AGATA FARON-GÓRECKA, AGATA KORLATOWICZ, PAULINA PABIAN, MONIKA NIEMCZYK, JOANNA SOLICH, MARTA DZIEDZICKA-WASYLEWSKA

*Instytut Farmakologii im. Jerzego Maja PAN,
Zakład Farmakologii
Pracownia Farmakologii Biochemicznej
Śmętna 12, 31-343 Kraków
E-mail: gorecka@if-pan.krakow.pl*

CZY DIMERY RECEPTORÓW SPRZĘŻONYCH Z BIAŁKAMI G (GPCRs) MOGĄ STANOWIĆ NOWY CEL TERAPEUTYCZNY?

Receptory związane z białkiem G (ang. G protein-coupled receptors, GPCRs) stanowią najliczniejszą i najbardziej zróżnicowaną grupę białek receptorowych. Uczestnicząc w procesie przekazywania sygnałów zewnątrzkomórkowych do wnętrza komórki regulują wiele procesów fizjologicznych.

Ostatnio wykazano, że 475 leków zatwierdzonych przez Amerykańską Agencję ds. Żywności i Leków (U.S. FDA) działa na 108 unikatowych receptorów GPCR, co daje pulę 34% wszystkich leków zatwierdzonych do obrotu przez tę agencję (HAUSER i współaut. 2017).

Do receptorów GPCRs należy około 800 różnych typów receptorów, a geny je kodujące stanowią 4% całego ludzkiego genomu. Mogą być one aktywowane przez bardzo zróżnicowany wachlarz bodźców, m.in. fotony, cząsteczki zapachowe i smakowe, jony, aminy, lipidy, nukleotydy, przekaźniki neuronalne czy hormony. W oparciu o badania filogenetyczne receptory związane z białkami G występujące u kręgowców podzielono na 5 rodzin: rodopsynopodobne, glutaminianer-

giczne, adhezyjne, frizzled/smakowe 2 i sekretynopodobne (PANDY-SZEKERES i współaut. 2018) (Ryc. 1).

Dwie pierwsze wywierają dobrze scharakteryzowane działania w neurotransmisji i regulacji układu nerwowego. Odpowiedzialne są za tworzenie synaps, transmisję synaptyczną czy rozwój aksonów. Należy też wspomnieć o receptorach dla cytokin (CCRs), które także zaliczane są do GPCRs. Pełnią one wiele funkcji w regulacji m.in. układu immunologicznego, a jeden z tych receptorów, CCR5 (receptor C-C chemokin typu 5), jest znany jako „współotwierający” (razem z błonową glikoproteiną CD4 obecną na limfocytach T) wrota zakażenia dla wirusa HIV (ludzki wirus niedoboru odporności) (CHEN 2019).

Najliczniejszą, bo obejmującą 90% GPCRs i równocześnie najlepiej scharakteryzowaną grupą jest rodzina receptorów rodopsynopodobnych, która stanowi molekularny cel dla działania neuroprzekaźników takich jak: serotonina, dopamina, acetylocholina, histamina, adrenalina i noradrenalina oraz neu-

Ryc. 1. Rola GPCR w działaniu leków (wg HAUSER i współaut. 2017, zmieniona).

Słowa kluczowe: dimeryzacja, receptory związane z białkami G (GPCRs)

ropeptydy takie jak: somatostatyna, melanokortyny, peptydy opioidowe czy neuropeptyd Y.

Znaczenie tej grupy receptorów podkreślono poprzez dwukrotne przyznanie Nagrody Nobla. W 1994 r. Nagrodę Nobla w dziedzinie fizjologii i medycyny otrzymali Alfred G. Gilman i Martin Rodbell (<https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/1994/press-release/>) za odkrycie białek G oraz roli, jaką pełnią w przekazywaniu sygnału w komórkach. Kolejna Nagroda Nobla została przyznana w dziedzinie chemii w 2012 r. Robertowi J. Lefkowitzowi i Brianowi Kobilce za badania samych GPCRs. Receptory te stanowią niezwykle system modułowy, który umożliwia transmisję szerokiej gamy sygnałów przez błonę komórkową, między komórkami i na duże odległości w organizmie. Obecnie rozumiemy skomplikowane szczególnie molekularnego mechanizmu działania tych receptorów, w dużej mierze dzięki badaniom tych dwóch uczonych.

Kiedy tworzyła się teoria transdukcji sygnału przez białka G, to w latach 60. swoją pracę nad receptorami rozpoczął prof. Lefkowitz. W tym czasie nie było jeszcze całkowitej pewności, że istnieją cząsteczki zdolne do odbierania i przetwarzania sygnału, mające jakąś ściśle określoną strukturę i zdolność wiązania ligandów. Co prawda podstawowe pojęcia receptora jako „substancji receptywnej” zostały po raz pierwszy sformułowane w 1905 r. przez fizjologa z Cambridge Johna N. Langleya, jednak receptory pozostawały hipotetycznymi molekułami do końca lat 60. (LANGLEY 1905).

Prof. Lefkowitz jako pierwszy wyizolował receptory adrenergiczne, sklonował receptor beta adrenergiczny, a następnie pozostałe receptory tej grupy. Jego prace nad wiązaniem ligandów do receptora beta adrenergicznego przy użyciu analizy kompetycyjnej dały podstawę do stworzenia modelu potrójnego kompleksu, tzw. „ternary complex”, który długo służył jako podstawowy i najważniejszy model matematyczny opisujący wiązanie liganda do receptora i, co najważniejsze, do objaśnienia, o czym nas informuje obserwacja dwóch miejsc wiązania receptora do agonisty (LIMBIRD i współaut. 1975). Szerszych informacji na temat wiązania leku do receptora dostarczyły badania krystalograficzne. Na szczególną uwagę zasługuje fakt, iż pierwsza struktura krystalograficzna białka należącego do grupy GPCRs została opisana dla rodopsyny przez prof. Krzysztofa Palczewskiego (PALCZEWSKI i współaut. 2000). Praca ta przyczyniła się do rozwinięcia badań nad pozostałymi GPCRs, a struktura rodopsyny stała się na wiele lat ważną matrycą w badaniach z zakresu modelowa-

nia molekularnego w kierunku poszukiwania nowych ligandów GPCRs. Z kolei wyniki uzyskane przez prof. Kobilkę pokazały, że GPCRs są elastycznymi, dynamicznymi białkami, podlegającymi zmianom konformacyjnym po związaniu liganda, a ich funkcjonowanie nie może być wyjaśnione poprzez prosty model włączający i wyłączający receptor. Jak to ujął prof. Lefkowitz w swoim wykładzie noblowskim: „jeśli ligand uchwyci wiązkę na jednym końcu, to na drugim końcu ta wiązka otwiera się jak bukiet róż...” („... if a ligand grips the bundle at one end, the bundle opens up like a bouquet of roses at the other end...”).

Wiedza na temat działania GPCRs została znacznie poszerzona dzięki odkryciu, że receptory te mogą tworzyć fizyczne połączenia między sobą (homodimery, jeśli mamy do czynienia z receptorami tego samego typu), a także pomiędzy receptorami należącymi do dwóch różnych typów (heterodimery). Ponadto wykazano, że mogą one również tworzyć mozaiki składające się z trzech lub więcej monomerów. Stosunkowo niewiele wiadomo o funkcjonowaniu tych złożonych układów, wykazano jednak, że oligomeryzacja GPCRs wywiera znaczący wpływ na fizjologię i funkcję receptora, w konsekwencji prowadząc do zróżnicowania ich sygnalizacji, wpływając tym samym na ich farmakologię.

GPCRs mają dość złożoną budowę w porównaniu z innymi receptorami błonowymi, które na ogół mają jedną (czasem dwie) domenę przezbłonową, podczas gdy GPCRs przecinają błonę 7 razy – stąd czasem używa się nazwy „receptory 7TM”. Oprócz domen przezbłonowych w budowie receptora 7TM wyróżnia się także N-koniec zlokalizowany zewnątrzkomórkowo i C-koniec wewnątrz komórki. Długość N- i C-końca jest zróżnicowana i stanowi cechę charakterystyczną dla danej rodziny receptorów, podobnie jak pętle łączące domeny przezbłonowe, tj. pętle zewnątrzkomórkowe (EL-x) i wewnątrzkomórkowe (IL-x) (Ryc. 2).

Warto zadać pytanie, dlaczego ta struktura jest tak złożona? Na pewno pętle, szczególnie wewnątrzkomórkowe, stanowią dobrą platformę dla interakcji z innymi białkami. Cała złożona struktura białka pozwala na liczne zmiany konformacyjne w obrębie całej cząsteczki albo poszczególnych jej domen, co też może przyczyniać się do wzrostu możliwości interakcji z innymi partnerami białkowymi. Ponadto, hydrofobowe domeny białka receptorowego, mocno osadzone w błonie komórkowej, można rozpatrywać jako ważne „zakotwiczenie” dla fragmentów końcowych receptora, tj. domen N- i C-końcowej, które z kolei mogą „poszukiwać” nowych partnerów i odpowiadać za oddziaływania z nimi.

Ryc. 2. Schemat receptora GPCR. EL – pętla zewnątrzkomórkowa, IL – pętla wewnątrzkomórkowa.

Długo uważano, że GPCRs funkcjonują jako monomery, jednak nowsze badania wykazały możliwość interakcji pomiędzy poszczególnymi receptorami, która ma funkcjonalne konsekwencje. W zasadzie już w latach 70. XX w. uzyskiwano dane farmakologiczne, wskazujące na możliwość fizycznej interakcji GPCRs (LIMBIRD i współaut. 1975). Później koncepcję taką lansował Agnati (AGNATI i współaut. 1982), a w latach 90. wykazano, że receptory muskarynowe M_2 i dopaminowe D_2 mogą tworzyć homodimery (POTTER i współaut. 1991, NG i współaut. 1996). Najważniejszym odkryciem dokonanym na przełomie wieków, prowadzącym do rozwoju koncepcji heterodimeryzacji GPCRs było wykazanie, że GPCR typu C, konkretnie receptory GABA B, działają jako obligatoryjne heterodimery, tzn. jeden z monomerów odpowiada za lokalizację w błonie i wiązanie ligandu, a drugi za aktywację przekazywania sygnału i każdy z nich potrzebuje partnera, gdyż sam nie jest funkcjonalny (JONES i współaut. 1998). Następnie rozpoczęły się badania nad heterodimeryzacją GPCRs klasy A, i jedne z pierwszych rezultatów dotyczyły receptorów opioidowych delta i kappa (JORDAN i DEVI 1999). Obie te prace zostały opublikowane w prestiżowym czasopiśmie naukowym *Nature*, co świadczy o ich doniosłości. Badania behawioralne wskazywały na potencjalną interakcję receptorów adenozyliny i dopaminy (GINES i współaut. 2000). Początek XXI w. przyniósł znaczące wyniki świadczące o fizycznej interakcji receptorów adenozylinowych A_1 i receptorów dopaminowych D_1 (BORROTO-ESCUELA i współaut. 2014).

Późniejsze badania przyniosły wiele interesujących wyników, aczkolwiek wymagały dalszego potwierdzenia. Wynikało to często z zastosowanej metodologii: np. technika ko-immunoprecypitacji oparta na przeciwciałach dawała niekiedy wyniki fałszywie pozytywne; podnoszono też kwestię nadmiernego zageszczenia receptorów rekombinowanych, czyli eksprymowanych w komórkach modelowych w ilościach większych niż natywne. Dlatego w 2007 r. opracowano kryteria, które muszą być spełnione, żeby można było realnie mówić o występowaniu zjawiska dimeryzacji GPCRs. Ustalono, że przynajmniej dwa warunki z wymienionych poniżej muszą zostać spełnione, aby uznać oddziaływanie danej pary receptorów za istotne:

- oba receptory muszą znajdować się w tej samej komórce lub w jej przedziale;
- zjawisko fizycznego oddziaływania danej pary receptorów musi być wykazane w tkance natywnej – bez względu na to, jaka technika zostanie zastosowana;
- ważna jest identyfikacja unikatowych właściwości farmakologicznych danego heteromeru;
- odpowiedź farmakologiczna (biochemiczna) danego heteromeru musi zniknąć, gdy jeden z protomerów jest nieobecny (Ryc. 3).

Dostępne struktury krystaliczne dziesiątków GPCRs (w tym rodopsyny i receptora beta 2-adrenergicznego) oraz białek im towarzyszących są obecnie powtórnie analizowane i poddawane badaniom ich dynamiki molekularnej. W niektórych przypadkach dimeryzacja odgrywa główną rolę w dojrzewaniu receptora oraz w jego poprawnym

Ryc. 3. Przykładowy schemat odmiennej regulacji sygnalizacji wewnątrzkomórkowej w przypadku receptorów dopaminowych występujących jako monomery oraz receptorów tworzących dimer (na przykładzie interakcji receptorów dopaminowych D_1 i D_2).

transporcie z siateczki śródplazmatycznej do błony komórkowej. Wykazano także, że heterodimeryzacja GPCR prowadzi do kooperatywnego wiązania liganda (kooperacja ta może być zarówno pozytywna jak i negatywna). Proces ten ma również znaczenie w potencjalizacji lub łagodzeniu przekazywania sygnału, a także w zmianach aktywacji poszczególnych typów białek G, a więc i enzymów efektorowych aktywowanych przez te białka. Dobrym przykładem są heterodimery receptorów dopaminowych D_1 i D_2 , dla których wykazano specyficzność wobec białka G_i (białko adaptorowe aktywujące fosfolipazę C_i), podczas gdy receptor D_1 najczęściej asocjuje z białkiem G_s (białko adaptorowe aktywujące cAMP), a receptor D_2 – z białkiem G_i (białko adaptorowe o działaniu hamującym cAMP). Ma to takie znaczenie, że w warunkach utworzenia się i aktywacji heterodimeru D_1 - D_2 zmienia się wtórny przekaźnik wewnątrzkomórkowy, którego produkcja jest modulowana przez dopaminę – z cyklicznego AMP na jony Ca^{2+} , co może mieć znaczący wpływ na funkcjonowanie komórek, w których dochodzi do takiej sytuacji (LEE i współaut. 2004). Heterodimeryzacja może także promować ko-internalizację obu receptorów stanowiących dimer po stymulacji promotora tylko jednego z nich (Ryc. 4).

Koncepcja, że GPCRs mogą tworzyć funkcjonalne heterodimery została poparta nie tylko ogromną liczbą dowodów dotyczących różnych kombinacji GPCRs zdolnych do wzajemnej fizycznej interakcji, ale także

dzięki dostępnym obecnie strukturalnym licznym GPCRs. Co ciekawe, z badań krystalograficznych wiadomo, iż wymiar powierzchni receptora po stronie cytoplazmatycznej ma średnicę 45-59Å. Nato-

Ryc. 4. Przykładowy schemat ukazujący interakcje pomiędzy GPCRs na podstawie platformy <http://www.gpcr-hetnet.com/>, która ilustruje możliwe oddziaływania dla poszczególnych receptorów udokumentowane naukowo (BORROTO-ESCUELA i współaut. 2014).

miast powierzchnie białek, z którymi dany receptor może oddziaływać w celu dalszej transdukcji sygnału, czyli białek G, kinaz GPCRs czy arestyn, wynoszą 90-92 Å, czyli są to powierzchnie ok. 2 razy większe. Porównanie to pokazuje, że na białkach efektorowych dla receptora jest miejsce dla interakcji z heterodimerami GPCRs (GUREVICH i GUREVICH 2018).

Wiele badań z zastosowaniem technik modelowania molekularnego prowadzono w celu określenia, które domeny poszczególnych GPCRs są odpowiedzialne za fizyczną interakcję receptorów – wydaje się jednak, że nie ma motywu wspólnego dla wszystkich i każda para receptorów wchodzi we wzajemne interakcje poprzez różne fragmenty sekwencji aminokwasów (SALON i współaut. 2011). Często za wzajemny kontakt odpowiadają fragmenty pętli wewnątrzkomórkowych jednego receptora i C-końcowy fragment drugiego. Tak się dzieje np. w przypadku receptorów dopaminowych D1 i D2, dla których wykazano, że zasadowy fragment w trzeciej pętli wewnątrzkomórkowej receptora D2 (IL-3, 217RRRRKR222), wchodzi w interakcję z kwasowym fragmentem C-końca receptora D1 (404EE405) (ŁUKASIEWICZ i współaut. 2009). Nie wyklucza to oczywiście roli innych fragmentów tych receptorów we wzajemnych interakcjach, co zresztą zostało wykazane w pracy PEI i współaut. (2010). W publikacji tej wykazano ponadto, że wzrost liczby heterodimerów receptorów dopaminowych D1-D2 można zaobserwować w badaniach *post mortem* w mózgach osób cierpiących na depresję. Z kolei w testach na zwierzętach dowiedziono, że podanie peptydu rozprzegającego dimery D1-D2 ma działanie przeciwdepresyjne. Peptyd ten (i podobne) skierowany został do badań klinicznych w kierunku leczenia depresji (BROWN i LIU 2014).

Nie jest to pierwsza próba zwrócenia uwagi na fakt, że heterodimery GPCRs mogą mieć znaczenie w patofizjologii, ale też i w działaniu potencjalnych leków. Dimeryzacja receptorów adenozynowych A2A i dopaminowych D2 jest szeroko badana w kontekście poszukiwania leków przeciwparkinsonowskich i przeciwpsychotycznych (FUXE i współaut. 2003, SAHLHOLM i współaut. 2018). Wynika to z faktu, że wzajemna interakcja tych receptorów zmienia ich powinowactwo do ligandów – antagonistów receptora A2A zwiększają powinowactwo receptora D2 do agonistów, dlatego jest nadzieja, że wśród tych pierwszych związków mogą znajdować się leki o działaniu przeciwparkinsonowskim. Z kolei agonści receptora A2A zmniejszają powinowactwo receptora D2 do agonistów, w tym do dopaminy, dlatego mogą mieć dział-

anie przeciwpsychotyczne (FUXE i współaut. 1998).

Te zagadnienia są niezwykle istotne, szczególnie w terapii chorób układu nerwowego. Farmakologia dysponuje bowiem wieloma lekami mniej lub bardziej skutecznymi w terapii schorzeń neuropsychiatrycznych, jednak leki te wykazują wiele niekorzystnych działań ubocznych. Działania te wynikają z faktu, że dany lek, np. neuroleptyk, który blokuje receptor D2 (co ma mieć korzystne działanie przeciwpsychotyczne) działa na wszystkie receptory D2, także zlokalizowane m.in. w przysadce mózgowej i w tamtej lokalizacji przyczynia się do powstania hiperprolaktynemii. Natomiast heterodimery danej pary receptorów mogą powstawać tylko na niektórych neuronach, tj. tam, gdzie występują oba protomery. Zastosowanie związku farmakologicznego jako leku, który działałby tylko na heterodimery, znacznie ograniczałoby zasięg jego działania, a zarazem zwiększałoby jego specyficzność, tym samym minimalizując niepożądane skutki uboczne.

W terapii schizofrenii stosuje się wiele leków przeciwpsychotycznych, ale uważa się, że najlepszą skuteczność ma klozapina. Mechanizm molekularny działania tego leku nie jest do końca jasny. Klozapina wykazuje bowiem powinowactwo do bardzo wielu receptorów, w tym do dopaminowych, ale też i serotoninowych czy nawet glutaminianergicznych NMDA. Jednak terapia klozapiną jest trudna. Lek ten ma wiele skutków ubocznych, w tym prowadzi do szczególnie niebezpiecznej agranulocytozy, dlatego też terapia musi się odbywać pod ścisłą kontrolą lekarza, w oparciu o wyniki badań krwi pacjenta. Trwają nieustanne badania nad identyfikacją właściwego mechanizmu, poprzez który klozapina wywiera efekt terapeutyczny w leczeniu schizofrenii i w tym kontekście uwzględnia się również koncepcję dimeryzacji receptorów. Wykazano bowiem w badaniach *in vitro*, że klozapina skutecznie rozprzega heterodimery receptorów dopaminowych D1-D2 (FARON-GÓRECKA i współaut. 2008), co może prowadzić do normalizacji neurotransmisji zaburzonej przez nadmiar tych heterodimerów w warunkach zwiększonej transmisji dopaminergicznej, co wiąże się z etiopatogenezą schizofrenii. W mechanizmie działania klozapiny postuluje się także rolę heterodimerów receptorów serotoninowych 5-HT_{2A} i dopaminowych D2 (ŁUKASIEWICZ i współaut. 2016, SZLACHTA i współaut. 2018).

Badania nad rolą heterodimerów różnych par GPCRs cały czas trwają i próbuje się ustalić ich rolę w schorzeniach neuropsychiatrycznych, szczególnie takich jak schizofrenia, choroba Parkinsona, uzależnienia

lekowe czy depresja. Ważniejsze przykłady takich par receptorów to m.in. dopaminowe D1-D3, adenylinowe A2A i metabotropowe dla glutaminianu mGluR5, kanabinoidowe CB1 i dopaminowe D2, alfa-adrenergiczne 2A i opioidowe MOR, dopaminowe D2 i histaminowe H3 (ALBIZU i współaut. 2010). Badania te nie są łatwe, gdyż nie ma dobrych narzędzi na wykazanie takich heterodimerów w tkance natywnej, w przeciwieństwie do badań *in vitro*, kiedy można zastosować wyrafinowane techniki biofizyczne i śledzić losy białek receptorowych zmodyfikowanych genetycznie. W badaniach tkanki natywnej trzeba zawierzyć nie zawsze wysokiej specyficzności przeciwciał, które są niezbędne do techniki tzw. ko-immunoprecypitacji, czy do techniki tzw. ligacji zbliżeniowej (ang. proximity ligation assay, PLA) (FARON-GÓRECKA i współaut. 2019). Jednak koncepcja heterodimeryzacji GPCRs jest na tyle ważna także dla grup poszukujących nowych strategii terapeutycznych, że badania tego zjawiska trwają mimo trudności.

Ciekawe jest też spojrzenie na zjawisko heterodimeryzacji GPCRs funkcjonujących w ośrodkowym układzie nerwowym w porównaniu z receptorami odbierającymi bodźce węchowe, które również należą do rodziny GPCRs. Receptory te (ang. olfactory receptors) wykazują powinowactwo do wielkiej liczby cząsteczek zapachowych, a z kolei dana cząsteczka zapachowa może być rozpoznawana przez wiele receptorów (co prawda z różnym powinowactwem, zależnym od rodzaju takiej cząsteczki, np. od jej wielkości). Nie ma więc specyficzności interakcji ligand-receptor, jaka jest właściwa dla klasycznych GPCRs. U ludzi zidentyfikowano ponad 400 funkcjonalnych genów kodujących receptory węchowe (i ponad 600, które na razie kwalifikowane są jako pseudogeny czy też "geny kandydujące"), dlatego ten różnicowany system receptorów może rozpoznawać ogromną liczbę substancji zapachowych. To, co czujemy jako zapach, nie jest więc wynikiem specyficznej interakcji pojedynczej cząsteczki zapachowej z przypisanym do niej receptorem; jest to raczej wypadkowa wielu bodźców odbieranych przez wiele receptorów.

W układzie nerwowym nie ma tylu różnych GPCRs, podobnie jak liczba neurotransmiterów jest relatywnie ograniczona, dlatego zdolność GPCRs do tworzenia heterodimerów może być postrzegana jako system rozszerzający możliwości przekazywania sygnału. Ponieważ heterodimer danej pary receptorów może się utworzyć tylko na niektórych populacjach neuronów, tzn. takich, w których dochodzi do ekspresji danych protomerów, można powiedzieć, że jest to jeszcze jeden poziom subtelnej regulacji neurotransmisji,

w jaki natura wyposażała ośrodkowy układ nerwowy. Z kolei, poznając zjawiska heterodimeryzacji w szczegółach można mieć nadzieję na odkrywanie coraz lepszych leków, bardziej subtelnie tonujących neurotransmisję, gdy jest ona rozregulowana w sytuacjach patologicznych.

Streszczenie

Receptory sprzężone z białkami G (ang. G protein-coupled receptors, GPCRs) są intensywnie badane ze względu na ich różnorodność oraz ich ważną rolę w fizjologii człowieka, w patomechanizmie chorób, a tym samym w farmakoterapii. Najnowsze dane wskazują, że około 34% leków działa właśnie poprzez GPCRs. Tradycyjne spojrzenie na GPCRs wskazywało, że działają one jako pojedyncze białka. Wykazano także, że receptory te mogą tworzyć homo- i hetero-dimery oraz mozaiki receptorów składające się z trzech lub więcej monomerów. Stosunkowo niewiele wiadomo o funkcjonowaniu tych złożonych układów, wykazano jednak, że oligomeryzacja GPCRs wywiera znaczący wpływ na fizjologię i funkcję receptora, w konsekwencji prowadząc do dywersyfikacji ich sygnalizacji. Wydaje się więc, że zjawisko dimeryzacji może stanowić nowe cele terapeutyczne.

LITERATURA

- AGNATI L. F., FUXE K., ZOLI M., RONDANINI C., OGREN S. O., 1982 *New vistas on synaptic plasticity: the receptor mosaic hypothesis of the engram*. Med. Biol. 60, 183-190.
- ALBIZU L., MORENO J. L., GONZALEZ-MAESO J., SEALFON S. C., 2010. *Heteromerization of G protein-coupled receptors: relevance to neurological disorders and neurotherapeutics*. CNS Neurol. Disord. Drug Targets 9, 636-650.
- BORROTO-ESCUELA D. O., BRITO I., ROMERO-FERNANDEZ W., DI PALMA M., OFLIJAN J., SKIET-ERSKA K., DUCHOU J., VAN CRAENENBROECK K., SUAREZ-BOOMGAARD D., RIVERA A., GUIDOLIN D., AGNATI L. F., FUXE K., 2014. *The G protein-coupled receptor heterodimer network (GPCR-HetNet) and its hub components*. Int. J. Mol. Sci. 15, 8570-8590.
- BROWN V., LIU F., 2014. *Intranasal delivery of a peptide with antidepressant-like effect*. Neuropharmacology 39, 2131-2141.
- CHEN B., 2019. *Molecular mechanism of HIV-1 entry*. Trends Microbiol. 27, 878-891.
- FARON-GÓRECKA A., GÓRECKI A., KUŚMIDER M., WASYLEWSKI Z., DZIEDZICKA-WASYLEWSKA M., 2008. *The role of D1-D2 receptor hetero-dimerization in the mechanism of action of clozapine*. Eur. Neuropsychopharmacol. 18, 682-691.
- FARON-GÓRECKA A., SZLACHTA M., KOLASA M., SOLICH J., GÓRECKI A., KUŚMIDER M., ŻURAWEK D., DZIEDZICKA-WASYLEWSKA M., 2019. *Understanding GPCR dimerization*. Methods Cell Biol. 149, 155-178.
- FUXE K., FERRE S., ZOLI M., AGNATI L. F., 1998. *Integrated events in central dopamine transmission as analyzed at multiple levels. Evidence for intramembrane adenosine A2A/dopamine D2 and adenosine A1/dopamine D1 receptor interactions in the basal ganglia*. Brain Res. Brain Res. Rev. 26, 258-273.
- FUXE K., AGNATI L. F., JACOBSEN K., HILLION J., CANALS M., TORVINEN M., TINNER-STAINES B., STAINES W., ROSIN D., TERASMAA A., POPOLI P., LEO G., VERGONI V., LLUIS C., CIRUELA F., FRANCO R., FERRE S., 2003. *Receptor heterom-*

- erization in adenosine A2A receptor signaling: relevance for striatal function and Parkinson's disease. *Neurology* 61, 19-23.
- GINES S., HILLION J., TORVINEN M., LE CROM S., CASADO V., CANELA E. I., RONDIN S., LEW J.Y., WATSON S., ZOLI M., AGNATI L.F., VERNIERA P., LLUIS C., FERRE S., FUXE K., FRANCO R., 2000. Dopamine D1 and adenosine A1 receptors form functionally interacting heteromeric complexes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97, 8606-8611.
- GUREVICH V. V., GUREVICH E. V., 2018. GPCRs and Signal Transducers: Interaction Stoichiometry. *Trends Pharmacol. Sci.* 39, 672-684.
- HAUSER A. S., ATTWOOD M. M., RASK-ANDERSEN M., SCHIOTH H. B., GLORIAM D. E., 2017. Trends in GPCR drug discovery: new agents, targets, and indications. *Nat. Rev. Drug Discov.* 16, 829-842.
- JONES K. A., BOROWSKY B., TAMM J. A., CRAIG D. A., DURKIN M. M., DAI M., YAO W. J., JOHNSON M., GUNWALDSEN C., HUANG L. Y., TANG C., SHEN Q., SALON J. A., MORSE K., LAZ T., SMITH K. E., NAGARATHNAM D., NOBLE S. A., BRANCHEK T. A., GERALD C., 1998. GABA(B) receptors function as a heteromeric assembly of the subunits GABA(B)R1 and GABA(B)R2. *Nature* 396, 674-679.
- JORDAN B. A., DEVI L. A., 1999. G-protein-coupled receptor heterodimerization modulates receptor function. *Nature* 399, 697-700.
- LANGLEY J. N., 1905. On the reaction of cells and of nerve-endings to certain poisons, chiefly as regards the reaction of striated muscle to nicotine and to curare. *J. Physiol.* 33, 374-413.
- LEE S. P., SO C. H., RASHID A. J., VARGHESE G., CHENG R., LANCA A. J., O'DOWD B. F., GEORGE S. R., 2004. Dopamine D1 and D2 receptor Co-activation generates a novel phospholipase C-mediated calcium signal. *J. Biol. Chem.* 279, 35671-35978.
- LIMBIRD L. E., MEYTS P. D., LEFKOWITZ R. J., 1975. Beta-adrenergic receptors: evidence for negative cooperativity. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 64, 1160-1168.
- ŁUKASIEWICZ S., FARON-GÓRECKA A., DOBRUCKI J., POLIT A., DZIEDZICKA-WASYLEWSKA M., 2009. Studies on the role of the receptor protein motifs possibly involved in electrostatic interactions on the dopamine D1 and D2 receptor oligomerization. *FEBS J.* 276, 760-775.
- ŁUKASIEWICZ S., BŁASIAK E., SZAFRAN-PILCH K., DZIEDZICKA-WASYLEWSKA M., 2016. Dopamine D2 and serotonin 5-HT1A receptor interaction in the context of the effects of antipsychotics – in vitro studies. *J. Neurochem.* 137, 549-560.
- NG G. Y., O'DOWD B. F., LEE S. P., CHUNG H. T., BRANN M. R., SEEMAN P., GEORGE S. R., 1996. Dopamine D2 receptor dimers and receptor-blocking peptides. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 227, 200-204.
- PALCZEWSKI K., KUMASAKA T., HORI T.E., BEHNKE C. A., MOTOSHIMA H., FOX B. A., LE TRONG I., TELLER D. C., OKADA T., STENKAMP R. E., YAMAMOTO M., MIYANO M., 2000. Crystal structure of rhodopsin: A G protein-coupled receptor. *Science* 289, 739-45.
- PANDY-SZEKERES G., MUNK C., TSONKOV T. M., MORDALSKI S., HARPSOE K., HAUSER A. S., BOJARSKI A. J., GLORIAM D. E., 2018. GPCRdb in 2018: adding GPCR structure models and ligands. *Nucleic Acids Res.* 46, D440-D446.
- PEI L., LI S., WANG M., DIWAN M., ANISMAN H., FLETCHER P. J., NOBREGA J. N., LIU F., 2010. Uncoupling the dopamine D1-D2 receptor complex exerts antidepressant-like effects. *Nat. Med.* 16, 1393-1395.
- POTTER L. T., BALLESTEROS L. A., BICHAJIAN L. H., FERRENDELLI C. A., FISHER A., HANCHETT H. E., ZHANG R., 1991. Evidence of paired M2 muscarinic receptors. *Mol. Pharmacol.* 39, 211-221.
- SAHLHOLM K., GOMEZ-SOLER M., VALLE-LEON M., LOPEZ-CANO M., TAURA J. J., CIRUELA F., FERNANDEZ-DUEÑAS V., 2018. antipsychotic-like efficacy of dopamine D₂ receptor-biased ligands is dependent on adenosine A_{2A} receptor expression. *Mol. Neurobiol.* 55, 4952-4958.
- SALON J. A., LODOWSKI D. T., PALCZEWSKI K., 2011. The significance of G protein-coupled receptor crystallography for drug discovery. *Pharmacol. Rev.* 63, 901-937.
- SZLACHTA M., KUŚMIDER M., PABIAN P., SOLICH J., KOLASA M., ŻURAWEK D., DZIEDZICKA-WASYLEWSKA M., FARON-GÓRECKA A., 2018. Repeated clozapine increases the level of serotonin 5-HT(1A) R heterodimerization with 5-HT(2A) or dopamine D (2) receptors in the mouse cortex. *Front. Mol. Neurosci.* 15, doi: 10.3389/fnmol.2018.00040.

KOSMOS Vol. 70, 4, 651–658, 2021

AGATA FARON-GÓRECKA, AGATA KORLATOWICZ, PAULINA PABIAN, MONIKA NIEMCZYK, JOANNA SOLICH,
MARTA DZIEDZICKA-WASYLEWSKA

*Maj Institute of Pharmacology PAS, Department of Pharmacology, Laboratory of Biochemical Pharmacology, 12 Smełna Str., 31-343
Kraków, E-mail: gorecka@if-pan.krakow.pl*

COULD G-PROTEIN COUPLED RECEPTOR (GPCR) DIMERS CONSTITUTE A NEW THERAPEUTIC TARGETS?

Summary

G protein-coupled receptors (GPCRs) are intensively studied due to their diversity and their important role in human physiology, in the pathomechanism of diseases and therefore in the pharmacotherapy of these diseases. The latest data shows that around 34% of drugs work through GPCRs. Traditional views of GPCRs indicated that they function as single proteins. This dogma, however, was extended by the discovery that these receptors can form homo- and hetero-dimers, and can also form receptor mosaics consisting of three or more protomers. Relatively little is known about the function of these complex systems, however, it has been shown that the oligomerization of GPCRs exerts a significant influence on the physiology and function of the receptor, consequently leading to the diversification of their signaling. Therefore, it seems that the phenomenon of dimerization may constitute new therapeutic targets.

Key words: dimerization, G-protein coupled receptor (GPCR)