

G Protein Aracılı Sinyal İletimi

Dr. B. Faruk ERDEN*, Dr. Tijen AKSOY*

Son yıllarda sinir hücreleri arasında bilgi iletimi ve işlenmesi alanında önemli aşamalar kaydedilmektedir. Özellikle nöropeptidler, reseptör subtipleri ve G proteinleri hakkında yeni bilgilerde patlama gözlenmektedir. Bunlardan G proteinleri hücre içi iletişimde çok önemli araçlar olarak fonksiyon görürler. Bir reseptörün uyarılması, intrasellüler sinyal oluşturan biyokimyasal işlemler zincirini başlatır. G proteinleri birçok enzim ve iyon kanalıyla hücre yüzey reseptörleri arasında bağlantıyı sağlar. Bu derlemede santral sinir sistemindeki membran sinyal geçişinde G proteinlerinin rolüne dikkat çekilmiştir.

Anahtar Kelimeler: G proteinleri, sinyal iletimi, adenilat siklaz, ikinci ulak sistemleri

G protein-mediated signal transduction

In the last few decades, a lot of progress has been made in interneuronal signal transmission and integration. There is an explosion of new information on neuropeptides, receptor subtypes, and G proteins. G proteins function as most important communication intermediaries in the cell. Stimulation of a G protein coupling receptor initiates a cascade of biochemical processes that produce both intra and intercellular signals. G proteins couple between cell surface receptors to a variety of enzymes and ion channels. In this review the role of G proteins of transmembrane signalling in central nervous system is emphasized.

Key Words: G proteins, signal transduction, adenyl cyclase, second messenger systems

101. Birleşik Devletler Kongresi 1 Ocak 1990'dan başlayan on yılı "Beyin Dekadı" (Decade of Brain) olarak isimlendirme kararı almıştı(1). Bu kararın da etkisiyle geçen 5 yıllık sürede özellikle santral sinir sisteminde nöronlar arası iletişimin çözülmesi ve yeni ilaçların geliştirilebilmesi için başdöndüren hızda çalışmalar yapılmıştır. Araştırmalar genellikle sinaptik iletim ve postsinaptik bölgedeki olaylar üzerinde yoğunlaşmaktadır.

NÖROTRANSMİTERLER

Sinaps nöronlar arası içi sıvı dolu bir bağlantı bölgesidir. Bir canlı için bu 200-250 Angstrom genişliğindeki izole bölgedeki iletişimin sağlıklı olması çok önemlidir(2). Bilgi, genellikle bir kimyasal aracıyla (transmitter) nakledilir. Bu bölgede saptanan bir maddenin gerçek bir transmitter olup olmadığını tayin etmek için bazı kriterler saptanmıştır(3):

* İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi, Farmakoloji Anabilim Dalı - MALATYA

Tablo I. Kimyasal Yapılarına Göre Memeli Beyninde Nörotransmitter Rolü Olduğu Kabul Edilen Maddeler

I. Biyojenik Aminler	IV. Peptid Yapılılar	e. Barsak Hormonları
<i>a. Katekolaminler</i>	<i>a. Endojen Opioid Peptidler</i>	VİP(Vazoaktif intestinal peptid)
Adrenalin	Enkefalinler	CCK (Kolesistokinin)
Noradrenalin	Dinorfinler	Gastrin
Dopamin	β-Endorfin	Nörotensin
<i>b. İndolaminler</i>	<i>b. Hipotalamik Hormonlar</i>	Bombesin
Histamin	TRH (Tirotropin salıverici hormon)	İnsülin
Serotonin	LHRH(Luteinleyici hormon salıverici h.)	Glukagon
<i>c. Ester Yapılılar</i>	CRH(Kortikotropin salıverici hormon)	Sekretin
Asetilkolin	α-Melanosit stimüle edici hormon	<i>f. Diğerleri</i>
II. Aminoasitler	Somatostatin	P maddesi
<i>a. Eksitator Aminoasitler</i>	<i>c. Ön Hipofiz Hormonları</i>	K maddesi
Glutamat	ACTH	CGRP(Kalsitonin geniyle ilişkili peptid)
Aspartat	Büyüme hormonu	Nöropeptid Y
<i>b. İnhibitör Aminoasitler</i>	Prolaktin	Anjiotensin II
GABA	<i>d. Arka Hipofiz Hormonları</i>	Karnozin
Glisin	Oksitosin	Bradikinin
III. Nükleotid ve Nükleozidler	Vazopresin	Galanin
Adenozin		
ATP		

1. Bu madde presinaptik uçtaki nöronda varolmalıdır.

2. Presinaptik nöronun uyarımıyla salıverilmelidir.

3. Deneysel olarak hedef hücreye uygulandığında, presinaptik uyarım sonucu olanla benzer sonuç oluşturmaktadır. Son zamanlarda santral sinir sisteminde bu kriterlere uyan, özellikle peptid yapılı birçok madde transmitter olarak saptanmıştır (Tablo I) (2-4,6).

Reseptörler

Onlarca çeşit transmitter madde saldıktan sonra, postsinaptik nöronun membranında bulunan protein yapılı kendi özel reseptörlerine bağlanır. Bu reseptörler spesifik radyoligandlar (³H; ¹²⁵I gibi) kullanılarak incelenebilir. Bunlar farmakolojik veya gen klonlama yöntemiyle birçok subtiplere ayrılmıştır (Tablo II)(5). Reseptörler yapı ve aktivitelere göre iki ana grupta incelenir(7):

1. *Hızlı çalışan reseptörler:* Bunlar direkt olarak bir iyon kanalına bağlıdır. Birkaç milisaniyede, bir transmitter aktivasyonuna cevap oluşturur. Yapısal olarak 4 tane transmembranal segmentten oluşur. Bu tip reseptörlere nikotinik kolinerjik reseptörler (Na⁺ kanalı) ve GABA_A reseptörü (Cl⁻ kanalı) örnek verilebilir.

2. *Yavaş çalışan reseptörler:* Bunlar bir G proteinine bağlı olarak çalışır. Daha yavaş cevaplara aracılık eder. Yapısal olarak 7 tane transmembranal segmentten oluşur. Bu tip G proteinine bağlı reseptörler sonuçta yine bir iyon kanalını etkiler veya bir efektör aracılığıyla ikinci ulak sistemlerini (second messengers) uyarır. Bu tip reseptörlere de tüm adrenerjik reseptörler, muskarinik kolinerjik reseptörler, dopaminerjik ve serotonerjik reseptörler örnek verilebilir.

Genelde aminoasit yapılı ve asetilkolinle oluşan iletide hızlı reseptörler; biyojenik aminler ve peptid yapılı transmitterlerle oluşan iletide yavaş reseptörler kullanılmaktadır(8).

Tablo II. Klasik Reseptörler ve Etki Mekanizmaları

Reseptör Tipi	Alt Tipi	Transmitter	İyon Kanalı	İkinci Ulak
Adrenerjik	α_1, α_2	A, NA	X	X
	β_1, β_2	A, NA	-	X
Dopaminerjik	D ₁ , D ₂	Dopamin	-	X
Histaminerjik	H ₁ , H ₂ , H ₃	Histamin	-	X
Serotonerjik	5-HT ₁ , 5-HT ₂	5-HT	-	X
Kolinerjik	nikotinik	Asetilkolin	X	-
	muskarinik M ₁ , M ₂	Asetilkolin	X	X
Asidik aminoasitler	NMDA, kainat, kiskalat	Glutamat veya Aspartat	X	?
GABA	A	GABA	X	-
	B	GABA	?	X
Glisin	-	Glisin	X	-
Adenozin	A ₁ , A ₂	Adenozin	-	X

Kısaltmalar: GABA, γ -aminobütirik asit; NMDA, N-metil-D-aspartat; 5-HT, 5-hidroksitriptamin

G Proteinleri

Tarihçe: G proteinleri, guanin nükleotidlerini (guanozin trifosfat, GTP ve guanozin difosfat, GDP) bağlayan proteinler anlamında kullanılır. Transmembranal sinyal iletiminde bir G proteinine gerek olduğu ilk kez 1971'de ileri sürülmüştür(9). Sonra sırasıyla; a) hindi eritrosit membranında katekolaminle uyarılan GTPaz aktivitesi tayin edildi, b) bu proteinlerin kolera ve pertusis toksinlerine ilgisi tespit edildi, c) β -adrenerjik reseptör ve adenilat siklaz gibi moleküler yapılar saf olarak elde edildi. Günümüzde biyokimyasal ve moleküler klonlama tekniklerindeki ilerlemeler sebebiyle GTPaz aktivitesi gösteren G protein ailesinin alt birimleri ve tipleri net bir şekilde ortaya konmaya başlandı.

G protein tipleri: G proteinleri hücre membranının sitoplazmik yüzünde bulunur(10). Heterotrimerik yapıdır; α , β ve γ olmak üzere 3 alt birimi mevcuttur. α Alt birimi bu yapının aktif üyesidir; $\beta\gamma$ altbirimleri olmaksızın da GDP veya GTP'yi bağlayabilir, GTPaz aktivitesi gösterir, adenilat siklaz enzimini inhibe veya aktive edebilir. β ve γ altbirimler tek bir fonksiyonel yapıdır ve ayrılmazlar, efektör moleküllere etkinin modülasyonunda rol oynarlar ve α altbirime yardımcı fonksiyonları vardır. β ve γ altbirimlerin ikişer farklı tipi mevcuttur. α Altbirim ise Vibrio

cholera ve Bordetella pertusis'den elde edilen bakteriyel toksinleri bağlayabilme özelliğine göre dört ana gruba ayrılır:

1. Sadece kolera toksini için substrat
2. Sadece pertusis toksini için substrat
3. Her ikisi için de substrat
4. Her ikisi için de substrat olmayan

Önceleri adenilat siklaz üzerindeki etkinlik gözönüne alınıp kolera toksini için substrat olana α_s (proteinine de G_s), pertusis toksinine substrat olana α_i (proteinine de G_i) ismi verilmiştir. Günümüzde α altbirimin bir çok farklı tipi saptanmakta ve G protein ailesi gittikçe genişlemektedir (Tablo III) (10-13).

G protein siklusu: G proteinleri bir spesifik reseptörden, spesifik bir efektör moleküle bilgi aktarırken bir moleküler anahtar gibi çalışır. Yapısal olarak GTP bağlı (aktif) veya GDP bağlı (inaktif) olabilirler (11,12). Sinyal aktarımı esnasında sırasıyla:

1. Spesifik bir ligand (endojen bir madde veya ilaç) reseptöre bağlanır. Reseptör yapısı değişir ve bunu algılayan GDP bağlı α , β ve γ altbirimler reseptöre bağlanır.

Tablo III. Bazı G Protein Tipleriyle, Reseptör ve Efektör İlişkileri

G protein Tipi	Örnek Reseptör	Efektör	İkinci Ulak
G _s (stimulation)	β _{1,2} adrenerjik	Adenilat siklaz	sAMP ↑
G _i (inhibition)	M _{2,α2} adrenerjik	Adenilat siklaz	sAMP ↓
G _q	M _{1,α1} adrenerjik	Fosfolipaz C	DAG, İP ₃ ↑
G _{olf} (olfactory)	Koku alıcılar	Adenilat siklaz	sAMP ↑
G _t (transducin)	Fotonlar	sGMP fosfodiesteraz	sGMP ↓
G _k (potassium)	Atrial muskarinik	K ⁺ kanalı	Hiperpolarizasyon
G _o (other)	?	Fosfolipaz C	DAG, İP ₃ ↑

Kısaltmalar: sAMP, adenzin 3 :5 -siklik monofosfat; sGMP, guanozin 3 :5 -siklik monofosfat; DAG, 1,2-diasilgliserol; İP₃, inozitol 1,4,5-trifosfat.

2. Bu bağlanma sonrası α altbirime bağlı GDP, GTP'ye çevrilir. Bu değişimin etkisiyle α altbirim βγ altbirimlerden ve reseptörden ayrılır.

3. GTP bağlı serbest bir α altbirim ve βγ altbirimler biyolojik olarak aktiftir. Efektör bir proteini aktive eder veya bir iyon kanalını direkt etkiler.

4. Ligand reseptörden ayrılınca α altbirim GTPaz aktivitesi gösterir. GTP'yi GDP'ye hidrolize eder. GDP bağlı α altbirim tekrar βγ altbirimlerle birleşir ve siklus sonlanır. G proteinlerinin etkinlik süresi GTP'nin hidrolizine bağlıdır.

G protein siklusunun özellikleri(13): 1) Amplifikasyon: Bir tek reseptör aktivasyonu 500 kadar G proteinini aktive edebilir. Bir tek G proteini bir efektör üzerinden çok sayıda ikinci ulak oluşumuna sebep olabilir. 2) Koordinasyon: Tek bir tip G proteini birden çok iyon kanalını etkileyebilir ve böylece farklı iyonların hücreye giriş-çıkışları aynı anda düzenlenebilir;(14) ayrıca bir reseptör aracılığıyla aktive edilen G proteini diğer reseptörlerin nörotransmitterlere afinite ve fonksiyonlarını modüle ederek reseptörler arası etkileşime olanak sağlayabilir(15). 3) Stimulusun yönlendirilmesi: G proteinlerinin etkilediği efektörlerin de doku ve hücreye spesifik olarak farklı moleküler alttiplerinin olması değişik dokularda ayrı yanıtlar elde edilmesine neden olur(16). 4) Etkide süreklilik: G proteinlerinin GTP'yi hidroliz etmeleri normal enzimlere nazaran uzun sürer. 5) Kendi kendine inaktive olabilir.

G protein fonksiyonu: G protein aktivasyonu sonucu iki olay gelişebilir; a) spesifik bir iyon kanalı etkilenir ve hücrenin eksitabilitesi artar veya azalır, b) bir spesifik efektör molekül etkilenir ve intraselüler ikinci ulakların seviyesi artar veya azalır (Tablo III).

Efektör moleküller ve ikinci ulaklar

G proteinleriyle reseptörlere bağlı 3 tip efektör enzim ve dolayısıyla ikinci ulak sistemi mevcuttur(17):

1. Adenilat siklaz enzimi: G_s adenilat siklaz enzimini aktive edince 3,5'-siklik monofosfat (sAMP) miktarı artarken, G_i bu molekülü etkilerse sAMP azalır. Oluşan sAMP daha sonra sAMP'ye bağımlı protein kinaz A enzimini uyarır. Deneysel olarak adenilat siklaz enzimi forskolinle uyarılabilir. Ayrıca bir sAMP analogu olan 8-bromo-sAMP (8-Br-cAMP) uygulanarak intraselüler sAMP miktarı artırılabilir.

2. Fosfolipaz C enzimi: Genellikle pertusis toksinine sensitif G proteinleri bu enzimi uyarır. Membranda fosfoinositidler yıkılır ve iki farklı ikinci ulak oluşur; inozitol trifosfat (İP₃) ve diasil gliserol (DAG). İP₃ intraselüler kalsiyum depolarından Ca⁺⁺ salınımına sebep olur. Bu Ca⁺⁺ belkide üçüncü ulak rolü oynar. DAG protein kinaz C enzimini uyarır. Deneysel olarak dışardan forbol esterleri ve sentetik DAG analogları verilerek protein kinaz C aktive edilebilir.

3. Fosfolipaz A₂ enzimi: Hücre membranında bulunan fosfolipidleri yıkarak araşidonik asit oluşturur. Araşidonik asitten eikozanoidler, lipooksijenaz ve siklooksijenaz ürünleri (lökotrienler, prostoglandinler ve tromboksanlar) oluşur. Eikozanoidler de ikinci ulak olarak rol oynamaktadır. Özellikle prostoglandinler sinir dokusunda önemli modülatör rol oynarlar.

Protein kinazlar ve proteinlerin fosforilasyonu

Ekstraselüler sinyallerle spesifik hedef nöronda biyolojik cevap oluşmasında muhtemelen en önemli mekanizma reversibl protein fosforilasyonudur(18). Memeli beyni zengin protein fosforilasyon sistemlerine sahiptir. Bunlardan protein kinazlar (fosfotransferazlar) proteinlerdeki serin, treonin ve tirozin aminoasitlerine ATP'den fosfat transferini katalizler. Ancak fosfoprotein fosfatazlar ise tersini oluşturur. Öyleyse protein kinazların aktivasyonu veya protein fosfatazların inhibisyonu protein fosforilasyonunu artırabilir. Beyindeki protein kinazların bir kısmı ikinci ulak sistemleriyle düzenlenirler. Bunlardan bilinenleri; a) sAMP'ye bağımlı protein kinaz, b) sGMP'ye bağımlı protein kinaz ve c) Protein kinaz C'dir. Proteinlerin bu gibi enzimlerle fosforilasyonunun nörotransmitter sentez ve salınımında, reseptör ve iyon kanallarının düzenlenmesinde çok önemli rol oynadığı bilinmektedir.

SONUÇ

Hastalık ve sağlık durumlarında, G proteinlerinin katkıları gün geçtikçe ilgi çekmektedir. Çünkü G proteinleri sellüler fizyolojinin çok önemli bir noktasında anahtar rolü oynamaktadır. Sinyal iletiminde, bu noktaya etkili yeni ajanlar birçok hastalığın patofizyolojisi ve etkileri açıklanamayan bazı ilaç grupları için yeni ufuklar açacaktır. Bu gelişmelere bazı örnekler:

1. Halotanın GTPaz aktivitesini inhibe ettiği gösterilmiştir. Genel anestetiklerin nonspesifik, yaygın ve reversibl olan etkileri G proteinleri ile ilişkili olabilir(13).

2. Antidepresan ilaçlar, lityum, opiatlar, kokain ve alkolün etkileri G proteinleri üzerinden olabilir(8).

3. Kolera, boğmaca, hipofizer adenomlar, psödohipoparatiroidizm ve nörofibromatozis tip I gibi bazı hastalıklarda G proteinlerinin rolü ileri sürülebilmektedir(8).

4. G proteinleri hücre büyümesi ve üremesi ile ilgili efektörleri etkilerler. Büyüme hormonu (GH) salgılayan pitüiter adenomların % 40'ında G_s'nin α altbiriminde mutasyon saptanmıştır. Benzer şekilde tiroid adenomlarının % 10'unda ve McCune-Albright sendromunda da bu tip mutasyonlara rastlanmıştır(19).

5. Bazı nörolojik ve mental hastalıkların (şizofreni gibi) gelişiminde G protein fonksiyon bozuklukları rol oynayabilir(15).

KAYNAKLAR

1. IBRO (International Brain Research Organization) News. IBRO welcomes the decade of the brain 1989; 17 (3): 1
2. Ertekin C. Sinaps fizyolojisi. Nörolojide Fizyopatoloji ve Tedavi'de , Bilgehan Matbaası, İzmir, 1987. s 43,57,59
3. Bloom FE: Neurohumoral transmission and the central nervous system. Gilman AG, Rall TW, Nies AS, Taylor P (ed.): The Pharmacological Basis of Therapeutics'de 8. baskı, Pergamon, New York, 1990. s. 249-250, 258-59
4. Minneman KP: Pharmacological organization of the CNS. Wingard LB, Brody TM, Larner J, Schwartz A (ed.): Human Pharmacology: molecular to clinic'de, Mosby-Year Book, Inc., USA, 1991. s.299-331
5. Wingard LB: Sites of action: Receptors. Wingard LB, Brody TM, Larner J, Schwartz A (ed.): Human Pharmacology: molecular to clinic'de, Mosby-Year Book, Inc., USA, 1991. s.10-24
6. Kayaalp SO: Santral sinir sistemi farmakolojisinin temelleri: Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji'de, 6. baskı, 2. cilt, Feryal Matbaası, Ankara, 1992. s. 1639-1702
7. Cooper JR, Bloom FE, Roth RH: Receptors. The Biochemical Basis of Neuropharmacology'de, 6.

- baskı, Oxford University Press, New York, 1991. s. 104-5
8. McGonigle P, Molinoff PB: Receptors and signal transduction: Classification and quantitation. Siegel GJ, Agranoff BW, Albers RW, Molinoff PB (ed.) Basic Neurochemistry'de, 5. baskı, Raven Press, New York, 1994. s. 210-29
 9. Gilman AG. G proteins: Transducers of receptor-generated signals. Ann. Rev. Biochem. 1987; 56: 615-49
 10. Neer EJ, Clapham DE. Roles of G protein subunits in transmembrane signalling. Nature 1988; 333: 129-34
 11. Bourne HR, Sanders DA, McCormick F. The GTPase superfamily: a conserved switch for diverse cell functions. Nature 1990;348: 125-32
 12. Bourne HR, Sanders DA, McCormick F. The GTPase superfamily: conserved structure and molecular mechanism. Nature 1991; 349: 117-27
 13. Yost CS: G proteins: Basic characteristics and clinical potential for the practice of anesthesia. Anesth Analg 1993; 77: 822-34
 14. Brown AM. Membrane-delimited cell signaling complexes: direct ion channel regulation by G proteins. J Membr Biol 1993; 131 (2): 93-104
 15. Agnati LF, Fuxe K, Benfenati F, von Euler G, Fredholm B. Intramembrane receptor-receptor interactions: integration of signal transduction pathways in the nervous system. Neurochem Int 1993; 22 (3): 213-22
 16. Iyengar R. Molecular and functional diversity of mammalian Gs-stimulated adenylyl cyclases. FASEB J 1993; 7(9): 768-75
 17. Nicoll RA, Malemke RC, Kauer JA. Functional comparison of neurotransmitter receptor subtypes in mammalian central nervous system. Physiological Reviews 1990; 70(2): 513-565
 18. Walaas SI, Greengard P. Protein phosphorylation and neuronal function. Pharmacological Reviews 1991; 43(3): 299-349
 19. Spada A, Vallar L. G-protein oncogenes in acromegaly. Horm Res 1992; 38 (1-2): 90-93

Yazışma Adresi:

Uz. Dr. B. Faruk Erden
İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Farmakoloji Anabilim Dalı
44069 - MALATYA

Tel: (422) 3410010-25 / 2611

Fax: (422) 3410036