

Adrenergická modulácia inozitol 1,4,5-trisfosfátových receptorov v procese apoptózy

Katarína Jašková^{1,2}, Ľubomíra Lenčešová¹

¹Ústav molekulárnej fyziológie a genetiky SAV, Laboratórium biochémie transportných systémov, Vlárská 5, 833 34 Bratislava, ²Univerzita Komenského v Bratislave, Prírodovedecká fakulta, Katedra molekulárnej biológie, Mlynská dolina, 842 15, Bratislava
katie.jaskova@gmail.com

Inozitol 1,4,5-trisfosfátové receptory (IP₃R) predstavujú rodinu vápnikových (Ca²⁺) kanálov zodpovedných za uvoľnenie Ca²⁺ z vnútrobunkových zásobární do cytosólu, a to po väzbe IP₃ ako sekundárneho posla [1]. Každá molekula IP₃R je zložená z asi 2700 AK a má molekulovú hmotnosť ≈ 310 kDa. Štruktúrne a funkčne je IP₃R zložený z troch častí, a to z N-terminálnej cytosólovej IP₃ väzobnej domény, regulačnej domény a C-terminálnej domény tvorenej šiestimi hydrofóbnymi transmembránovými α-helixami, ktoré formujú iónový vodivý pór spolu s krátkou hydrofóbnou cytoplazmatickou sekvenciou [2]. IP₃R sa priamo zúčastňujú na programovanej bunkovej smrti, keďže porušením Ca²⁺ homeostázy sa aktivuje vnútorná apoptická mitochondriálna dráha [3]. Adrenergické receptory (AR) prítomné na povrchu buniek a patriace medzi G proteíny schopné viazať katecholamíny, sú hlavným sprostredkovateľom odpovede buniek a orgánov v sympatikovom nervovom systéme [4]. Sú známe viaceré podtypy AR, a to α1A, α1B, α1D, α2A, α2B, α2C, β1, β2 a β3 kódované rozličnými génmi [5]. Kým dráha α1 je vedená cez aktiváciu fosfolipázy C a následné zvýšenie hladín diacylglycerolu a IP₃ viažuceho IP₃R, dráha vedená cez β-AR stimuluje adenylátcyklázu, čím sa vzápätí zvyšujú hladiny cAMP, ktorý aktivuje proteínkinázu A. α aj β signálne dráhy majú účasť na apoptóze [6].

Prácu sme zamerali na sledovanie signálnych dráh vedúcich k zmenám hladín génovej expresie dvoch typov IP₃ receptorov – IP₃R1 a IP₃R2 a hladín kaspázy 3 ako proapoptického mediátora, a to pri stimulácii α- a β- adrenergických receptorov (α-, β-AR) a po uvedení buniek do stavu programovanej bunkovej smrti pomocou kitu AIK I v bunkovej línii HEK 293. Na stimuláciu AR sme použili fenylefrín (selektívny agonista α1-AR), doxazosín mesylát (antagonista α1-AR), izoproterenol hydrochlorid (agonista β1- a β2-AR) a propranolol (neselektívny β a β1 antagonist AR). Výsledky sme získali metódami izolácie RNA s reverzným prepisom do cDNA a následnou PCR reakciou (RT-PCR) a hladiny proteínu metódou Western blot.

Zistili sme, indukovaná apoptóza zvyšovala mRNA aj proteínové hladiny oboch typov receptora. Fenylefrín zvyšoval génovú expresiu IP₃R1 a IP₃R2, ale na kaspázu 3 sme nepozorovali žiaden efekt. Doxazosín a izoproterenol zase nezvyšovali mRNA hladiny pre IP₃R1 v porovnaní so zvýšenými hladinami pre IP₃R2 a kaspázu 3. Žiaden účinok na génovú expresiu IP₃R2 sme nepozorovali po použití propranololu. Získané výsledky dokazujú, že expresia IP₃R1, IP₃R2 a kaspázy 3 je modulovaná pôsobením AIK I a tiež vplyvom α- a β- AR modulácie.

[1] Berridge M. J., *Nature*, **1993**, 361, 315–325.

[2] Foskett J. K., White C., et al. *Physiol Rev.*, **2007**, 87, 593-658.

[3] Boehning D., Patterson R. L., et al. *Nature Cell Biology*, **2003**, 5, 1051-1061.

[4] Taylor M. R. G., *The Pharmacogenomics Journal*, **2007**, 7, 29–37.

[5] Bylund D. B., Eikenberg D. C., et al. *Pharmacol rev.*, **1994**, 46, 121-136.

[6] Krizanová O., Mysliveček J., et al. *Stress.*, **2007**, 10, 173–184.