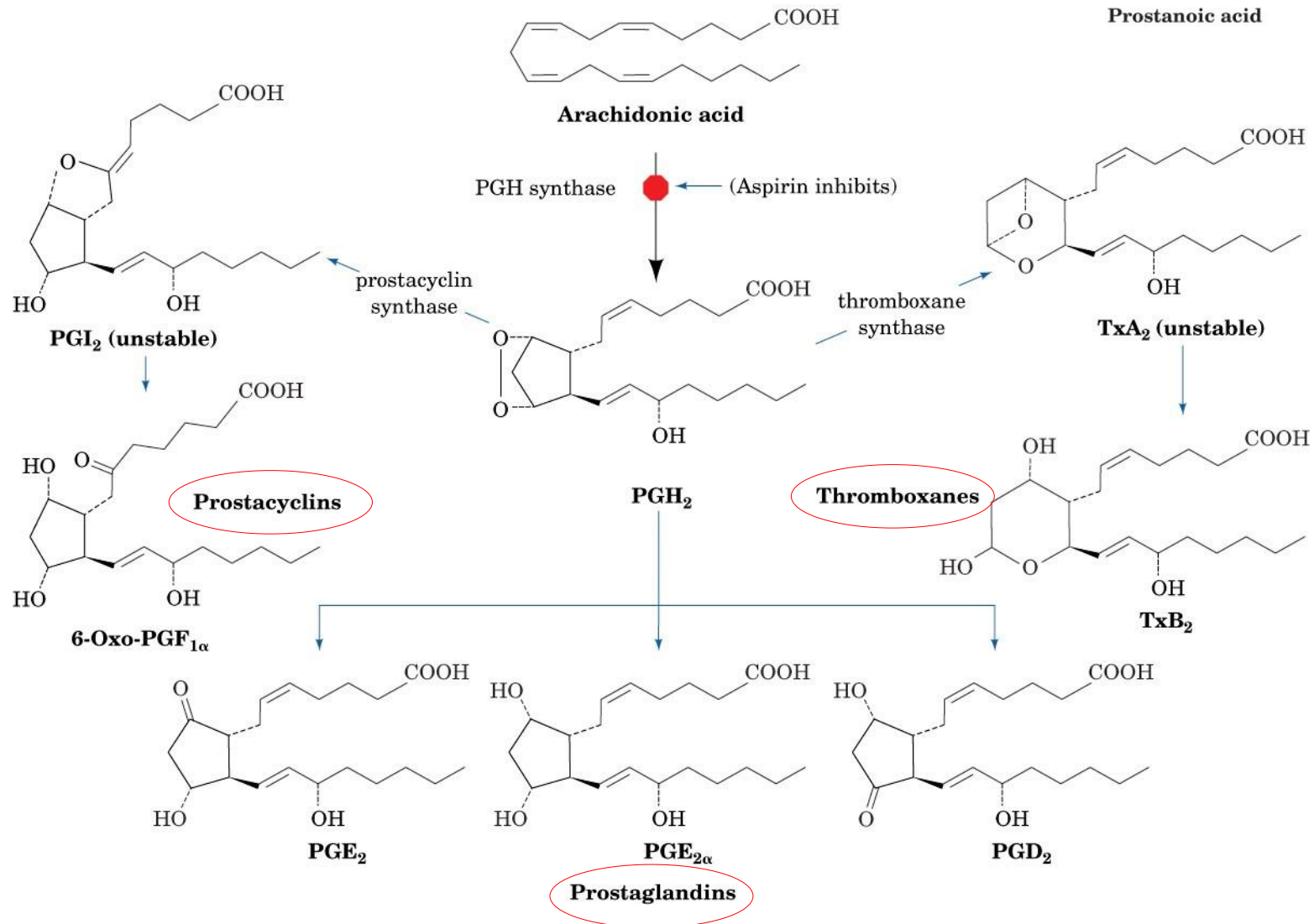
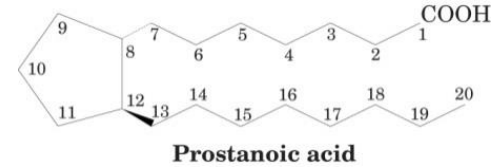


Poti sproščanja arahidonske kisline

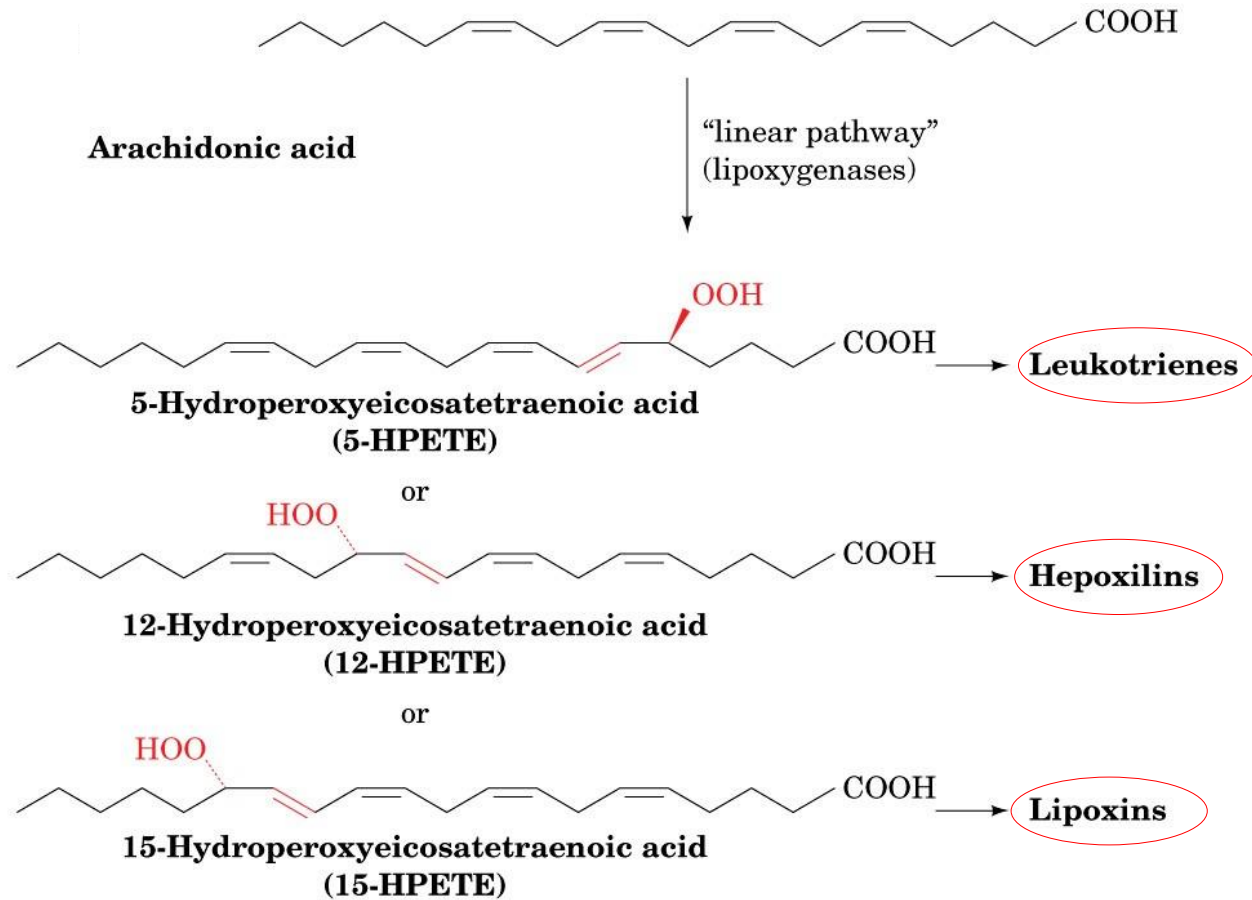


'Ciklična pot' metabolizma arahidonske kisline

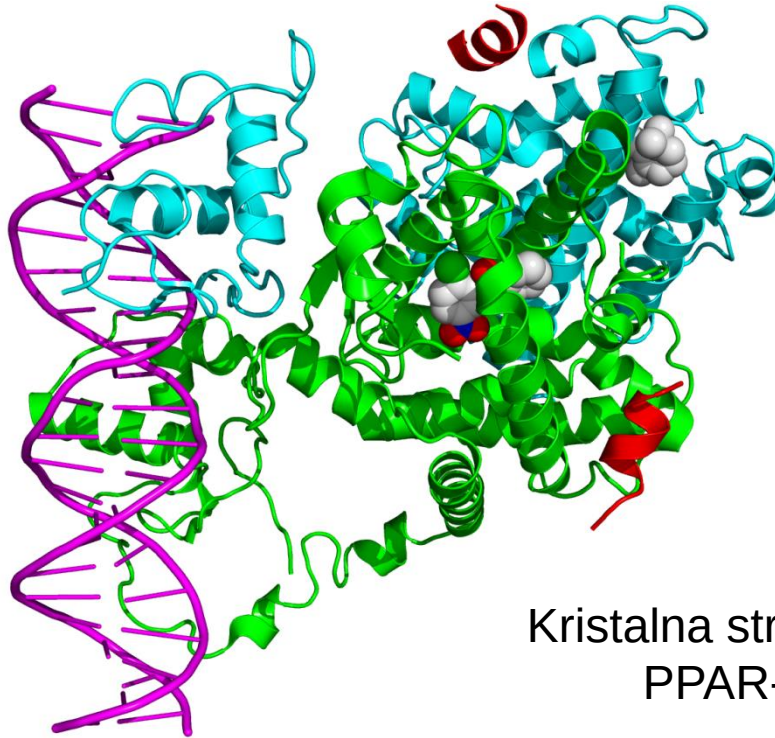
Sinteza prostanoidov $\Rightarrow$



'Linearna pot' metabolizma arahidonske kisline



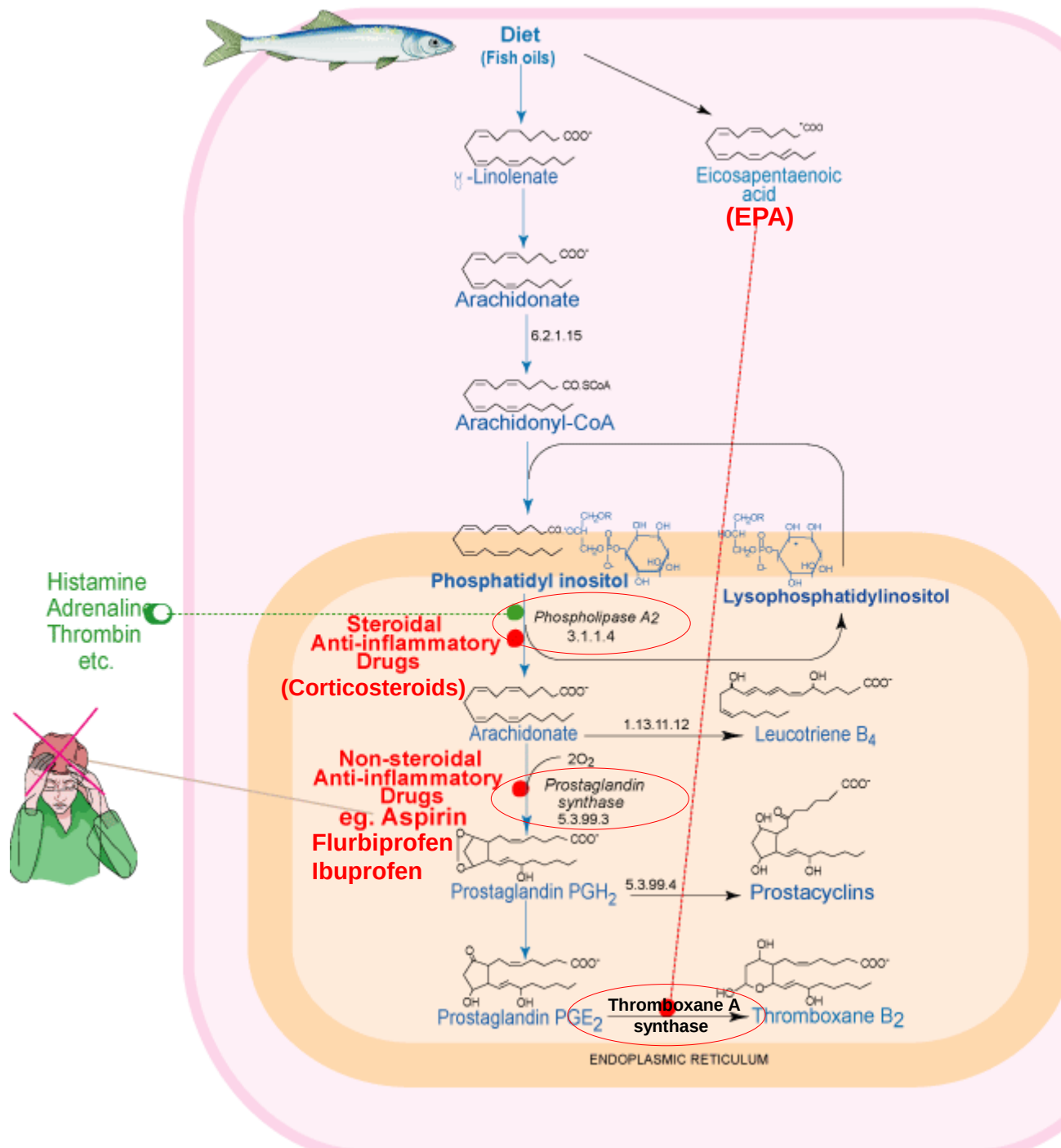
Eikozanoidi delujejo kot hormoni



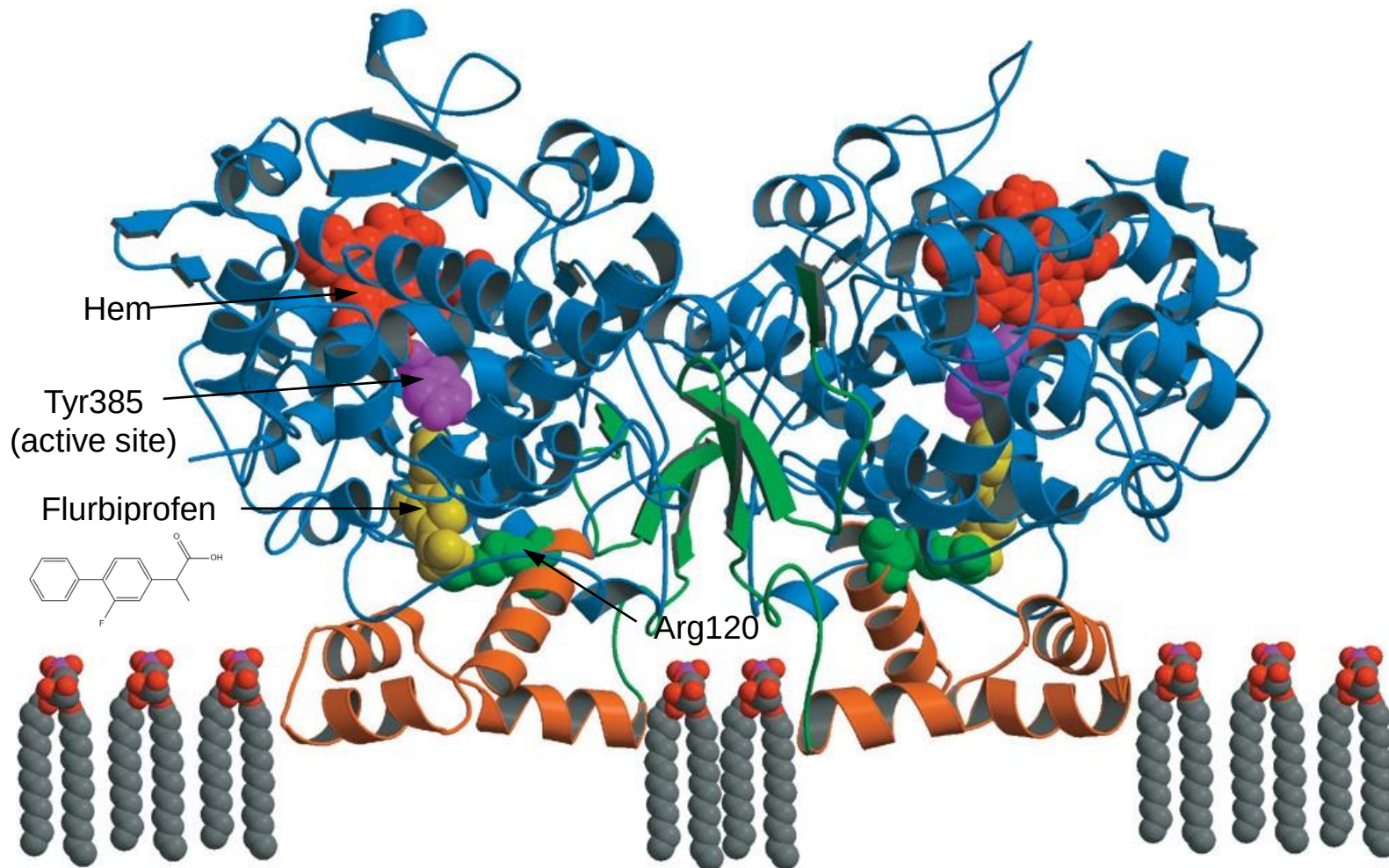
Kristalna struktura jedrnega receptorja
PPAR- γ v kompleksu z DNA

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

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

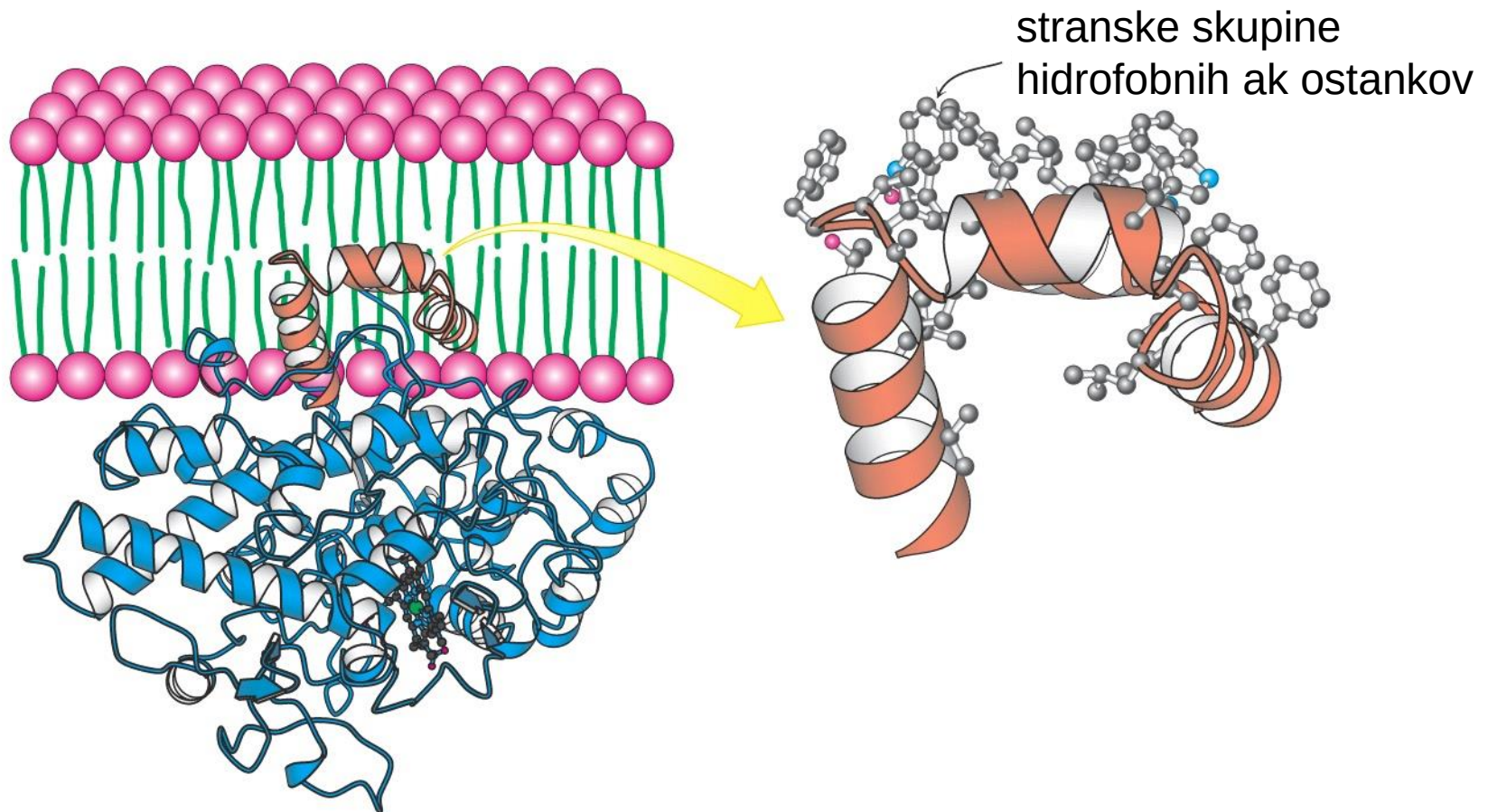


PGH₂ sintaza (ciklooksigenaza ali prostaglandin-endoperoksid sintaza) je protein v membrani ER

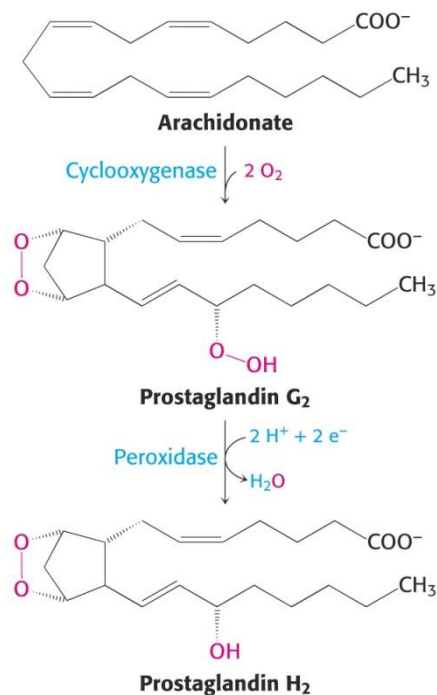


Kristalna struktura ovčje PGH₂ sintaze v kompleksu z NSAID flurbiprofenom (reverzibilni inhibitor COX-1 in COX-2).

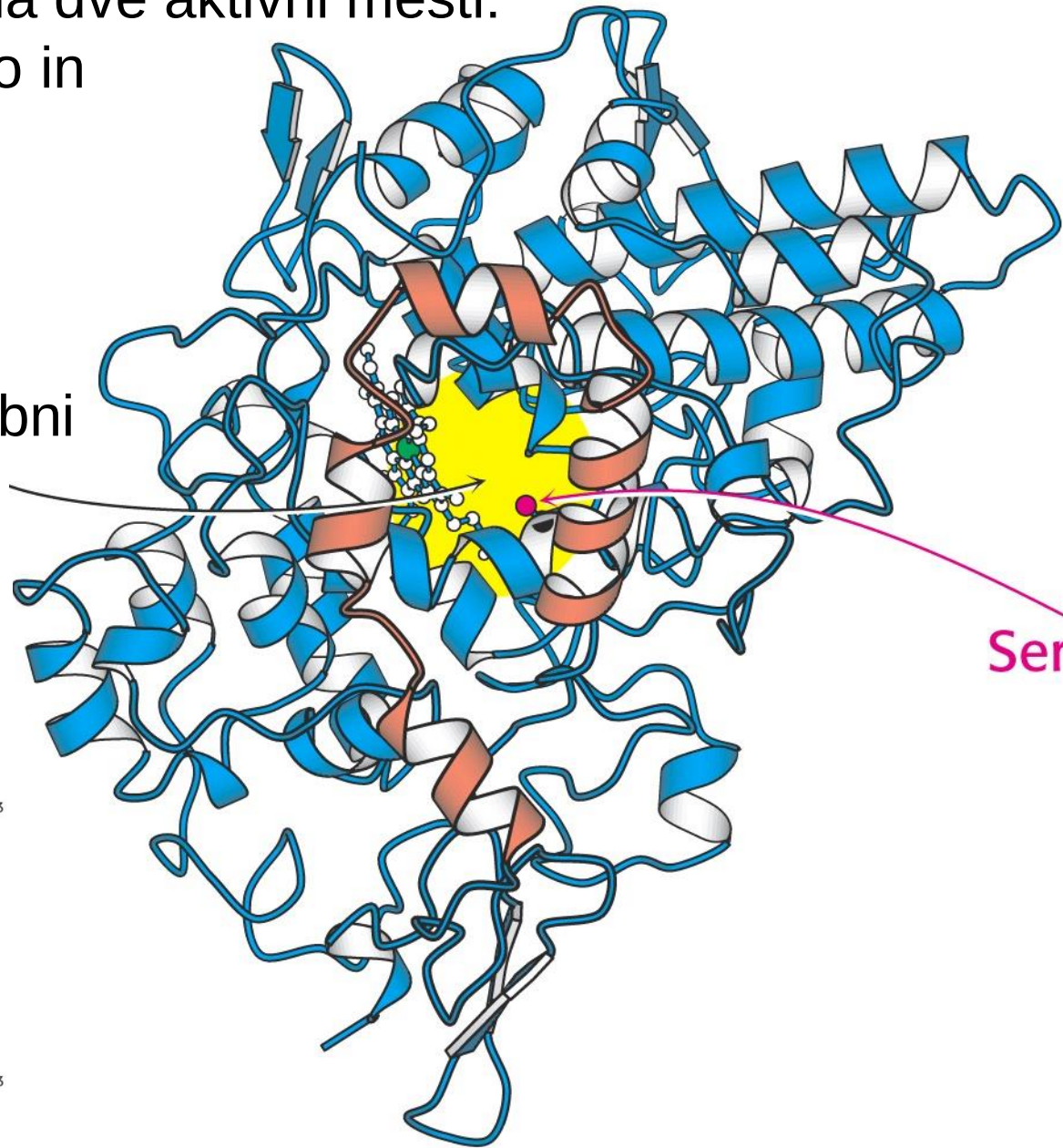
PGH₂ sintetaza je ne-transmembranski integralni membranski protein



PGH₂ sintaza ima dve aktivni mesti:
ciklooksigenazno in
peroksidazano



Hidrofobni
kanal

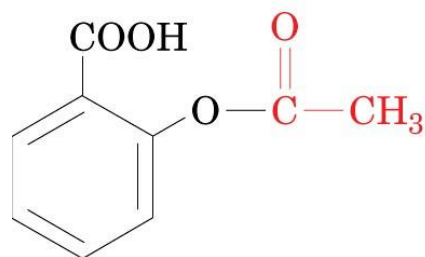


Ser 530

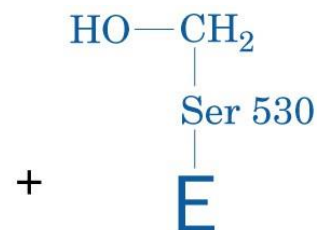
Inhibicija PGH_2 sintaze z aspirinom je ireverzibilna



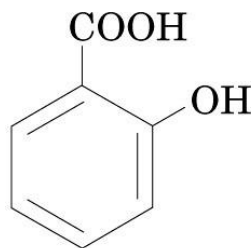
Analgetik
Antipiretik
Antitrombotik
Antiinflamatorik



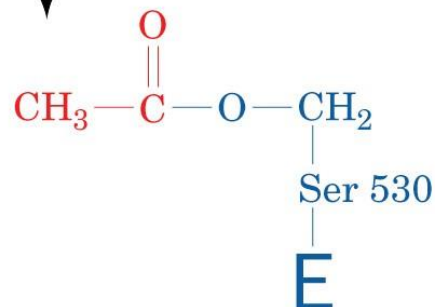
Aspirin



PGH_2 sintaza
(aktivna)



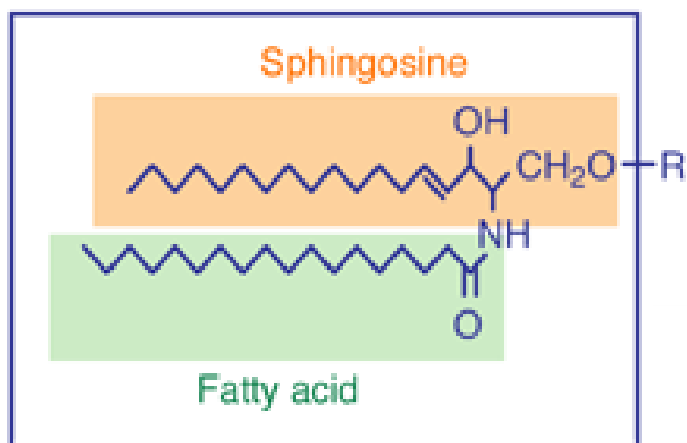
Salicilna
kislina



PGH_2 sintaza
(neaktivna)

Sfingolipidi in signalizacija

Strukture sfingozina in ceramida ter njunih derivatov, sfingomielina in glikosfingolipidov.



Substituenta (R)

Sfingolipid

H

Ceramid

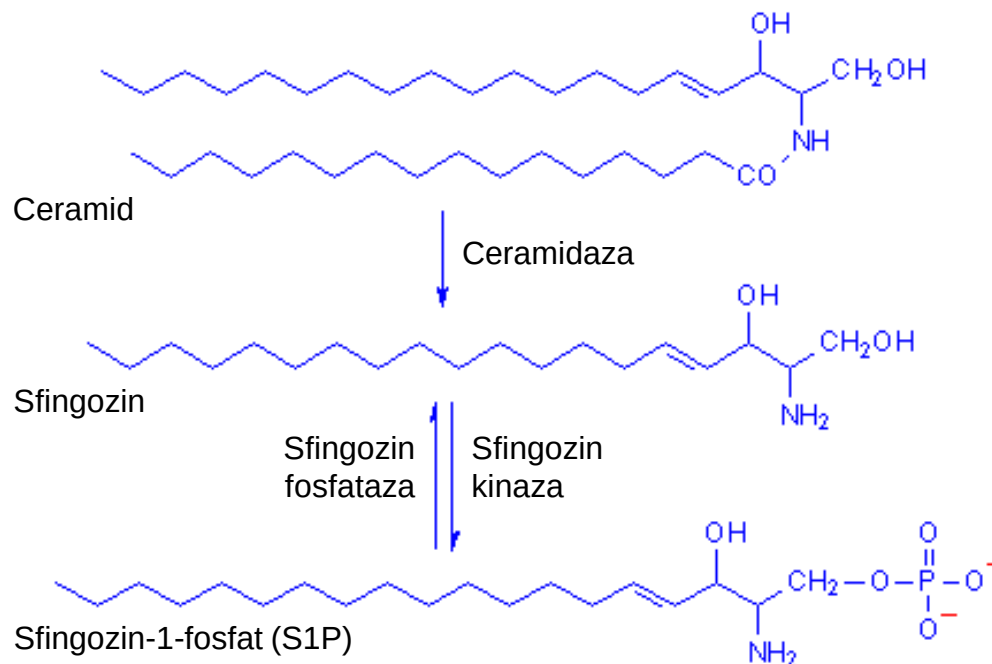
Fosfoholin

Sfingomielin

Mono/polisaharid

Glikosfingolipid (cerebrozid, ganglioizid)

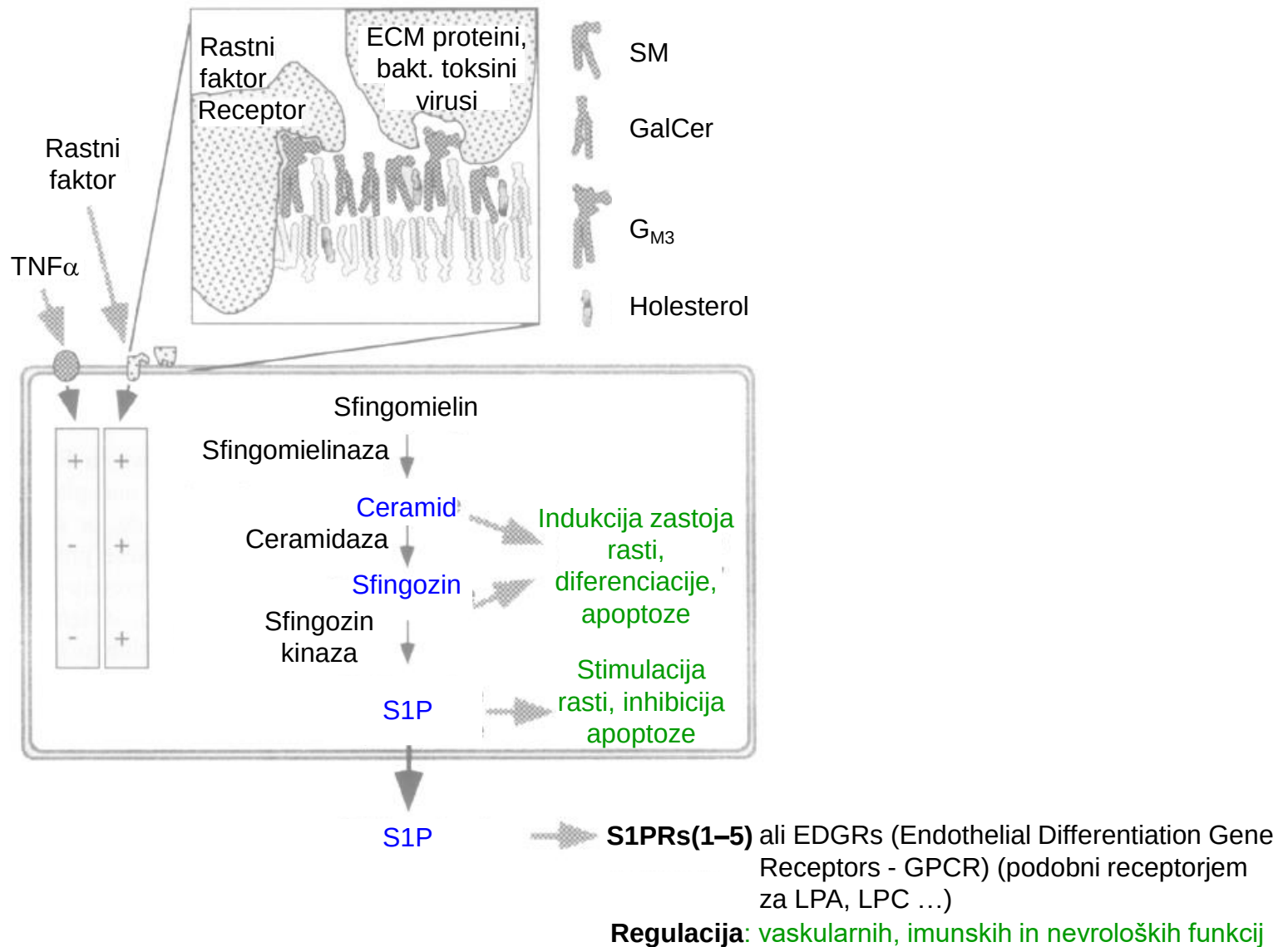
Pretvorbe ceramida



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

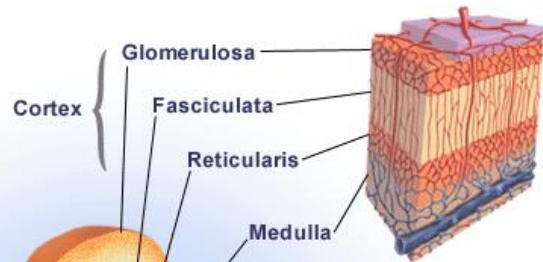
Vpliva na **proliferacijo, diferenciacijo, prepustnost žil, angiogenezo, apoptozo.**

Nekatere signalizacijske funkcije sfingolipidov

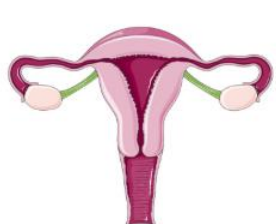


Holesterol in njegovi derivati

Steroidni hormoni



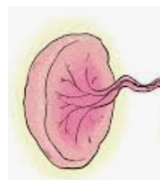
Aldosterone **Mineralokortikoidi**
 Cortisol **Glukokortikoidi**
 Androgens **Androgeni**
 Catecholamines



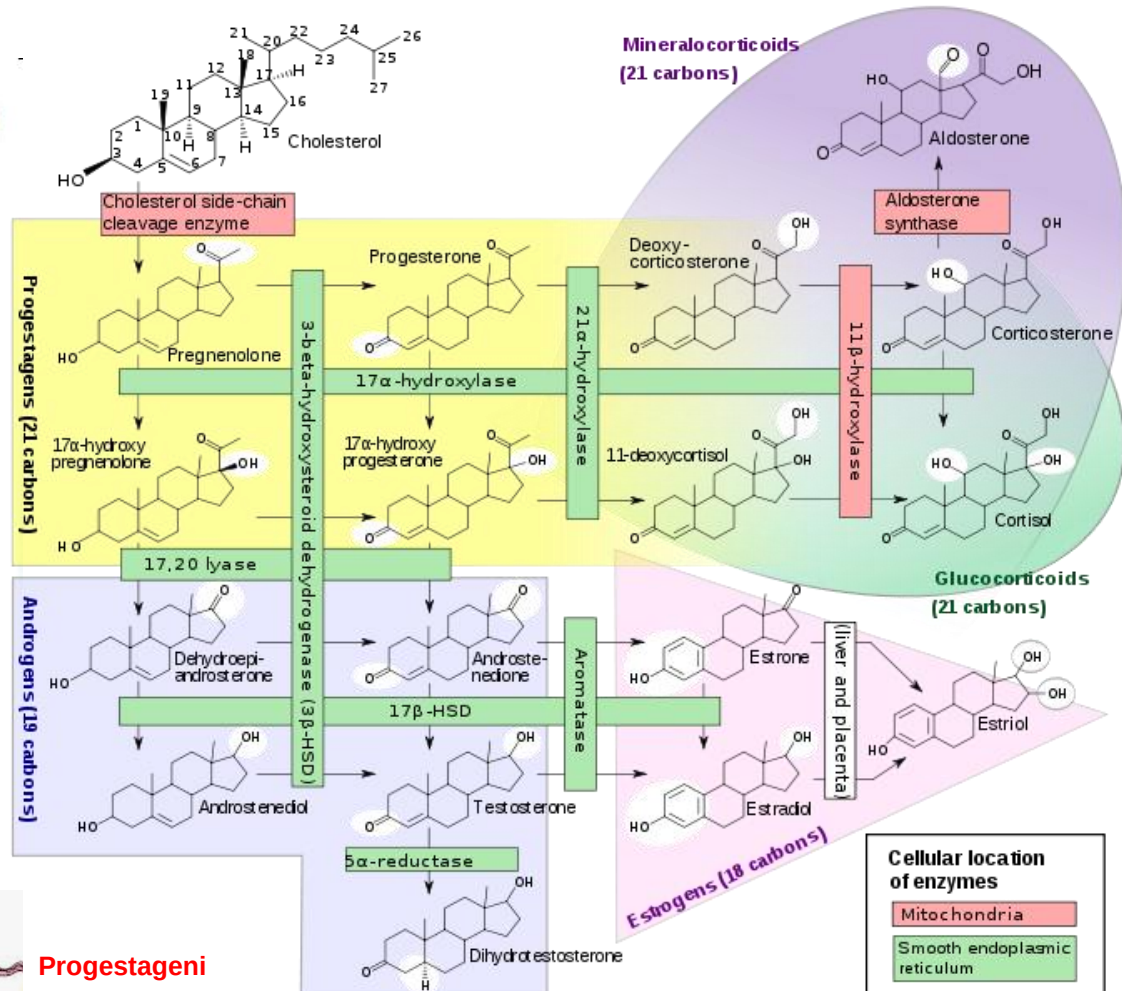
Estrogeni



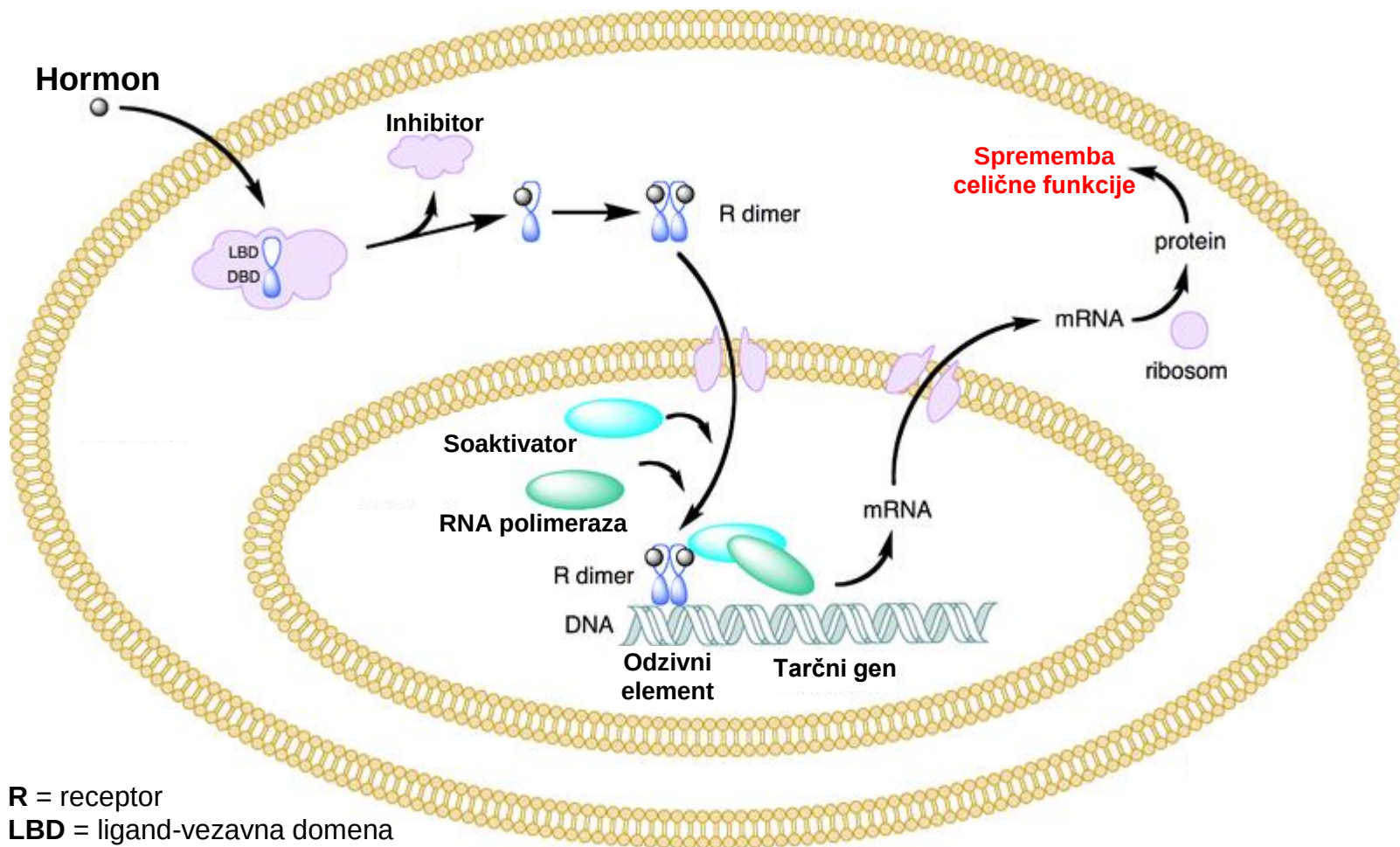
Androgeni



Progestageni



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: poglavitni 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

Lolicato, F. et al. (2024): Phosphoinositide switches in cell physiology
- From molecular mechanisms to disease. J. Biol. Chem. 300, 105757