

Recettori intracellulari

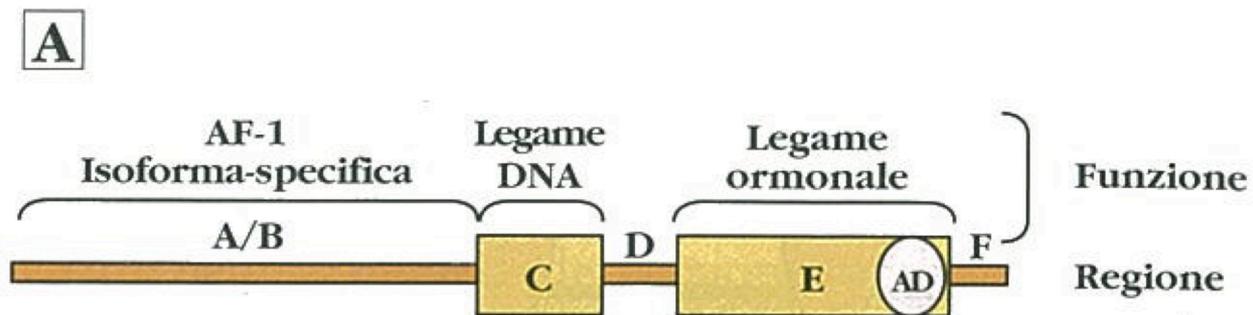
- Bersaglio molecolare di molecole lipofile come ormoni steroidei, tiroidei, retinoidi, vitamine A e D;
- La trasduzione del segnale consiste nella modulazione della trascrizione di geni che controllano la riproduzione, lo sviluppo e il metabolismo;
- Localizzazione citoplasmatica o nucleare.

Recettori intracellulari

- 49 geni, 6 sottofamiglie delle quali 3 hanno interesse farmacologico:
- NR1:
 - Ormoni tiroidei (TRs);
 - Acido retinoico (RARs);
 - Vitamina D (DVR);
 - Acidi grassi e prostaglandine (PPARs, *peroxisome-proliferation activated receptors*);
 - Sostanze tossiche di origine industriale (CAR):
- NR2:
 - Acidi retinoici (RXRs)
- NR3:
 - Glucocorticoidi (GRs)
 - Mineralcorticoidi (MRs)
 - Estrogeni (ERs)
 - Progestinici (PRs)
 - Androgeni (ARs)

Recettori intracellulari

- A/B (o AF-1) → funzione regolatoria
- C → legame al DNA
- E → legame del ligando



Recettori intracellulari

1. Legame del ligando (dominio E)
2. Cambiamento conformazionale (+ legame di co-attivatori o co-repressori)
3. Il recettore viene liberato dall'azione inibitoria di altre proteine
4. Il recettore dimerizza (e eventualmente migra nel nucleo)
5. Interazione con specifiche sequenze di DNA (regione C, HRE *Hormone Response Elements*)
6. Reclutamento dei componenti del complesso d'inizio della trascrizione
7. Modulazione della trascrizione:
 - Attivazione
 - Soppressione

Recettori intracellulari

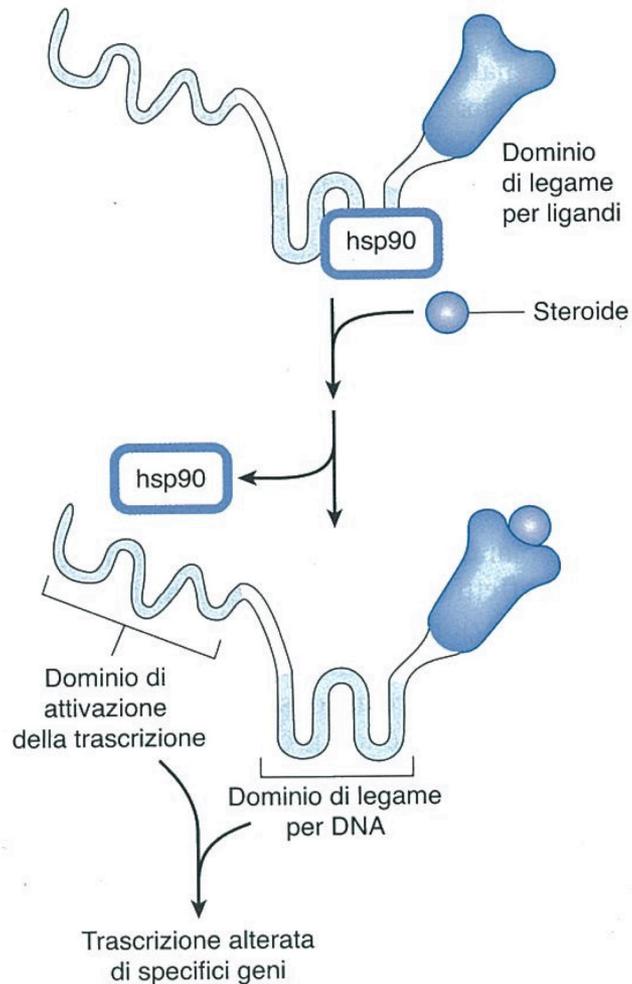


FIGURA 2-6. Meccanismo di azione dei glucocorticoidi. Il recettore per i glucocorticoidi, di natura polipeptidica, è schematicamente rappresentato come una proteina con tre distinti domini. Una proteina *heat shock* ("shock termico"), hsp90, è legata al recettore in assenza dell'ormone e ne impedisce la variazione conformazionale che attiva il recettore stesso. Il legame con un ligando ormonale (steroidi) determina la dissociazione dell'hsp90 che funge da stabilizzatore, e favorisce in tal modo la conversione alla configurazione attiva.

Interesse farmacologico dei recettori intracellulari

- Attività simil- o anti-ormonale:
 - Raloxifene:
 - Agonista puro ER su cellule dell'osso
 - Antagonista ER su cellule dell'endometrio
 - Tamoxifene:
 - Antagonista ER su cellule mammarie
 - Agonista parziale ER su cellule dell'osso e dell'endometrio
- Modulazione del metabolismo:
 - Lipidico:
 - Fibrati su PPAR γ
 - Glucidico:
 - Tiazolidindioni su PPAR γ

Modulazione delle risposte recettoriali

- **Desensitizzazione** (adattamento, refrattarietà): riduzione della sensibilità di un recettore nei confronti di un neurotrasmettitore o ormone.
- **Ipersensitizzazione**
- **Tolleranza**: perdita dell'effetto farmacologico in seguito a trattamento ripetuto:
 - **Tachifilassi**: tolleranza che insorge in maniera molto rapida

Modulazione delle risposte recettoriali

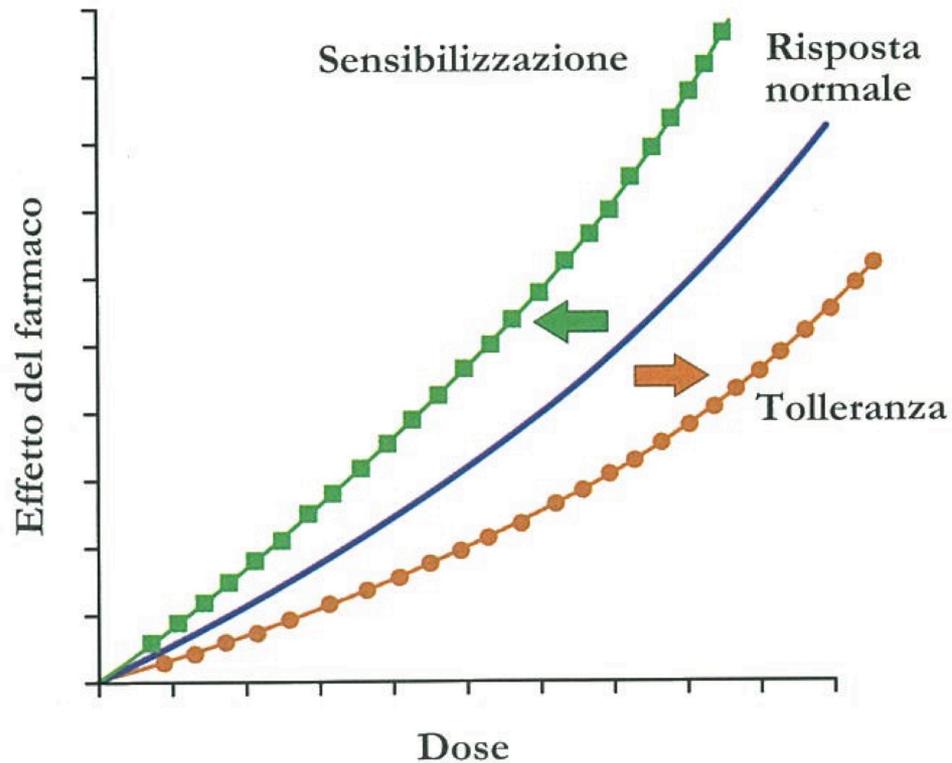


Figura 2.17. Relazione tra dose ed effetto in condizioni di sensibilizzazione e tolleranza

- **Desensitizzazione:**

- **Omologa**: causata dall'esposizione del recettore al suo agonista specifico
- **Eterologa**: la stimolazione di un sistema recettoriale induce riduzione di sensibilità in recettori diversi

- **Variazioni:**

- nell'**affinità** recettoriale
 - nell'**efficienza** della trasduzione
 - del **numero** di recettori → *down-regulation*
→ *up-regulation*
- } Desensitizzazione propriamente detta

Desensitizzazione dei GPCRs

- Riduzione di affinità per l'agonista
- Disaccoppiamento recettore-proteina G:
 - Secondario alla fosforilazione del recettore da parte di:
 - Protein-chinasi dipendenti da secondo messaggero (PKA cAMP-dipendente)
 - Chinasi dei recettori associati a proteine G (GRK)
- Internalizzazione del recettore

Desensitizzazione da GRK

- GRK sono una famiglia di Ser/Thr-chinasi citosoliche
- Sono specifiche per uno specifico recettore
- In seguito ad attivazione recettoriale le GRK traslocano dal citoplasma alla membrana, interagiscono con la subunità $\beta\gamma$ e favoriscono la fosforilazione del recettore e di conseguenza l'interazione con β -arrestina che:
 - Riduce l'affinità del recettore per l'agonista
 - Impedisce stericamente l'interazione recettore-proteina G
 - Provoca l'internalizzazione del recettore

Desensitizzazione da GRK - recettore β -adrenergico -

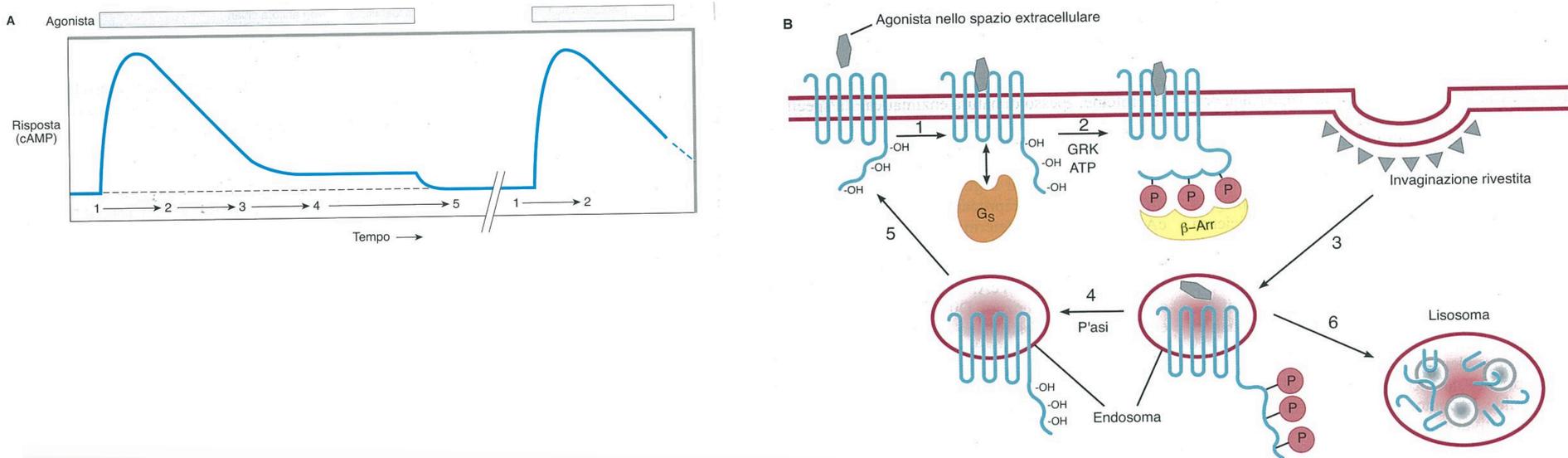
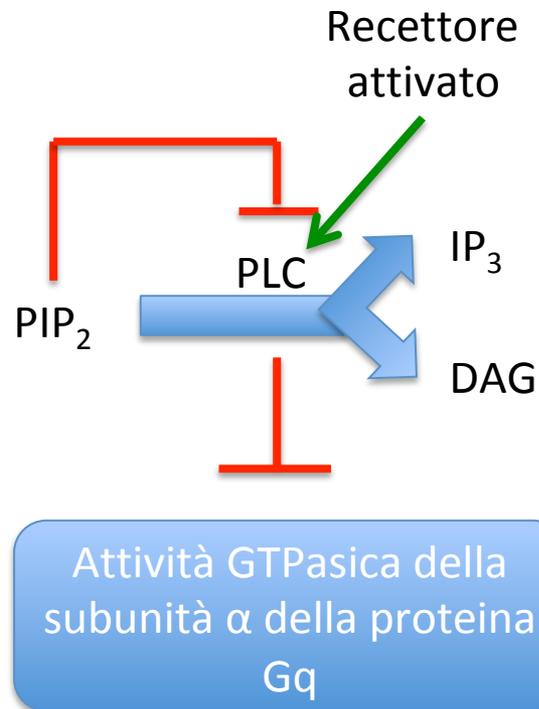


FIGURA 2-12. Desensibilizzazione rapida, risensibilizzazione e *down-regulation* (sottoregolazione) dei recettori β -adrenergici. **A.** Risposta ad un agonista β -adrenergico (ordinata) in funzione del tempo (ascissa). (I numeri fanno riferimento alle tappe della dinamica molecolare in B). L'esposizione di cellule ad agonista (indicata dalla barra in alto colorata in azzurro chiaro) porta alla formazione di cAMP. Ridotta produzione di cAMP si osserva in seguito ad esposizione continua ad agonista; tale "desensibilizzazione" si manifesta solitamente entro pochi minuti. Se l'agonista è rimosso dopo un periodo breve (di solito da pochi minuti a qualche decina di minuti, come indicato dalla linea interrotta sull'ascissa), le cellule riacquistano piena capacità di risposta ad una successiva aggiunta di agonista (seconda barra colorata in azzurro chiaro). Questa "risensibilizzazione" non si manifesta o avviene solo parzialmente se le cellule sono esposte all'agonista ripetutamente o per un tempo più protratto. **B.** Il legame dell'agonista ai recettori attiva il processo di risposta promuovendo l'interazione del recettore con le proteine G (G_s) localizzate nel citoplasma (tappa 1 nello schema). I recettori così attivati sono fosforilati dalla chinasi del recettore accoppiato a proteina G (GRK), prevenendone l'interazione con G_s e promuovendo il legame di una diversa proteina, la β -arrestina (β -Arr), al recettore (tappa 2). Il complesso recettore-arrestina si lega ad invaginazioni rivestite, promuovendo l'internalizzazione del recettore (tappa 3). La dissociazione dell'agonista dai recettori internalizzati riduce l'affinità di legame con la β -arrestina, permettendo la defosforilazione dei recettori ad opera di una fosfatasi (P'asi, tappa 4) ed il loro ritorno sulla membrana plasmatica (tappa 5); nel complesso, questi eventi determinano una risensibilizzazione efficace della risposta cellulare. Ripetute o prolungate esposizioni di cellule ad agonisti favoriscono la distribuzione di recettori internalizzati ai lisosomi (tappa 6), promuovendo la *down-regulation* del recettore piuttosto che la sua risensibilizzazione.

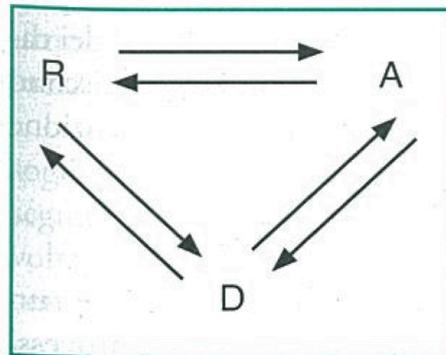
GPCRs & la via dei fosfoinositidi

- Meccanismi di regolazione esclusivamente omologa



Desensitizzazione dei recettori canale

- Dipende in gran parte da modificazioni conformazionali piuttosto che dalla loro espressione in membrana



○ FIG. 2.11. Stati di attività in cui può trovarsi un recettore canale. L'agonista sposta l'equilibrio dallo stato "di riposo" (R) a quello "attivo" (A) e infine a quello "desensitizzato" (D). I tre stati sono intercambiabili.

Desensitizzazione dei recettori per i fattori di crescita e dei recettori intracellulari

- **Fattori di crescita:**
 - Fosforilazione di Ser o Thr da parte di PKC
 - Omologa
 - Eterologa
- **Recettori intracellulari:**
 - Riduzione o aumento del numero di recettori