

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická

Adhezivní molekuly buněk
Bakalářská práce

2021

Alena Horáková

University of Pardubice
Faculty of Chemical Technology

Cell adhesion molecules
Bachelor Thesis

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2020/2021

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE (projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Alena Horáková**
Osobní číslo: **C18224**
Studijní program: **B3912 Speciální chemicko-biologické obory**
Studijní obor: **Zdravotní laborant**
Téma práce: **Adhezivní molekuly buněk**
Zadávající katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

Zásady pro vypracování

- 1) Bakalářskou práci na téma adhezivní molekuly buněk zpracujte na základě literární rešerše. Úvodní část práce zaměřte na charakterizaci a rozdělení adhezivních molekul. Popište zároveň jejich hlavní funkce (buněčná komunikace, buněčná smrt).
- 2) V hlavní části bakalářské práce podrobně charakterizujte jednotlivé adhezivní molekuly včetně kadherinů, integrinů či selektinů. Dále definujte skupinu inhibitorů buněčné adheze a vyzdvihněte nejdůležitější z nich. V neposlední řadě se také zaměřte na role adhezivních molekul u vybraných onemocnění.
- 3) Jako zdroj informací pro zpracování kompilačního textu bakalářské práce využijte odborné články publikované v recenzovaných zahraničních časopisech. Jejich vyhledávání provádějte prostřednictvím elektronických vědeckých databází, jako jsou např. *NCBI Pubmed*, *ScienceDirect*, *Web of Science*, *Scopus*, apod.

Rozsah pracovní zprávy: **25 s.**
Rozsah grafických prací: **dle potřeby**
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam doporučené literatury:

Vedoucí bakalářské práce: **Mgr. Jiří Handl, Ph.D.**
Katedra biologických a biochemických věd
Konzultant bakalářské práce: **Mgr. Jan Čapek, Ph.D.**
Katedra biologických a biochemických věd
Datum zadání bakalářské práce: **18. prosince 2020**
Termín odevzdání bakalářské práce: **2. července 2021**

L.S.

prof. Ing. Petr Kalenda, CSc.
děkan

prof. Mgr. Roman Kandár, Ph.D.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 26. února 2021

Prohlašuji:

Práci s názvem Adhezivní molekuly buněk jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 7/2019 Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací, ve znění pozdějších dodatků, bude práce zveřejněna prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 7.7.2021

Alena Horáková v.r.

PODĚKOVÁNÍ

Touto cestou bych chtěla poděkovat Mgr. Jiřímu Handlovi, Ph.D. a Mgr. Janu Čapkovi, Ph.D. za odborné vedení, mnoho užitečných rad, trpělivost a věnovaný čas při psaní této bakalářské práce.

ANOTACE

Tato bakalářská práce je věnována tématu adhezních molekul, které mají v lidském těle řadu nezastupitelných funkcí. Zaměřuje se na rozdělení a popis jednotlivých skupin adhezivních molekul, charakterizuje jejich strukturu a hlavní funkce. Dále je v ní věnována pozornost inhibitorům buněčné adheze a významu adhezivních molekul u vybraných onemocnění.

KLÍČOVÁ SLOVA

adhezivní molekuly, integriny, selektiny, kadheriny, imunoglobuliny, inhibitory adheze

TITLE

Cell adhesion molecules

ANNOTATION

The main goal of this thesis is to introduce the topic of adhesive molecules which play a variety of crucial roles in the human body. It focuses on the division and description of structure and main functions of single groups of adhesive molecules and it characterizes their structure and main functions. Subsequently, the thesis deals with cell-adhesion inhibitors and the importance of adhesive molecules in selected diseases.

KEY WORDS

adhesion molecules, integrins, selectins, cadherins, immunoglobulins, inhibitors of adhesion

OBSAH

SEZNAM POUŽITÝCH OBRÁZKŮ	10
SEZNAM TABULEK	10
SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ	11
ÚVOD.....	12
1 Adhezivní molekuly.....	13
1.1 Integriny	13
1.1.1 Historie.....	13
1.1.2 Funkce.....	14
1.1.3 Struktura.....	14
1.2 Nadrodina imunoglobulinů	19
1.2.1 Historie.....	19
1.2.2 Funkce.....	19
1.2.3 Struktura.....	21
1.3 Kadheriny	22
1.3.1 Historie.....	23
1.3.2 Funkce.....	23
1.3.3 Struktura.....	24
1.4 Selektiny.....	24
1.4.1 Historie.....	25
1.4.2 Funkce.....	25
1.4.3 Struktura.....	26
2 Mezubuněčné spoje	28
2.1 Typy mezibuněčných spojů.....	28
2.1.1 Těsný spoj (tight junction, zonula occludens)	29
2.1.2 Adhezivní spoj (adheren junction).....	31
2.1.3 Desmozom (macula adherens).....	33
2.1.4 Mezerový spoj (gap junction).....	34
2.1.5 Hemidesmozom	35
3 Inhibitory buněčné adheze	36
3.1 Inhibitory buněčné adheze rostlinného původu	36
3.1.1 Terpenoidy-sesquiterpeny.....	36
3.1.2 Terpenoidy - diterpeny.....	36
3.1.3 Alkaloidy	37

3.2	Monoklonální protilátky.....	37
3.3	Heparin.....	37
3.4	Alkohol.....	38
4	Role adhezivních molekul u vybraných onemocnění.....	38
4.1	Ateroskleróza	38
4.2	Pankreatitida.....	39
4.3	Rakovina endometria	40
	ZÁVĚR	42
	SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ	43

SEZNAM POUŽITÝCH OBRÁZKŮ

<i>Obr. 1: Struktura integrinu $\alpha V\beta 3$</i>	15
<i>Obr. 2: Konformace integrinu</i>	16
<i>Obr. 3: Trans a cis interakce klasických kadherinů typu I</i>	24
<i>Obr. 4: Struktura L-, E- a P- selektinu</i>	27
<i>Obr. 5: Základní přehled mezibuněčných spojů</i>	29
<i>Obr. 6: Základní konstrukční transmembránové komponenty těsných spojů.</i>	30
<i>Obr. 7: Základních prvky adhezních spojů.</i>	32
<i>Obr. 7: Struktura desmozomu</i>	34
<i>Obr. 8: Struktura mezerového spoje</i>	35

SEZNAM TABULEK

<i>Tab. 1: Charakteristika lidského integrinu α.</i>	17
<i>Tab. 2: Základní rozdělení nadrodiny kadherinů</i>	22

SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ

AA	aminokyselina
AJ	adhezní spoj
ALCAM	aktivovaná molekula adheze leukocytových buněk
CAM	buněčná adhezivní molekula
CAR	receptor asociovaný s adenovirem
CSR	doména krátkého konsenzuálního opakování
DIFC	komplex desmozom-intermediální vlákno
DSM	desmozom
ECM	extracelulární matrix
EGF	epidermální růstový faktor
FASD	porucha alkoholového spektra
GJ	mezerový spoj
HD	hemidesmozom
HUVEC	molekula buněčné adheze na endoteliárních buňkách lidské pupečnické žíly
ICAM	intracelulární adhezní molekula
IF	intermediální filamenta
Ig	imunoglobulin
IgSF	nadrodina imunoglobulinů
JAM	junkční (spojovací) molekula
JAM	junkční adhezní molekuly
kDA	kiloDalton
L-CAM	molekula adheze jaterních buněk
LFA	lymfocytární funkční antigen
MIDAS	místo adheze závislé na kovových iontech
PSI	doména plexin-semaforin-integrin
TJ	těsný spoj
TNF- α	tumor nekrotizující faktor
VCAM	molekula vaskulární buněčné adheze
VLA	pozdní aktivační antigen
ZO-1, -2 a -3	proteiny těsného spoje

ÚVOD

Procesy adheze buněk jsou ústředním bodem fyziologie mnohobuněčných organismů. Řada molekul buněčného povrchu přispívá k adhezi mezi buňkami a dysfunkce adhezivních procesů je základem mnoha vývojových vad a dědičných onemocnění (Samanta, 2015).

Interakce mezi buňkami a substráty jsou zprostředkovány několika rodinami receptorů. Kromě buněčné adheze zprostředkované specifickými proteiny extracelulární matrix a ligandy na sousedních buňkách, ovlivňují adhezivní molekuly mnoho různých procesů, včetně buněčného růstu, diferenciací, tvorby spojení a polarit. Buněčné adhezivní molekuly jsou glykoproteiny exprimované na buněčném povrchu, hrají významnou roli při zánětlivých i neoplastických onemocněních. Rozdělujeme je do čtyř hlavních evolučně příbuzných rodin. Jedná se o rodinu integrinů, což jsou heterodimerní molekuly, které fungují jako receptory buněčného substrátu i adheze buněk k buňkám, váží proteinové složky extracelulární matrix (fibronectin, kolagen). Dále to jsou adhezivní molekuly nadrodiny imunoglobulinů podílející se na adhezi mezi buňkami s důležitou rolí během embryogeneze, hojení ran a zánětlivé reakce, a kadheriny, vývojově regulované, na vápníku závislé homofilní proteiny buněčné adheze. Poslední rozlišovanou skupinou je rodina selektinů. Selektiny zprostředkovávají adhezi mezi buňkami rozpoznáváním sacharidů přítomných na povrchu buněk (Albelda, 1990; Joseph-Silverstein, 1998; Samanta, 2015). Jednotlivé rodiny budou popsány v hlavní části.

V případě narušení interakce buněk s extracelulární matrix dochází k apoptóze, tj. programované buněčné smrti, v důsledku nedostatků podnětů od extracelulární matrix (Frish, 1994).

1 Adhezivní molekuly

1.1 Integriny

Integriny jsou hlavními receptorovými proteiny, které buňky používají k vazbě na extracelulární matrix (Alberts, 2002). Tyto buněčné adhezivní molekuly (*Cell Adhesion Molecules*, CAM) zprostředkovávají interakce buňka-buňka, buňka-extracelulární matrix, nebo také buňka-patogen (Luo, 2007). Jedná se o povrchové transmembránové glykoproteiny exprimované ve všech tkáních organismu lokalizované na plazmatické membráně (Howe, 1998; Berman, 2003). U lidí je známo nejméně osmnáct α a osm β podjednotek rodiny integrinů, které generují 24 $\alpha\beta$ heterodimerů (Takada, 2007; Barczyk, 2010). Tyto heterodimery mají odlišnou substrátovou specifitu a expresi ve tkáních.

Interakce integrinu a extracelulárního ligandu poskytuje buňce fyzickou kotvu a spouští množství intracelulárních signalizačních událostí, které určují osud buňky (De Franceschi, 2015). Integriny spojují proteiny extracelulární matrix (ECM) s cytoskeletem, hrají tak významnou roli při přenosu intracelulárních signálů regulujících různé procesy, jako je proliferace, diferenciaci, apoptóza a migrace buněk (Berman, 2003).

Integriny a jejich ligandy hrají klíčovou roli ve vývoji, imunitních reakcích, přenosu leukocytů, hemostáze, rakovině a jsou jádrem mnoha lidských onemocnění: genetických, autoimunitních a dalších. Jsou základem účinných terapeutických léků proti trombóze a zánětu, zároveň jsou receptory mnoha virů a bakterií (Xiong et al. 2001).

1.1.1 Historie

Integriny jsou evolučně staré, přesto jejich charakterizace na molekulární úrovni trvala přes 25 let (Barczyk, 2010). Po identifikaci integrinů jako nezávislé třídy buněčných receptorů byla jejich role v buněčné adhezi k extracelulární matrix považována za hlavní nebo dokonce jedinou funkci. Avšak již před objevením integrinů bylo známo, že matrix slouží nejen pro prostorovou organizaci tkáně, ale také může ovlivnit chování buněk za různých fyziologických a patologických stavů, jako je embryogeneze, diferenciaci, růst nádorů, apoptóza atd. Mnoho let byly tyto mechanismy nejasné. Objev integrinů a studie jejich ligandové specifity (s ohledem na proteiny ECM) a interakce s intracelulárními makromolekulami mnoho mechanismů objasnilo. Ukázalo se, že tyto receptory spojují EMC s intracelulárními strukturami a regulačními molekulami kontrolujícími chování buněk. Zapojení integrinů do řízení buněčného chování je jejich druhou, signalizační, funkcí (Berman, 2003).

1.1.2 Funkce

Integriny fungují jako transmembránové spínače, které dynamicky spojují kontraktilní aktin-mikrofilamentový systém s deformovatelnou sítí extracelulární matrix. Spojením funkcí těchto dvou komplexních makromolekulárních sestav integriny nasměrují membránový výčnělek na adhezivní extracelulární místa a umožní buňkám aplikovat kontraktilní sílu na své okolí. Kontakt buňka-matrix indukuje shromáždění signalizačních adaptérů a enzymů, což se projevuje jako specializované morfologické struktury, jako jsou fokální adheze. Spojení integrin-cytoskelet lze proto považovat za montážní předlohu, která ukládá prostorovou kontrolu nad signalizačními událostmi.

Dynamická povaha funkce integrinu, kterou buňky využívají adhezi k nepřetržitému vzorkování svého pericelulárního prostředí a odpovídajícím způsobem reagují, pokud jde o změnu jejich polohy a diferencovaného stavu, vyžaduje vysoce citlivou strukturu receptoru (Humphries, 2003)

1.1.3 Struktura

Integriny jsou velké membránové glykoproteiny skládající se ze dvou nekovalentně spojených podjednotek, řetězce α a β . Podjednotka α poskytuje informaci pro vazbu ligandu a podjednotka β poskytuje spojení s cytoskeletem. Různé kombinace řetězců tvoří heterodimerní páry integrinů, které jsou pojmenované podle složení jejich podjednotek (např. $\alpha4\beta1$). Tato rozmanitost ve složení podjednotky přispívá k rozmanitosti v rozpoznávání ligandu, vazbě na cytoskeletální složky a vazbě na následné signální dráhy (Luo, 2007; Humphries, 2003).

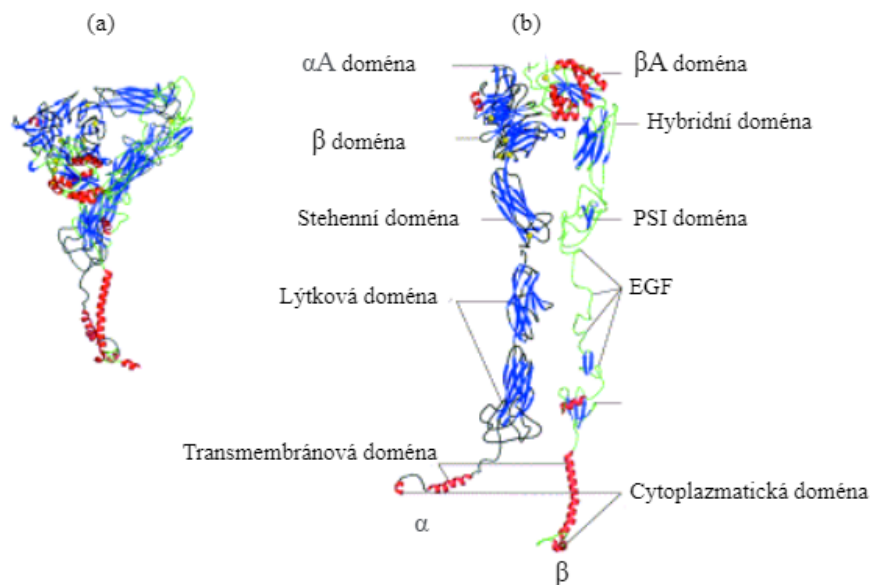
Každá podjednotka má jednu membránu překlenující šroubovici a obvykle krátký nestrukturovaný cytoplazmatický ocas. Velikost se mění, ale typicky α a β podjednotky obsahují přibližně 1000, resp. 750 aminokyselin (Campbell, 2011).

Podjednotka je integrální transmembránový polypeptid typu I. Tedy NH_2 konec polypeptidu má extracelulární lokalizaci (extracelulární N-terminální doména), zatímco COOH konec je směrem k cytoplazmě (intracelulární C-terminální doména). Transmembránový polypeptid typu I obsahuje tři domény: glykosylovanou extracelulární doménu, která zaujímá více než 90 % celé molekuly, hydrofobní transmembránovou doménu odpovědnou za ukotvení membrány a endoplazmatickou nebo cytoplazmatickou doménu lokalizovanou v cytoplazmě (Berman, 2003). Extracelulární část se váže na specifický motiv aminokyselin extracelulárních proteinů, nejznámější je RDG (arginin-glycin-kyselina asparagová). Modulární struktura extracelulárních domén obou typů podjednotky je identická, až na to, že devět podjednotek α

obsahuje inzert s 200 aminokyselinami, který je homologní s doménou A von Willebrandova faktoru.

Všechny integriny váží své ligandy způsobem závislým na dvojmocném kationu s manganem a hořčíkem, které obecně podporují vazbu, dále s vápníkem, jehož účinek je opačný (Humphries, 2003).

Na obr.1 je znázorněna podjednotka α obsahující β vrtuli nahoře, následovanou třemi tzv. β -sendvičovými moduly. β podjednotka obsahuje doménu A, následovanou β -sendvičovou hybridní doménou, opakování čtyř epidermálních růstových faktorů (EGF) a doménu β -ocasu. Autorem obrázku byla přidána stylizovaná doména PSI na N konec β podjednotky (pod doménou A) a transmembránové a cytoplazmatické domény byly vloženy do spodní části extracelulárních domén. β řetězce jsou zobrazeny modře, α šroubovice červeně a smyčky šedě (podjednotka α) nebo zeleně (podjednotka β) (Humphries, 2003).

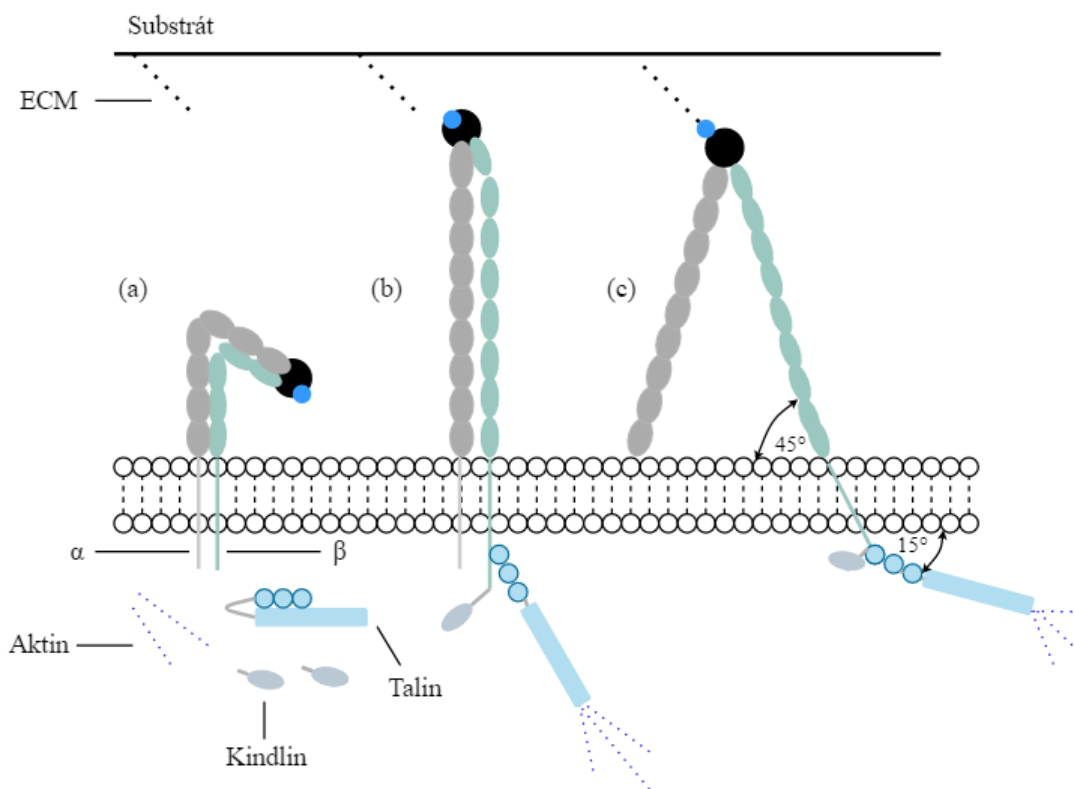


Obr. 1: Struktura integrinu $\alpha V\beta 3$

(a) Ohnutý obrázek integrinu $\alpha V\beta 3$.; (b) Narovnaný obraz $\alpha V\beta 3$ integrinu – α podjednotka je vlevo a β podjednotka vpravo.

Celkový tvar integrinu připomíná kulovitou „hlavu“ podporovanou dvěma tyčkovými „nohami“. Hlavní kontakt mezi podjednotkami α a β je v oblasti hlavy, ve které se v komplexu α podjednotky skládají sedmilisté β -vrtule s doménou von Willebrandova faktoru A v β podjednotce (nazývá se doména βA , aby se odlišila od αA domény). Složení domény A je hydrofobní β list, který je vložen do dvou sad amfipatických α helixů (Humphries, 2003).

Integriny jsou umístěny kolmo k buněčné membráně a existují ve více konformacích: ohnuté – uzavřené (neaktivní), prodloužené – uzavřené (aktivní, nízká afinita) a prodloužené – otevřené (aktivní, vysoká afinita) (obr. 2) (Michael, 2020).



Obr. 2: Konformace integrinu
 (a) Ohnutá, neaktivní konformace; (b) Prodloužená, uzavřená; (c) Prodloužená, otevřená (upraveno dle: Michael, 2020).

Mohou být seskupeny do podskupin na základě vazebných vlastností ligandu nebo na základě jejich podjednotkového složení (viz tab.1) (Barczyk, 2010).

Tabulka 1: Charakteristika lidského integrinu α (upraveno dle Barczyk, 2010).
Zkratky: AA – aminokyselina, ICAM, VCAM – molekuly u imunoglobulinové superrodiny.

Integrin (synonymum)	Charakteristika α řetězce	Typický ligand	Další ligandy
$\alpha 1\beta 1$ (CD49a, VLA1)	1151 AA	kolagen	semaforin 7A
$\alpha 2\beta 1$ (CD49b, VLA2)	1181 AA	kolagen	E-kaderin, endorepelin
$\alpha 3\beta 1$ (CD49c, VLA3)	1051 AA, varianty $\alpha 3$ A nebo $\alpha 3$ B	laminin	
$\alpha 4\beta 1$ (CD49d, VLA4)	1038 AA	fibronektin	
$\alpha 5\beta 1$ (CD49e, VLA5)	1049 AA	fibronektin	endostatin
$\alpha 6\beta 1$ (CD49f, VLA6)	1073 AA, varianty $\alpha 6$ A nebo $\alpha 6$ B	laminin	
$\alpha 7\beta 1$	1137 AA, varianty X1, X2, $\alpha 7$ A, $\alpha 7$ B	laminin	
$\alpha 8\beta 1$	1025 AA	fibronektin, vitronektin, nefronektin	
$\alpha 9\beta 1$	1035 AA	tenascin C	
$\alpha 10\beta 1$	1167 AA	kolagen	
$\alpha 11\beta 1$	1188 AA	kolagen	
$\alpha L\beta 2$ (CD11a)	1170 AA	ICAM - 1,-2,-3, -5	
$\alpha M\beta 2$ (CD11b)	1153 AA	iC3b, fibrinogen	
$\alpha X\beta 2$ (CD11c)	1163 AA	iC3b, fibrinogen	
$\alpha D\beta 2$ (CD11d)	1162 AA	ICAM -3, VCAM -1	
$\alpha IIB\beta 3$ (CD41, GpIIb)	1139 AA	fibrinogen, fibronektin	
$\alpha 6\beta 4$		laminin	
$\alpha V\beta 1$ (CD51)	1048 AA	fibronektin, vitronektin	
$\alpha V\beta 3$		vitronektin, fibronektin, fibrinogen	tumstatin
$\alpha V\beta 5$		vitronektin	
$\alpha V\beta 6$		fibronektin	
$\alpha V\beta 8$		vitronektin	
$\alpha E\beta 7$ (CD103, HML-1)	1178 AA	E-kaderin	

1.1.3.1 Podjednotka α

Velikosti podjednotek α se pohybují v rozmezí 120-180 kD. Na NH₂ konci mají všechny α podjednotky sedm opakovaných homologních domén (I–VII), z nichž každá sestává z ~ 50 aminokyselinových zbytků (Berman, 2003).

Podjednotka α se skládá z β -vrtule se sedmi lopatkami, která je připojena k stehnu, lýtkové-1 a lýtkové-2 doméně a společně tvoří strukturu nohou, která podporuje integrinovou hlavu. Poslední tři nebo čtyři čepele β -vrtule obsahují EF-ruční domény, které vážou Ca²⁺ na spodní straně čepelí odvrácené od povrchu vázajícího ligand. Vazba Ca²⁺ na tato místa alostericky ovlivňuje vazbu ligandu.

Devět z integrinových α řetězců obsahuje doménu I, nazývanou také doména A, což je doména přibližně 200 aminokyselin, vložená mezi čepele 2 a 3 v β -vrtuli. Kopie domény I se objevuje v β -řetězci, má pět β -listů obklopených sedmi α šroubovicemi; je to podobné jako u domén von Willebrand A (Barczyk, 2010; Campbell, 2011).

K vazbě ligandu dochází prostřednictvím koordinujícího iontu Mg²⁺ v motivu takzvaného adhezního místa závislého na kovových iontech (MIDAS). Domény α I se schopností interagovat s kolageny navíc obsahují takzvanou α C spirálu, u které se předpokládá, že hraje roli ve vazbě na kolagen (Barczyk, 2010).

1.1.3.2 Podjednotka β

Její velikost je 90-110 kD (Humphries, 2003). β -noha má sedm domén s flexibilními a složitými propojeními. β I doména, která je homologní s doménou α I, je vložena do hybridní domény, která je zase vložena do domény plexin-semaforin-integrin (PSI). Za těmito doménami následují čtyři moduly epidermálního růstového faktoru (EGF) bohaté na cystein a doména β -ocasů. Hybridní doména v horním β -rameni má β -sendvičovou konstrukci (Campbell, 2011).

β I doména obsahuje Mg²⁺ koordinující MIDAS a místo sousedící s MIDAS (ADMIDAS) vážající inhibiční iont Ca²⁺. Toto místo ADMIDAS váže iont Mn²⁺, což vede ke konformační změně vedoucí k aktivní formě integrinu (Barczyk, 2010).

1.2 Nadrodina imunoglobulinů

Proteiny nadrodiny (superrodiny) imunoglobulinů (*Immunoglobulin superfamily*; IgSF) jsou zakotvené na povrchu buněk a tvoří velkou část molekul buněčné adheze, které se uplatňují, kromě adheze buněk k buňkám, v imunologických reakcích a karcinogenezi. Konkrétně má tato nadrodina více než 765 členů, mezi které patří hlavní molekuly histokompatibilního komplexu třídy I a II, proteiny komplexu receptorů T buněk, virové receptory a glykoproteiny na povrchu buněk. Dále sem patří také mezibuněčné adhezni molekuly (*Intercellular adhesion molecules*, ICAM), vaskulární buněčné adhezni molekuly (*Vascular cell adhesion molecules*, VCAM), aktivovaná molekula adheze leukocytových buněk (*Activated Leukocyte Cell Adhesion Molecule*, ALCAM), které jsou důležité při akcích přenosu leukocytů. Neméně významnou podskupinou IgSF je rodina nektinů, jejíž členové zprostředkovávají adhezi mezi buňkami v různých tkáních, včetně endotelu, epitelu a nervové tkáni.

Proteiny IgSF jsou zejména transmembránové glykoproteiny, které rozpoznávají protějškové molekuly třemi mechanismy, a to interakce členů IgSF mezi sebou, interakce členů IgSF se členy rodiny integrinů a interakce členů IgSF s jinými molekulami. Proteiny IgSF obecně fungují na principu interakce protein – protein prostřednictvím extracelulárních proteinů vázaných na membránách sousedních buněk, nazývaných trans-vazebná rozhraní. Tyto interakce protein-protein jsou mimo jiné jedním z farmaceutických cílů důležitých při léčbě autoimunitních onemocnění, chronických infekcí a rakoviny (Gil, 2020; Wong, 2012; Xu, 2010; Harjunpaa, 2019).

1.2.1 Historie

Proteiny IgSF byly jednou z prvních superrodin, které byly identifikovány. Přibližně v roce 1973 se ukázalo, že Ig doména má charakteristický záhyb vytvořený dvěma β listy obsahující paralelní řetězce, na konci 80. let bylo zjištěno, že IgSF domény jsou velmi rozšířené (Barclay, 2003).

1.2.2 Funkce

Adhezivní molekuly nadrodiny imunoglobulinů hrají klíčové role ve vývoji nervového systému, regulaci migrace neuronů, růstu a větvení axonů a dendritů a v navazování kontaktů mezi neurony. Ve zralém nervovém systému se uplatňují při udržování a plasticitě synaptických kontaktů, specializovaných kontaktech mezi neurony a zprostředkovávají neurotransmitanci

(Leshchyns'ka, 2016). Členové IgSF jsou hlavní molekuly histokompatibilního komplexu třídy I a II, proteiny komplexu receptorů T buněk, virové receptory a povrchové glykoproteiny.

Řada členů IgSF byla identifikována jako biomarkery pro progresi rakoviny (Wong, 2012).

1.2.2.1 Nektiny

Členové skupiny nektinů jsou charakterizovány ektodoménou složenou ze tří *Ig-like* domén následovaných jedinou transmembránovou oblastí a cytoplazmatickou doménou. Nektiny rozpoznávají adaptorové molekuly β -kateninu a afadinu. Tyto adaptorové molekuly jsou zodpovědné za následnou tvorbu vláknitých aktinových sestav, které usnadňují adhezi mezi buňkami. Nektiny interagují homofilním i heterofilním způsobem mezi sousedními buňkami, tyto interakce jsou nezávislé na vápníku. Zprostředkovávají adhezi mezi buňkami v řadě tkání, včetně epitelu, endotelu a nervové tkáně během různých stádií vývoje, účastní se adhezního spojení buněk.

Rodina nektinů se skládá ze čtyř členů, nektin-1 až nektin-4, které interagují mezi sebou nebo i se členy jiných proteinových rodin (necl – proteiny podobné nektinům, imunitní receptory), což vede k širokému spektru biologických funkcí, včetně imunitní modulace.

Nektiny hrají roli v interakcích mezi hostitelem a patogenem, protože jsou využívány viry herpesu a spalniček jako vstupní receptory (Samanta, 2015).

1.2.2.2 Intercelulární adhezní molekuly

Intercelulární adhezní molekula (*Intercellular adhesion molecule*, ICAM) je transmembránový protein, člen nadrodiny imunoglobulinů a je důležitá pro pevnou vazbu a trans migraci leukocytů z krevních cév do tkání. Je přítomna v endotelových buňkách, leukocytech a dalších typech buněk, její exprese je zvýšena prozánětlivými cytokiny. Endoteliární exprese se zvyšuje při ateroskleróze, ICAM se podílí na progresi autoimunitních onemocnění.

Extracelulární oblast ICAM je tvořena ze 453 převážně hydrofobních AA, které tvoří pět *Ig-like* domén. Extracelulární oblast je připojena k jedné hydrofobní transmembránové oblasti a krátkému cytoplazmatickému ocasu.

Rozpuštěná forma ICAM byla naměřena v různých tělesných tekutinách, přičemž zvýšené hladiny byly pozorovány u pacientů s aterosklerózou, srdečním selháním, onemocněním věnčitých tepen a vaskulopatií po transplantaci (Lawson, 2009).

1.2.2.3 Vaskulární buněčné adhezí molekuly

Molekula vaskulární buněčné adheze (*Vascular cell adhesion molecule*, VCAM) je glykoprotein, který je exprimován převážně v endotelových buňkách a exprese je indukována prozánětlivými cytokiny, ale také například vysokou koncentrací glukózy, oxidovaným lipoproteinem a reaktivními formami kyslíku. Při vysokých úrovních zánětu a chronických stavů u některých onemocnění je VCAM exprimována také na povrchu jiných buněk, včetně tkáňových makrofágů, dendritických buněk, fibroblastů kostní dřene, myoblastů, oocytů, Kupfferových buněk, Sertoliho buněk a rakovinných buněk.

Strukturálně obsahuje lidská VCAM molekula extracelulární doménu se šesti nebo sedmi *Ig-like* doménami, transmembránovou doménu a cytoplazmatickou doménou.

Molekula VCAM je hlavním regulátorem adheze leukocytů a transendoteliální migrace prostřednictvím interakce s integrinem $\alpha 4\beta 1$, je zapojena do procesu zánětu i do různých imunologických poruch, včetně revmatoidní artritidy, astmatu, odmítnutí transplantátu a rakoviny (Kong, 2018).

1.2.3 Struktura

Nadrodina imunoglobulinů je velká skupina většinou transmembránových proteinů, které mají podobnou strukturu a organizaci a obsahují extracelulární doménu, která je tvořena jednou nebo více imunoglobulinu (Ig) podobných domén (*immunoglobulin-like domain*; *Ig-like* doména), což jsou domény obsahující stejnou sekvenci aminokyselin (*amin acid*, AA) jako Ig doména imunoglobulinů (protilátek). Doména Ig se skládá ze dvou pravotočivých antiparalelních β listů, které jsou složeny na sobě, stabilizovány sulfidovým můstkem a obklopují hydrofobní jádro, které se tvoří kolem aromatických AA tyrosinu a tryptofanu. Tyto domény zprostředkovávají interakce mezi proteiny a hrají významnou roli v adhezi mezi buňkami a signalizaci uvnitř buněk i na buněčném povrchu. Dále je zde přítomna transmembránová doména a cytoplazmatický ocas. (Wong, 2012; Vattepu, 2020).

Členové IgSF zprostředkovávají na vápníku nezávislou adhezi pomocí svých N-koncových *Ig-like* domén, které se běžně vážou na další *Ig-like* doménu stejné struktury na protilehlém povrchu buňky (homofilní adheze), ale mohou také interagovat s integriny a sacharidy (heterofilní adheze). C-koncové intracelulární domény často interagují s cytoskeletálními nebo adaptačními proteiny. Tyto extracelulární interakce členů IgSF CAM mohou vést k signalizaci v buňce, což umožňuje biologické procesy, ale také patologické události, jako například tumorigenezi (Wong, 2012).

Ve struktuře najdeme i vysvětlení, proč má rodina IgSF tak velké množství členů. Doména tvoří stabilní záhyb odolný proteolýze a může interagovat za vzniku homodimerů i heterodimerů (Barclay, 2003).

1.3 Kadheriny

Kadheriny jsou nadrodina (popř. rodina) proteinů transcelulární membrány, jejíž členové jsou závislé na vápníku, hrají důležitou roli při zprostředkování adheze buněk k buňkám pro specifické buňky a účastní se adhezních spojů. Lidský genom kóduje 115 členů nadrodiny kadherinů, které se liší velikostí a strukturou. Společným strukturálním rysem této nadrodiny je to, že obsahují 234 charakteristických extracelulárních kadherinových domén (Seong, 2015).

Nadrodina kadherinů je rozdělena do kategorií na základě podobnosti aminokyselin a molekulárních charakteristik domén transcelulární membrány, a to do kategorie klasických kadherinů, desmozomálních kadherinů, protokadherinů, a dalších molekul souvisejících s kadheriny. Zástupci těchto kategorií mají různý počet opakování kadherinových extracelulárních domén (tab. 2). Klasické adheriny lze dále rozdělit na typ I, kam patří E-kadherin (epiteliární), N-kadherin (neurální) a P-kadherin (placentální) a typ II, kam řadíme VE-kadherin (vaskulární-endoteliární), kadheriny-6, kadherin-7 a kadherin-8 (Yang, 2020, Seong, 2015).

Tabulka 2: Základní rozdělení nadrodiny kadherinů (upraveno dle: Seong, 2015).

Skupina kadherinů	Počet domén	Zástupci
Klasické	typ I	CDH1 (E-kad.), CDH2 (N-kad.), CDH3 (P-kad.), CDH4 (R-kad.), CDH15 (M-kad.)
	typ II	CDH5 (VE-kad.), CDH6 (K-kad.), CDH7, CDH8, CDH9, CDH10, CDH11, CDH12 (N-kad.-2),...
Desmozomální	Desmocolliny	DSC1, DSC2, DSC3
	Desmogleiny	DSG1, DSG2, DSG3, DSG4
Klastrované protokadheriny	Pcdh α	PCDHA1-A13, PCDHAC1, PCDHAC2
	Pcdh β	PCDHB1-B16
	Pcdh γ	PCDHGA1-A12, PCDHGB1-B7, PCDHGC3-C5
Neklastrované protokadheriny	Pcdh δ 1	PCDH1, PCDDH7, PCDH9, PCDH11X, PCDH11Y, PCDH12
	Pcdh δ 2	PCDH8, PCDH10, PCDH 12, PCDH17, PCDH18, PCDH19
Další	FAT a podobné	FAT1-4
	Flamingo	CESLR1-3

1.3.1 Historie

První objevený, nejvíce studovaný a zároveň považovaný za prototyp nadrodiny kadherinů je E-kadherin. Od jeho objevu, v roce 1995, bylo identifikováno více než sto různých strukturálně obdobných členů. Roku 1999 byla publikována existence dimerní struktury E-kadherinu, která objasnila cis a trans interakce mezi sousedními molekulami, poté následovaly analýzy dalších kadherinů typu I. Teprve v roce 2006 byla rozebrána struktura kadherinů typu II.

Jejich nomenklatura se v průběhu let vyvíjela, např. právě E-kadherin (epiteliární), oficiálně pojmenovaný *CDH1*, byl poprvé popsán jako L-CAM (molekula adheze jaterních buněk) (Hulpiau, 2009; Hulpiau, 2013).

1.3.2 Funkce

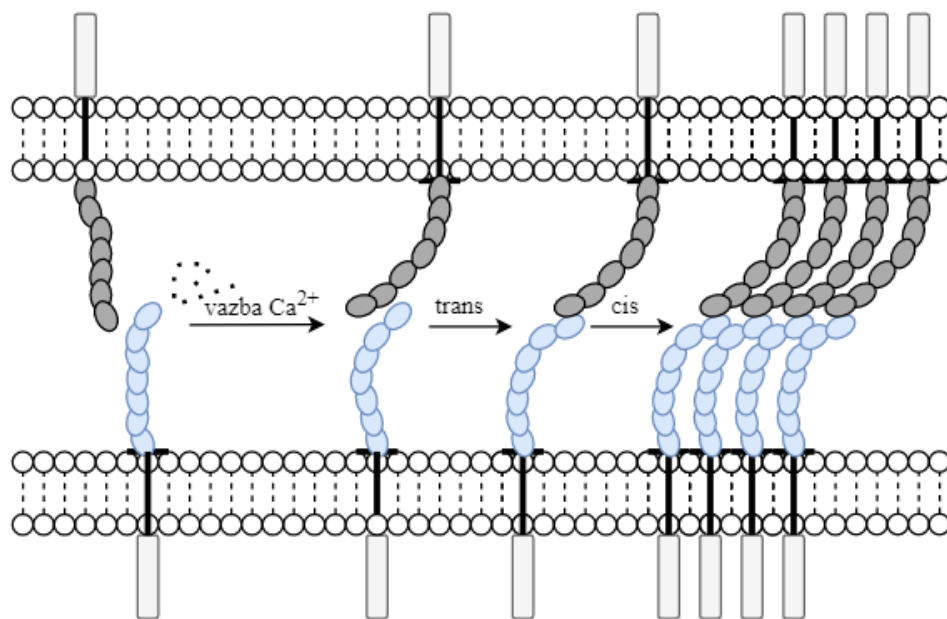
Kadheriny jsou transmembránové proteiny, které zprostředkovávají adhezi mezi buňkami. Regulací tvorby a stability mezibuněčných spojů mají klíčovou roli v morfogenezi tkání a udržování homeostázy. Mezi základní funkce kadherinů patří snížení mezipovrchového napětí při vytváření spojení mezi buňkami, čímž podporují kontaktní expanzi, a stabilizace mezibuněčného kontaktu.

Protože během morfogeneze mohou tkáně měnit velikost, tvar nebo vytvářet odlišné buněčné vrstvy, fungují kadheriny jako kontrola adheze buněk a buněčné signalizace. Buňky také využívají kadheriny ke zprostředkování signálů, které mohou řídit specifikaci osudu a polaritu buněk, buněčnou proliferaci.

Ke snížení povrchového napětí na rozhraní buňka-buňka dochází prostřednictvím adhezního napětí. Snížením povrchového napětí na kontaktu dvou buněk, dojde ke zvětšení tohoto kontaktu. Adhezní napětí vzniká vazbou kadherinu přes kontakt, čímž se vytvoří negativní napětí, které rozšíří kontaktní oblast. Dalším mechanismem, kterým dochází ke snížení povrchového napětí na rozhraní buněk je proces, při kterém kadheriny spouštějí signály, které modulují cytoskelet aktomyosinu na kontaktech. Mezifázové napětí je silně ovlivněno kontraktilitou aktomyosinu, díky čemuž signalizace zprostředkovaná aktomyosinem moduluje kontaktní napětí mezi buňkami a tím i jeho tvorbu. Po vytvoření kontaktu buňka-buňka obvykle následuje kontaktní zrání zahrnující ustavení a stabilizaci apiko-bazální polarity buněk a vytváření těsných spojů. Aktomyosinový cytoskelet navíc vyvíjí tažné síly na spojích buněk, ale díky vazbě kadherinu k jejich rozpojení většinou nedochází. Kadheriny se ukotví k aktomyosinovému cytoskeletu a při mechanickém zatížení mohou přenášet síly na celý vzájemně propojený cytoskelet (Maître, 2013).

1.3.3 Struktura

Kadheriny zprostředkovávají adhezi buněk závislou na Ca^{2+} iontech v *cis* a *trans* konfiguracích. Schopnost zprostředkovat adhezi je závislá hlavně na extracelulární doméně (jedná se o transmembránový glykoprotein), která se skládá přibližně ze 110 AA zbytků, a ty se skládají do sedmi antiparalelních β řetězců sestavujících se do dvou β listů. Struktura je tedy podobná Ig doméně. Tři Ca^{2+} ionty se vážou na interdoménu každého páru extracelulární domény a zpevňují spojení mezi sousedními doménami, což způsobuje zakřivení extracelulární domény (obr. 3). Vazba iontů Ca^{2+} tak stabilizuje strukturu ektodomény a usnadňuje homofilní interakci s jinými kadheriny (Seong, 2015).



Obr. 3: *Trans a cis interakce klasických kadherinů typu I (upraveno dle: Seong, 2015).*

1.4 Selektiny

Selektiny jsou rodinou transmembránových glykoproteinů, která se skládá ze tří blízce příbuzných molekul buněčného povrchu s rozdílnou expresí leukocyty (L-selektin), krevními destičkami (P-selektin) a vaskulárním endotelem (E-selektin). Selektiny jsou odpovědné za heterofilní interakci buňka-buňka pod hydrodynamickým tokem, zprostředkovávají počáteční interakci mezi cirkulujícími leukocyty a endotelem. Název získaly díky schopnosti vázat sacharidy prostřednictvím extracelulární lektinové domény. Hlavním společným ligandem všech tří členů je modifikovaná varianta tetrasacharidu, tzv. sialyl Lewis X (Läubli, 2010; Ivetic, 2013; Hassan, 2020).

Selektiny se liší v kinetice exprese, P-selektiny jsou exprimovány během několika minut a E-selektiny během několika hodin (Harjunpaa, 2019).

1.4.1 Historie

Selektiny byly poprvé klonovány v roce 1989, od té doby zájem o jejich studium neupadá. Jsou první velkou skupinou savčích lektinů, u nichž bylo prokázáno, že dokážou zprostředkovat kontakt mezi buňkami (Mcever, 2002).

1.4.2 Funkce

Selektiny zprostředkovávají adhezi leukocytů a krevních destiček k cévním povrchům. Selektiny hrají roli v obchodování s leukocyty, migraci lymfocytů do periferních lymfatických uzlin a na kůži, při trombóze a zánětu, podílí se na udržování hemostázy, ale také přispívají k rozvoji některých chorob, jako je ateroskleróza, trombóza, artritida, srpkovitá anémie a nádorové metastázy (Mcever, 2002; Hassan, 2020). Uplatňují se při imunitní odpovědi a hojení ran, také se mohou podílet na signální transdukci, a tím ovlivňovat buněčnou migraci a aktivaci dalších adhezních molekul včetně integrinů (Läubli, 2010). Správná funkce selektinů je závislá na sacharidech (Harjunpaa, 2019).

1.4.2.1 *L-selektin*

L-selektin je transmembránová buněčná adhezní molekula, která je exprimována na povrchu většiny cirkulujících leukocytů. Působí jako signální receptor k homeostatickému a regulovanému přenosu leukocytů do lymfatických uzlin a míst zánětu. Shlukování L-selektinu podporuje aktivaci integrinu a reakci chemokinových receptorů (Ivetic, 2013).

L-selektin zprostředkovává počáteční krok adhezní kaskády, zachycení a *rollingu* („kutálení“) leukocytů na endotelové buňky, což umožňuje leukocytům migrovat z cév do okolních tkání během zánětu a imunitního dohledu (Wedepohl, 2012).

1.4.2.2 *P-selektin*

P-selektin je pojmenovaný dle aktivovaných krevních destiček (*Platelets*), kterými je exprimován. Může být také exprimován makrofágy, megakaryocyty a endotelovými buňkami. Exprese tohoto selektinu je klíčovým regulátorem zánětu. Při buněčné aktivaci je rychle translokován na buněčný povrch a interakcí s jeho ligandem hraje zásadní roli při zachytávání leukocytů na stěně cévy, rovněž podporuje přilnavost krevních destiček k aktivované stěně cévy, rozpustný vykazuje protrombickou a prokoagulační aktivitu. Zvýšenou plazmatickou koncentraci rozpustného P-selektinu detekujeme například při onemocnění koronárních tepen, cukrovce, hypertenzi a fibrilaci síní (Liu, 2010).

P-selektin zprostředkovává adhezi aktivovaných destiček a endotelových buněk k neutrofilům a monocytům. Po navázání na příbuzný ligand na leukocytech zprostředkuje P-selektinový glykoproteinový ligand počáteční navinutí leukocytů na zanícený endotel, což představuje první krok migrace leukocytů do míst zánětu. P-selektin také aktivuje monocyty k syntéze tkáňového faktoru, což je základní kofaktor při zahájení takzvané vnější cesty srážení krve (Neri, 2020).

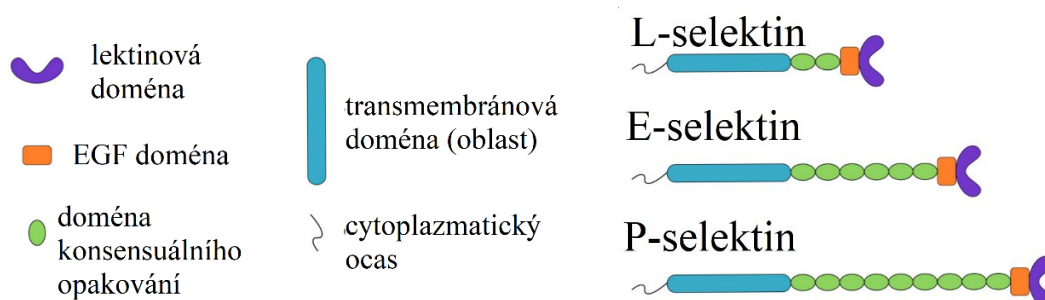
1.4.2.3 E-selectin

E-selektin je molekula buněčné adheze exprimovaná na endoteliálních buňkách aktivovaná cytokiny. Stejně jako ostatní selektiny hraje důležitou roli při zánětu a při adhezi metastatických rakovinných buněk k endotelu. E-selektin rozpoznává a váže se na sialylované sacharidy přítomné na povrchových bílkovinách určitých leukocytů. Je zapojen do mnoha poruch včetně zánětlivých onemocnění, kardiovaskulárních poruch, rakoviny a metastáz.

E-selektin není endotelovými buňkami exprimován kontinuálně, ale až po stimulaci zánětlivými molekulami, jako jsou interleukiny, tumor nekrotizující faktor a bakteriální lipopolysacharid. Jeho exprese je maximální po 4 hodinách od stimulace, poté rychle klesá. Interakce E-selektinu s jeho ligandem vede k odvalení leukocytů na zanícené endoteliální buňky, což je první krok pevné adheze (Jubeli, 2012).

1.4.3 Struktura

Strukturní podobnost selektinů spočívá v doménové kompozici, kdy E-, P- i L- selektiny obsahují na svém amino (-NH₂) konci 120 AA, které představují lektinovou doménu, ta je závislá na vápenatých (Ca²⁺) iontech a je ze 60 % identická u všech tří členů. Tato skutečnost umožňuje selektivně se vázat na jejich odpovídající ligandy. Dále je struktura charakteristická doménou podobnou epidermálnímu růstovému faktoru (*Epidermal growth factor*, EGF), 2-9 doménami krátkého konsenzuálního opakování (*Short consensus repeat*, SCR), které jsou podobné těm, které se nacházejí v regulačních proteinech komplementu, transmembránovou oblastí a krátkou cytoplazmatickou C-koncovou doménou (cytoplazmatický ocas). Celé toto uspořádání vede k podlouhlé struktuře (obr.4), která vyčnívá z buněčného povrchu, což je ideální k zahájení interakcí s cirkulujícími leukocyty.



Obr. 4: Struktura L-, E- a P- selektinu (upraveno dle: Hassan, 2020).

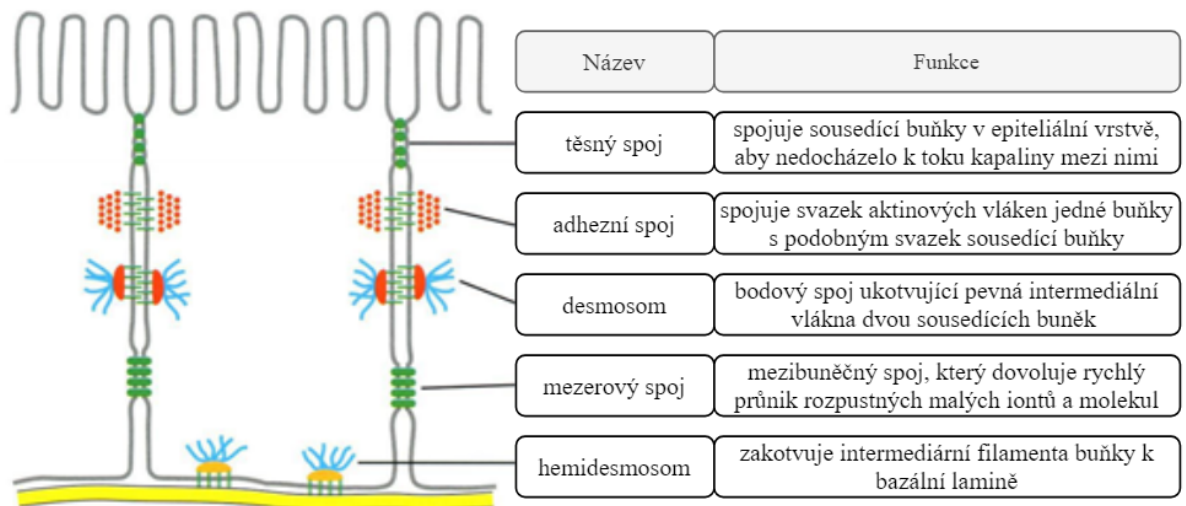
Lektinová doména tvoří hlavní vazebné místo pro ligand nesoucí glykan. Glykany se nacházejí se na glykoproteinech, glykolipidech nebo proteoglykanech a jsou nejčastěji fukosylované, sialylované nebo sulfatované (Läubli, 2010; Gupta, 2012; Hassan, 2020).

2 Mezibuněčné spoje

V těle obratlovců se vyskytuje více než 200 různých typů buněk, které jsou převážně organizovány do epitelů, což znamená, že jsou spolu spojeny stěnami a vytváří mnohobuněčné vrstvy. Epitely mají mnoho různých funkcí, od ochranné bariéry, přes funkce biochemické, až po funkci fotoreptoru pokrývají vnější povrch těla, ale také vystýlají všechny vnitřní dutiny. Epiteliální list má dvě strany: apikální povrch, jenž je volný a je v kontaktu se vzduchem či vodným roztokem, a povrch bazální. Bazální povrch nasedá na další druh tkáně, obvykle pojivové, ke které je epitel připojen. Pod bazálním povrchem je tenká tuhá vrstva ECM nazývaná bazální membrána, která je složena ze speciálního typu kolagenu (kolagen typu IV) a různých jiných molekul jako například proteinu lamininu poskytujícího vazebná místa pro integriny. Slouží tak jako spojovací článek podobně jako fibronektin v pojivových tkáních. Apikální a bazální povrch jsou chemicky rozdílné. Pro organizaci a funkci epitelů je důležité, jaké spoje buňky vytvářejí mezi sebou, ale také s bazální membránou (Bray, 1998).

2.1 Typy mezibuněčných spojů

U obratlovců byly klasifikovány čtyři hlavní typy buněčných spojů, a to desmozomy, které spojují buňky epitelu a některé další typy buněk. Téměř všudypřítomné adhezní (mechanické) spoje spojující svazek aktinových vláken jedné buňky s podobným svazkem buňky sousedící. Dalšími typy spojení buněk jsou spoje těsné a mezerové, které jsou tvořeny proteiny (claudiny a okluziny nebo konexiny) uspořádanými jako těsnící pásy nebo jako parakrystalické konexinové kanály, což umožňuje mezibuněčnou výměnu malých molekul (Franke, 2009 A). Mezi hlavní typy spojení se v některých zdrojích zahrnují také hemidesmozomy (obr. 5).

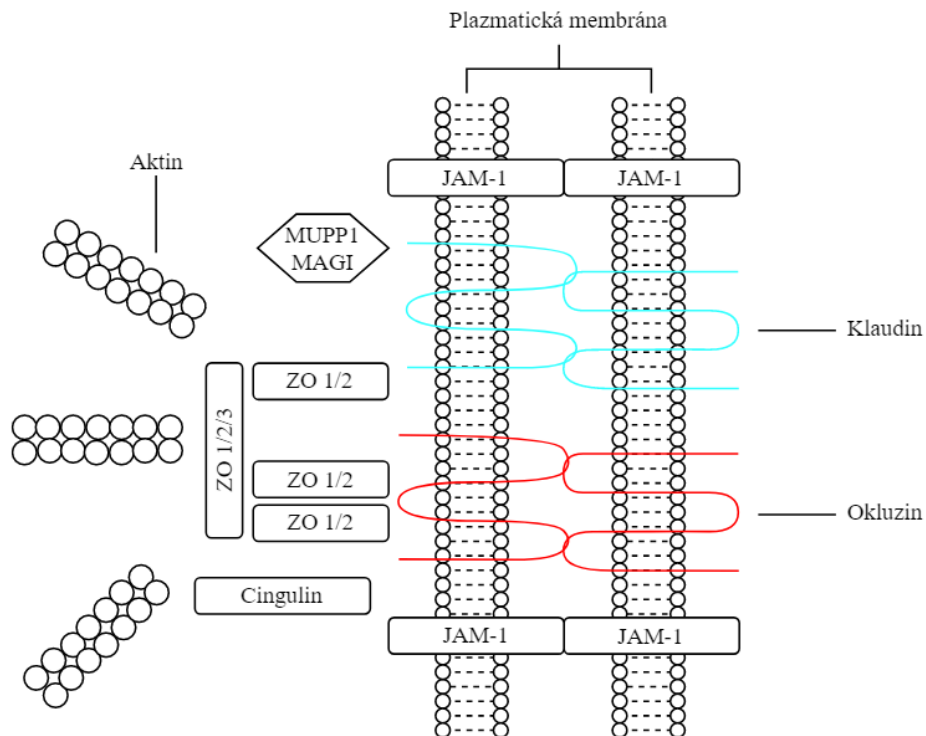


Obr. 5: Základní přehled mezibuněčných spojů (převzato z: Bray, 1998).

Kromě těchto čtyřech hlavních typů buněčných spojů byly v posledních letech definovány nové formy buněčných spojů. Mezi ně patří *Puncta adhaerentia minima*, *Manubria adhaerentia*, *Coniunctiones adhaerentes*, *Areae compositae*, *Cortex adhaerens*, *Iuncturae structae* a *Complex junctions* (Franke, 2009 B).

2.1.1 Těsný spoj (tight junction, zonula occludens)

Těsná spojení (*Tight junctions*; TJ) jsou mezibuněčné adhezni komplexy u obratlovců, které jsou nutné pro tvorbu funkčních epiteliálních a endoteliálních bariér. Vytváří mezibuněčnou bariéru omezující paracelulární pohyb rozpuštěných látek a materiálů přes epitel a jsou variabilně propustná pro ionty a soluty. V současné době bylo identifikováno mnoho proteinů, které jsou součástí těsného spojení (Steed, 2010; Van Itallie, 2014). Tyto proteiny jsou uspořádány „head to head“ do membránových bariérových struktur, které obsahují buněčně specifické kombinace kladinových a okluzinových rodin proteinů, většinou ve spojení se specifickými imunoglobulinovými proteiny skupiny spojovacích adhezni molekul (*Junctional adhesion molecule*; JAM) (obr. 6) (Franke, 2009 B). Obecně lze strukturu rozlišit na transmembránové („bariérové“) proteiny (např. kladiny a okluziny), které jsou navázány na proteiny „periferního lešení“ (např. afadin). Proteiny „periferního lešení“ spojeny s aktinem a mikrotubuly prostřednictvím mnoha linkerů (např. cingulin, myosin). S touto složitou sítí je spojeno mnoho signálních proteinů, které ovlivňují funkci bariéry a další funkce buněk. Doména PDZ (sekvence přibližně 100 aminokyselin; význam při signální transdukcii) je běžně používaný motiv ke specifickému propojení jednotlivých párů proteinových spojů (Steed, 2010; Van Itallie, 2014).



Obr. 6: Základní konstrukční transmembránové komponenty těsných spojů
 zkratky: JAM-1 – spojovací (junkční) adhezivní molekuly; ZO1/2, ZO1/2/3 – proteiny těsného spoje (Tight junction/zonula occludens proteins) 1, 2 nebo 3 (upraveno dle: Carien, 2007).

Morfologie těchto spojů koresponduje s jejich funkcí. Jádrem TJ je vláknitá proteinová struktura uvnitř lipidové dvojvrstvy, tzv. TJ řetězce. TJ řetězce se v plazmatických membránách navzájem sdružují, aby eliminovaly mezibuněčný prostor. Síť propojených řetězců vytváří spojitý pás, který ohraničuje každou buňku a tvoří difúzní bariéru proti rozpuštěným látkám v paracelulárních drahách skrz buněčnou vrstvu. Dle současného konceptu TJ reguluje průchod solutů na základě velikosti a náboje.

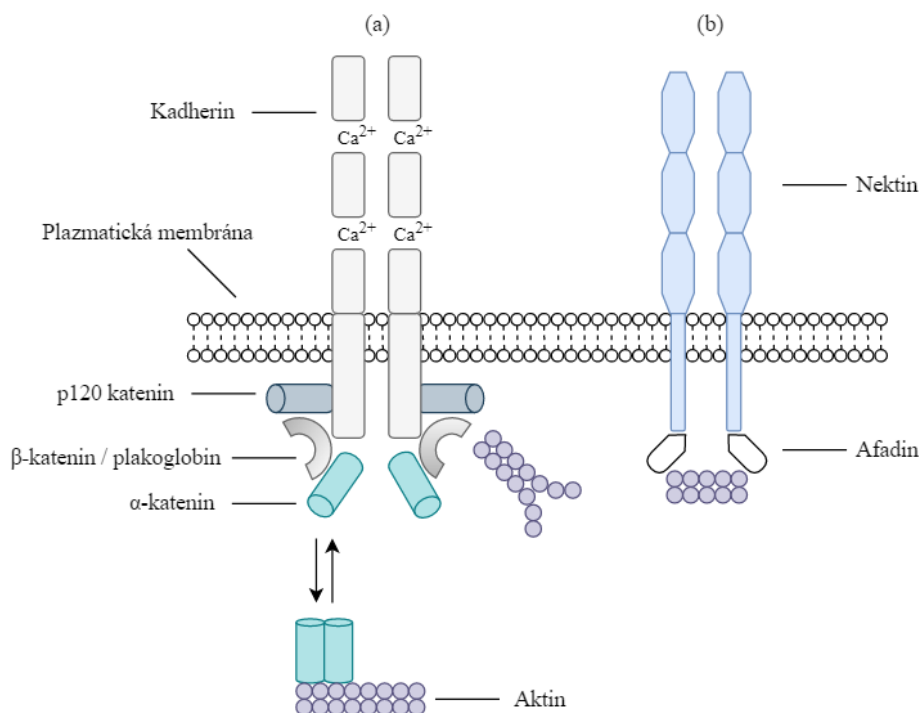
Stejně jako ostatní mezibuněčné spoje jsou TJ komplexy složené z integrálních membránových, cytoplazmatických plakových a cytoskeletálních proteinů. Mezi nimi jsou membránové proteiny rodiny klaudinů klíčovými složkami pro strukturu a funkci TJ (Furuse, 2010). Převládajícím modelem struktury TJ je stabilní multiproteinový komplex složený z integrálních membránových proteinů. Dva hlavní typy integrálních membránových proteinů jsou klasifikovány podle počtu transmembránových domén, které obsahují: čtyřprůchodové transmembránové proteiny, jako jsou klaudiny, okluzin a tricellulin, a jednopásmové transmembránové proteiny včetně JAM a Coxsackie a receptor asociovaný s adenovirem (CAR). Předpokládá se, že laterální asociace mezi molekulami klaudinu v plazmatické membráně v kombinaci s homotypickými adhezivními interakcemi mezi molekulami klaudinu na sousedních buňkách je základem charakteristické struktury těsných spojovacích řetězců.

Klaudiny také tvoří vodné póry nebo kanály v těsných spojích, které umožňují iontově selektivní difúzi podél koncentračních gradientů. K základům na bázi klaudinů se přidružují další integrální membránové proteiny. První transmembránovou složkou je okluzin, který se podílí na regulaci vlastností propustnosti těsných spojů a souvisí také s regulací difúze závislé na velikosti. Protein JAM a příbuzné proteiny fungují jako adhezní proteiny, homotypicky i heterotypicky a regulují různé procesy, jako je transmigrace leukocytů. Pod membránovou doménou je cytoplazmatický plak, což je síť hustě zabalených periferních proteinů, které spojují integrální membránové proteiny se základním aktinovým cytoskeletem i různými signálními proteiny. Jedná se například o proteiny těsného spojení ZO-1, -2 a -3 (zonula occludens proteiny), z nichž každý obsahuje tři domény pro interakci s proteiny PDZ a jednu SH3 doménu, kterými prokazují afinitu k cytoskeletálním proteinům, signálním molekulám a membránovým bílkovinám. Komponenty TJ mohou interagovat s proteiny adhezních spojů, díky čemuž se vytváří složitá síť proteinových interakcí důležitá pro správnou organizaci integrálních membránových komponent, regulaci spojení a funkci spojení, jako je i přenos signálů do vnitřku buňky (Steed, 2010).

2.1.2 Adhezní spoj (adheren junction)

Adhezní spoje (AJ) se vyskytují, stejně jako TJ, na kontaktech buňka-buňka. AJ zprostředkovávají adhezi mezi buňkami prostřednictvím působení adhezních molekul nektinů a kadherinů. Mezi adhezními a těsnými spoji existuje vysoká úroveň vzájemné závislosti, jsou mezi sebou fyzicky spojeny zonula occludens proteiny a také prostřednictvím signálních molekul, několika komplexů polarity a aktinových cytoskeletálních modifikátorů. AJ se nachází těsně pod TJ, které leží nejbližší k apikální (lumen vystavené) části buňky. Zatímco TJ mají funkci oplocení, čímž zabraňují míchání membránových lipidů mezi apikální a bazolaterální membránou, a regulace průchodu molekul a iontů mezi buňkami, AJ obsahují dva subkomplexy: adhezi na bázi nektinů, které tvoří první připojení buněk k jejich sousedům, a adhezi na bázi kadherinů, které zprostředkovávají silnou adhezi mezi buňkami (Campbell, 2017).

Spojení adhezních se skládá ze dvou základních adhezivních jednotek: komplex nektin-afadin a klasický komplex kadherin-atenin (obr. 7). (Carien, 2007).



Obr. 7: Základních prvky adhezních spojů
 (a) komplex kadherin-katenin; (b) nektin-afadin a jejich potenciální interakce s aktinem (Carien, 2007).

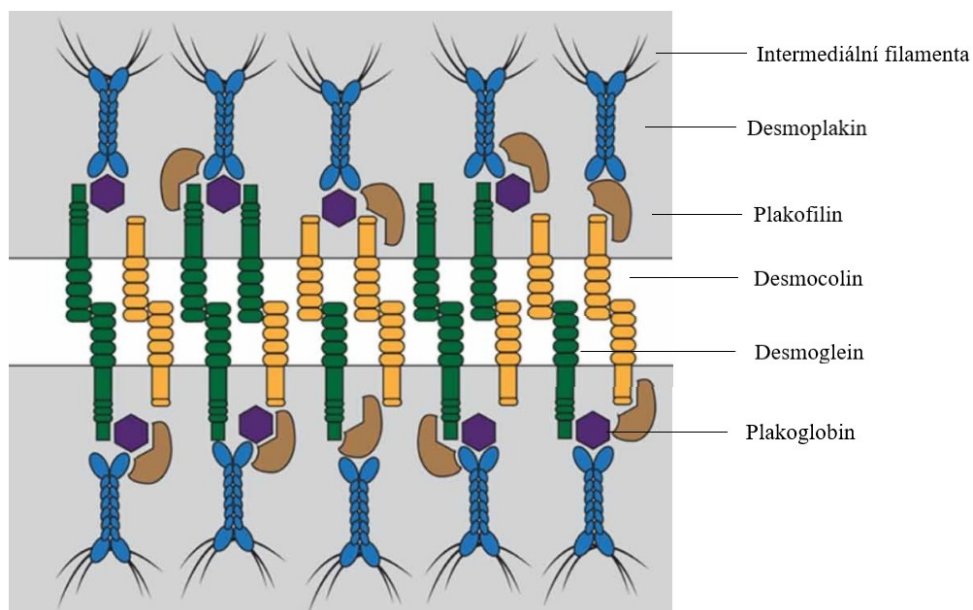
Komplex kadherin-katenin je klíčovou složkou, která přispívá ke stabilitě epiteliární a neepiteliární tkáně a k dynamickým pohybům buněk. Základní komplex je tvořen kadherinem s α -, β -, a p120 kateniny. Kadherin je homofilní adhezní molekula závislá na iontech Ca^{2+} . Je buď přímo vázán na β -katenin, p120 katenin nebo plakoglobin (γ -katenin), který se váže na α -katenin, α -katenin se poté váže na vinculin, α -aktinin, ZO-1 a aktin. Tento komplex se váže na aktomyozin, přispívá tak k mechanické vazbě mezi buňkami, což vede k mnoha morfogenetickým událostem a opravě tkáně. Adheze kadherinu a asociace s aktinovým cytoskeletem vedoucí k tvorbě AJ jsou dostatečně stabilní, aby udržovaly soudržnost tkání, ale zároveň dostatečně plastické, aby umožnily přeskupení buněk během vývoje (Mège, 2017; Carien, 2007; Nagafuchi, 2001).

Nektiny tvoří strukturální adhezivní jednotky s proteinem afadinem. Receptory adheze rodiny nektinů patřící do nadrodiny imunoglobulinů mají čtyři členy, nektin 1 až 4, tvoří laterální homodimery, které se zapojují do homofilní i heterofilní adheze s jinými nektiny nebo receptory podobnými nektinu. Rozdíl je ve specifitě a afinitě. Skládají se z extracelulární domény obsahující tři smyčky podobné IgG, jednu transmembránovou oblast a cytoplazmatickou doménu s C-koncovým PDZ motivem. Nektiny mohou poskytnout první oporu pro adherenty a tvorbu těsných spojů. Afadin váže aktin, který poskytuje těmto adhezním molekulám přímou vazbu na cytoskelet. Obsahuje mimo jiné PDZ doménu, na kterou se váže nektin (Carien, 2007).

2.1.3 Desmozom (macula adherens)

Desmozomy (DSM) patří spolu s AJ mezi kotvící spoje, které spojují aktin a intermediální filamentu (IF) cytoskeletu s plazmatickou membránou v místech adheze buněk. Desmozomy tak vytváří supracelulární „lešení“, které zajišťuje mechanickou odolnost tkání (Jaiganesh, 2019; Nekrasova, 2013). Desmozomy jsou mezibuněčné spoje umístěné na buněčné membráně, kde působí jako kotvy pro IF buněčného cytoskeletu. Spojením intermediálních vláken sousedních buněk tvoří síť adhezivních vazeb, které vyzařují skrz tkáň a poskytují mechanickou pevnost. Komplex desmozom-intermediální vlákno, označován jako DIFC je nezbytný pro udržení integrity tkání. Dojde-li k narušení desmozomální adheze, např. u některých autoimunitních či genetických onemocnění, ztrácejí buňky soudržnost, což může mít vážné důsledky pro tkáň jako celek. Toto platí především pro tkáně, jako je srdce a kůže, které jsou mechanicky namáhány (Al-Jassar, 2013).

Jedná se o specializované a vysoce uspořádané membránové domény, které zprostředkovávají kontakt mezi buňkami a silnou adhezí. Hlavní stavební jednotky desmozomů jsou proteiny tří genových rodin: kadheriny, proteiny *Armadillo* a plaký. Konkrétně jde o desmozomální kadheriny desmoglein a desmocolin závislé na Ca^{2+} , desmoplakin z rodiny plaků, který spojuje adhezivní molekuly s intermediálními vlákny, a nakonec plakoglobin a plakofilin, proteiny *Armadillo*, spojující adhezivní molekuly s desmoplakinem (Nekrasova, 2013; Mahoney, 2010). Desmogleiny a desmocoliny tvoří extracelulární spojení mezi buňkami a váží proteiny plakoglobin a plakofiliny, které slouží k navázání kadherinů na protein desmoplakin z plaků, což zase omezuje desmozomy na síť intermediálních vláken (obr. 7) (Brooke, 2012).

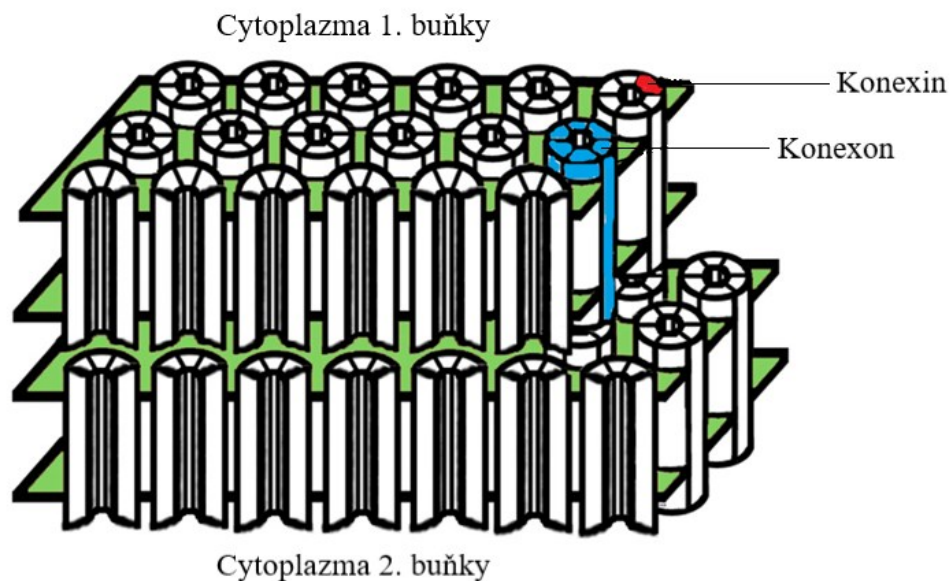


Obr. 8: Struktura desmozomu (upraveno dle: Brooke, 2012).

2.1.4 Mezerový spoj (gap junction)

Mezerové spoje jsou nejrychlejším a nejpřímějším mechanismem pro komunikaci mezi buňkami. Jedná se o mezibuněčné kanály, které spojují přímo cytoplazmy sousedních buněk. Nachází se mezi dvěma plazmatickými membránami a mezibuněčným prostorem, jsou výsledkem spojení dvou hemikanálů a jsou hustě zabaleny do prostorových mikrodomén plazmatické membrány, které se nazývají *gap junctions* (GJ). Jejich funkcí je umožnění výměny iontů a malých molekul mezi buňkami. Také se podílí na šíření elektrických signálů a koordinaci buněčné signalizace přenosem druhých poslů. Ačkoli byly dříve brány jako pasivně průchodné kanály, dnes již víme, že jejich propustnost je dána složitými mechanismy umožňujícími otevření a zavření centrálního póru v reakci na biologický podnět (Nielson, 2012; Hervé, 2013). Tato výměna iontů je důležitá pro koordinaci funkcí buněk ve tkáních všech mnohobuněčných organismů, přes kanály prochází molekuly až do velikosti 1 kDa voda i metabolity (Villanelo, 2017; Beyer, 2018).

U obratlovců jsou mezerová spojení tvořena členy rodiny proteinů, které se nazývají konexiny a v současné době je u lidí známo 21 druhů. GJ obsahuje shluky několika desítek až tisíc intercelulárních (mezibuněčných) GJ kanálů. Kanál se skládá hemikanálů dvou buněk, které se k sobě skládají „*head to head*“. Každý hemikanál, nazývaný také jako konexon, obsahuje šest podjednotkových proteinů (konexinů), které obklopují centrální póry naplněné vodou (obr. 8) (Nielsen, 2012; Beyer, 2017).



Obr. 9: Struktura mezerového spoje (upraveno dle: Beyer, 2017).

2.1.5 Hemidesmozom

Hemidesmosomy (HD) jsou multiproteinové komplexy patřící do rodiny integrinů, které usnadňují stabilní adhezi bazálních epitelálních buněk k podkladové bazální membráně. Mechanická stabilita hemidesmosomů závisí na mnohonásobných interakcích několika proteinových složek, které tvoří těsně uspořádaný komplex zalitý v membráně. Stabilní připojení bazálních epidermálních keratinocytů k bazální membráně prostřednictvím HD má zásadní význam pro udržení integrity pokožky a epidermální homeostázy. Zděděná nebo získaná onemocnění, při nichž je ovlivněna jakákoli složka HD, vedou k řadě poruch tvorby puchýřů na kůži, souhrnně známých jako epidermolysis bullosa a charakterizovaných separací tkání s tvorbou puchýřů v různých vrstvách kůže.

Hemidesmosomy jsou vysoce specializované integrinem zprostředkované epitelové připojovací struktury, díky nimž buňky pevně ulpívají na extracelulární matrix navázáním spojení mezi podkladovou bazální membránou a sítí intermediálních filament odolného vůči mechanickému stresu. Jádrem tohoto komplexu je tvořeno z integrinu $\alpha 6\beta 4$ a cytoskeletálního proteinu plektinu, který je specificky asociován s hemidesmosomy (Walko, 2015). Klasické hemidesmosomy typu I jsou strukturou podobné „nýtům“, které hrají klíčovou roli při udržování integrity tkáně a odolávání mechanické síle. Na ultrastrukturální úrovni vypadají jako elektronově husté plaky přítomné na cytoplazmatické straně plazmatické membrány, ke kterým jsou ukotvena keratinová mezi vlákna. Hemidesmosomy typu I a II se liší

obsahem proteinů a svým výskytem. V současné době není přesně známa vzájemná prostorová organizace jednotlivých složek hemidesmozomů (Nahidiazar, 2015).

3 Inhibitory buněčné adheze

Molekuly buněčné adheze jsou rozhodující pro regulaci imunitní odpovědi a zánětu. Extracelulární interakce mezi specifickými CAM, exprimovanými na povrchu endotelu, a leukocyty zprostředkovává vstup leukocytů do tkání, proliferaci T-lymfocytů a prezentaci antigenu. Klíčovou roli hraje migrace leukocytů do místa postižení. Látky, které inhibují přilnavost leukocytů, transmigraci a expresi příslušných molekul CAM, představují terapeutický potenciál jako imunosupresiva a protizánětlivé léky (Takamatsu, 2018).

Účinky mnoha protizánětlivých léků mohou být částečně připisovány inhibici exprese CAM. Při hledání selektivnějších a účinnějších léků pro klinicky důležitá onemocnění, jako je roztroušená skleróza, astma, revmatoidní artritida, zánětlivé onemocnění střev, alergie a ateroskleróza, čím dál větší zájem je o přímou inhibici funkce CAM (Ulbrich, 2003).

Obecně platí, že inhibitor adheze buněk je kategorizován jako cíl pro přilnavost mezi buňkami a pro expresi molekul buněčné adheze (Takamatsu, 2018).

3.1 Inhibitory buněčné adheze rostlinného původu

3.1.1 Terpenoidy-sesquiterpeny

Shizukaol, cykloshizukaol A a shizukaol F jsou terpenoidy nacházející se v rostlině *Chlorantus japonicas Siebe*. Tato trvalá bylina, která roste v jižní části Koreje, Japonska a Číny se používá na léčbu vředů, dermatologické poruchy a enterické horečky jako lidový lék. Z kořenů této byliny byly izolovány látky, které inhibují expresi ICAM v promyelocytárních buňkách. Inhibice je závislá na dávce. Také inhibuje povrchovou expresi molekul VCAM a E-selektinu (Takamatsu, 2018).

3.1.2 Terpenoidy - diterpeny

Terpenoidy diacetoxyklerodan, oxidované acetyly, casearinoly a casearinony, izolované z listů *Casearia guianensis* inhibují vazbu LFA-1 (*Lymphocyte function antigen*, LFA), molekuly ze skupiny integrinů, která je přítomna na leukocytech, s molekulou buněčné adheze ICAM-1 (Takamatsu, 2018).

3.1.3 Alkaloidy

Byly izolovány čtyři alkaloidy z methanolových extraktů rostliny *Evoidia rutaecarpa*. jako specifické inhibitory LFA-1 a ICAM-1. Evoidia se používá jako přírodní medicína k léčbě gastrointestinálních poruch a bolestí hlavy, jako analgetika a antiemetika (Takamatsu, 2018).

Dále mezi inhibitory buněčné adheze rostlinného původu můžeme zařadit flavonoid astibilin, který vykazuje selektivní imunopresivní vlastnosti, alkaloid piperin, který je silným inhibitorem molekul buněčné adheze na endoteliálních buňkách lidské pupečnickové žíly (*Human umbilical vein endothelial cell*, HUVEC) a také inhibuje TNF- α (tumor nekrotizující faktor α). Jsou také hlášeny inhibiční účinky surového rostlinného extraktu a hadího jedu (Takamatsu, 2018).

3.2 Monoklonální protilátky

Natalizumab a Vedolizumab jsou monoklonální protilátky, které inhibují integrin $\alpha 4\beta 7$. Jsou klinicky používané při léčbě zánětlivých střevních onemocnění, roztroušené sklerózy, astmatu, poruch jater a diabetu 1. typu.

Natalizumab je protilátka $\alpha 4$ podjednotky a blokuje integrin $\alpha 4\beta 1$ a $\alpha 4\beta 7$, Vedolizumab selektivně cílí na integrin $\alpha 4\beta 7$ (Hao Li, 2018).

3.3 Heparin

Nízkomolekulární heparin je derivát heparinu a dle několika studií má kromě antikoagulační aktivity, protinádorovou a antimetastatickou aktivitu. Několik studií poukázalo na to, že adhezní molekuly hrají rozhodující roli při zlepšování opakujících se, invazivních a vzdálených metastáz. Proto se předpokládá, že molekuly buněčné adheze lze určit jako potenciální terapeutickou cílovou skupinu, protože protilátky nebo inhibitory s malými molekulami mohou snadno přistupovat k jejich extracelulárním doménám.

Klinické studie ukázaly, že použití léčby nízkomolekulárním heparinem může významně prodloužit dobu přežití u pacientů s rakovinou, zejména díky jejímu potenciálu inhibovat interakce mezi buňkami. Heparin ovlivňuje jak nádorové buňky, tak endoteliální buňky, které zahrnují buněčnou adhezi, proliferaci, metastázy, invazi, angiogenezi a ovlivňují širokou škálu molekul (např. selektiny, plazminogen a další adhezivní molekuly). Jelikož selektiny vytvářejí počáteční fázi buněčných interakcí, patří inhibice interakce zprostředkované selektiny mezi primární postup související s metastázami. Ve studiích na zvířatech byla interakce mezi selektiny, rakovinovými buňkami, krevními destičkami, leukocyty a endotelovými buňkami zkoumána s různými úrovněmi exprese selektinu. Výsledky uváděly, že ve studiích

na zvířatech byly pozorovány snížené interakce krevních destiček a nádorových buněk kvůli nedostatku P-selektinu, což vedlo ke zmírnění metastáz. Nedostatek L-selektinu byl také spojen se snížením metastáz (Ejaz, 2021).

3.4 Alkohol

Alkoholy typu methanol až 1-butanola inhibují se zvyšující se účinností buněčnou adhezi zprostředkovanou molekulou adheze imunoglobulinů L1. Přičemž 1-pentanol a vyšší alkoholy nevykazují žádný účinek. Ethanol způsobuje vážné poškození vyvíjejícího se i zralého nervového systému.

Molekula L1 je molekula adheze imunoglobulinových buněk, která prostřednictvím homofilních a heterofilních interakcí reguluje migraci neuronů, fascikulaci (samovolné záškuby) axonů a jejich růst. Prenatální expozice ethanolu způsobuje poruchy fetálního alkoholového spektra (FASD), částečně narušením právě molekuly adheze nervových buněk L1. Mutace genu L1 způsobují neuropatologické abnormality, které jsou spojeny s některými stejnými strukturálními mozgovými abnormalitami pozorovanými u FASD. Ethanol narušuje funkci L1 v koncentracích, které jsou dosaženy po jednom nebo dvou nápojích (Arevalo, 2008).

4 Role adhezivních molekul u vybraných onemocnění

4.1 Ateroskleróza

Leukocyty a adhezivní molekuly hrají klíčovou roli ve vývoji a progresi aterosklerózy. Ateroskleróza je chronický zánětlivý proces, který je charakterizován tvorbou plaků tvořených z pěnových buněk, imunitních buněk, vaskulárních endotelových buněk, buněk hladkého svalstva, krevních destiček, extracelulární matrix a lipidovým jádrem. Ateroskleróza je patologickým základem pro kardiovaskulární onemocnění.

Molekuly buněčné adheze mají významnou úlohu při náboru leukocytů do míst zánětu. Působením prozánětlivých cytokinů jsou adhezivní molekuly exprimovány na povrchu endotelových buněk. Zvýšená exprese adhezivních molekul aktivovaným endotelem je kritickým znakem aterosklerózy. Molekuly adheze hrají důležitou roli ve vývoji aterosklerotických plaků. Největší podíl mají selektiny, integriny a členové nadrodiny imunoglobulinů.

Expese selektinů je prvním krokem prostupu leukocytů přes endotel. Selektiny zprostředkovávají zachycování, usazování a „*rolling*“ leukocytů na endotel. L-selektin je exprimován na povrchu leukocytů cirkulujících v krvi, E- a P- selektiny na povrchu

endotelových buněk. Klinické studie zjistily, že úroveň exprese P-selektinu byla úměrná stupni aterosklerózy lézí a plaků.

Ke zvýšené expresi členů nadrodiny imunoglobulinů ICAM a VCAM dochází po stimulaci prozánětlivými cytokiny a působením lipopolysacharidů. Podílejí se na rozpoznávání buněk a přilnavosti. Vysoká exprese VCAM-1 a ICAM-1 podporuje proliferaci makrofágů, což vede k velkému počtu makrofágů hromadících se v plaku, čímž se zvyšuje nestabilita plaku, dále neovaskularizaci, která se vyznačuje většinou nezralými a křehkými cévami.

Integriny zajišťující kontakt mezi dvěma buňkami, mezi buňkou a patogenem, nebo mezi buňkou a extracelulární matrix a jsou exprimovány na všech leukocytech jako LFA-1. Tento integrin se může vázat na mezibuněčné adhezí molekuly ICAM-1 a -2. Dalším významným integrinem je pozdní aktivační antigen (*Very late activation antigen*, VLA), který se váže na VCAM-1. Integrinová signalizace může ovlivnit mnoho aspektů aterosklerózy, od nejranější indukce zánětu až po vývoj pokročilých fibrózních plaků. Integriny mohou být využity jako potenciační terapeutický cíl pro omezení kardiovaskulárních onemocnění (Zhu, 2018; Alkina, 2007).

4.2 Pankreatitida

Akutní a chronické pankreatitidy jsou gastrointestinální zánětlivá onemocnění s rostoucí incidencí po celém světě. Pankreatitida je charakterizována edémem, narušením parenchymu slinivky břišní, infiltrací zánětlivými buňkami a fibrózou, přičemž je normální struktura slinivky břišní téměř zničena. Většina pacientů s akutní pankreatitidou mají mírný průběh onemocnění, ale u závažných případů, kdy dochází k mnohočetnému selhání orgánů, má vysokou úmrtnost. Chronická pankreatitida je typická chronickým zánětem a zničením normálního parenchymu slinivky břišní. Pacienti s chronickou pankreatitidou mají také vyšší pravděpodobnost na výskyt adenokarcinomu slinivky břišní. Základní mechanismus vzniku a vývoje tohoto onemocnění je nejasný, avšak je spojen s řadou faktorů, mezi které patří i adhezí molekuly.

Molekuly adheze hrají významnou roli v migraci buněk, proliferaci a transdukcii signálu, stejně tak ve vývoji a reparaci tkání. Uvolnění adheze mezi buňkami slinivky břišní zvyšuje propustnost, což vede k intersticiálnímu edému, který podporuje migraci zánětlivých buněk a narušuje tkáňovou strukturu. Rizikovým faktorem je oxidační stres, který vede ke zvýšené expresi molekul adheze.

Je-li narušena struktura těsných spojů epitelových buněk slinivky břišní, vede to k neomezenému pohybu solutů a dalších molekul paracelulárním prostorem, což způsobuje otok a průjem. Těsné spoje totiž fungují jako bariéra řídící právě paracelulární pohyb iontů, solutů a dalších molekul. Těsné spoje tak pravděpodobně hrají důležitou roli v progresi a závažnosti pankreatitidy.

Zachování normálních funkcí molekul adheze a zabránění jejich abnormální aktivaci by podpořilo homeostázu a udržet normální struktury slinivky břišní. Další studie rolí molekul adheze v normální a patologické slinivce břišní by usnadnily vývoj nových terapeutických strategií v léčbě akutní a chronické pankreatitidy (Sato, 2019).

4.3 Rakovina endometria

Adhezivní molekuly jsou zodpovědné za interakci mezi buňkami navzájem, a s okolním mezibuněčným prostředím vytváří normální architekturu tkáně. Role adhezivních molekul při procesu rakoviny je angiogeneze, ztráta kontinuity tkáně a ztráta mezibuněčného kontaktu s extracelulární matrix. Tyto procesy podporují šíření rakoviny tvorbou metastáz. Jestliže jsou poruchy v celém mechanismu buněčných spojení a je narušena integrita epitelů, pronikají rakovinné buňky do okolních tkání a mohou se přesouvat do lymfatických a krevních cév.

Rakovina endometria (dělohy) je cca 15. nejčastější malignitou na světě. Ukazuje se, že většina případů jsou ženy z vysoce rozvinutých zemí. Nejvyšší riziko vzniku je u žen v postmenopauzálním období. Nejčastěji se jedná o adenokarcinom endometria spojený s nadměrnou sekrecí estrogenu v důsledku obezity, hypertenze, cukrovky, pozdní menopauzy a hormonální substituční terapie. Hlavním faktorem v premenopauzálním věku je obezita. Nadměrná koncentrace estrogenu nadměrně stimuluje endometriální tkáň, může také přispět k rozvoji hyperplazie (zmožení buněk) endometria.

Změny v adhezivních vlastnostech jsou často spojeny se změnami exprese a funkce adhezivních molekul, které jsou popisovány u mnoha typů rakovin. Změna exprese adhezivních molekul je detekovatelná v každé fázi invaze nádoru, včetně oddělení nádorových buněk z místa vzniku, pronikání do krevních cév, migrace do vzdálených orgánů a tvorby metastáz.

E-kadherin je exprimován v epitelových buňkách a zprostředkovává diferenciaci a tvorbu normální architektury tkání. Jeho cytoplazmatická doména interaguje s kateniny a jimi vytvořený komplex váže α -katenin, který přímo ovlivňuje skelet buněk. Nádory často vykazují vadu fungování E-kadherinu způsobenou nedostatkem cytoplazmatické nebo extracelulární domény a mutacemi. Tyto poruchy mohou vést k oddělování nádorových buněk od primární nádorové hmoty, a tím zvyšovat invazivitu.

Integriny zajišťují hlavně interakci mezi buňkami a extracelulární matrix, některé interagují s molekulami superrodiny imunoglobulinů přítomnými na endoteliálním povrchu krve a lymfatických cév, ICAM a VCAM. Díky svým vlastnostem se integriny podílejí na složitých procesech, jako je srážlivost krve, zánět, migrace, diferenciací tkání a dělení buněk, ale bylo provedeno málo studií se zapojením těchto proteinů do rakoviny endometria.

Členové rodin imunoglobulinů se podílejí na proliferaci, lokální invazi, šíření, kolonizaci a také imunologickém úniku nádorových buněk. Molekuly buněčné adheze se tak mohou v budoucnosti stát nástrojem k léčbě rakoviny endometria (Lewczuk, 2019).

ZÁVĚR

Adhezivní molekuly mají v lidském těle mnoho nezastupitelných funkcí, díky kterým jsou velmi důležité pro existenci lidského organismu. Primární funkcí je spojení buněk mezi sebou a buněk s jinými strukturami, jako je extracelulární matrix, udržují tak integritu tkání. Díky adhezivním molekulám mohou v těle probíhat procesy, jako je embryogeneze, hojení ran, migrace leukocytů do míst zánětu, a tím proces zánětlivé reakce, udržování synaptických reakcí, homeostázy, dělení buněk atd.

Jako většina molekul majících specifické funkce, mají i adhezivní molekuly své inhibitory, které tlumí, nebo úplně narušují jejich fungování. Těmito inhibitory mohou být některé látky rostlinného původu, nízkomolekulární heparin, či alkohol.

V případě patologického vývoje hrají adhezivní molekuly také důležité role ve vzniku a vývoji širokého spektra onemocnění, ať už zánětlivých či neoplastických. Příklady těchto onemocnění jsou rakoviny různého druhu, ateroskleróza, anebo pankreatitida. V současné době existují předpoklady, že prostřednictvím adhezivních molekul bude tyto patologie možné úspěšně léčit. Defekty adhezivních molekul byly nalezeny i u lidí po prodělání nyní velmi aktuálního onemocnění Covid-19. Momentálně je tato problematika intenzivně studována, avšak existuje zatím jen minimum odborných studií zabývajících se změnami adhezivních molekul v souvislosti s proděláním onemocnění Covid-19, a proto nebylo možné tuto kapitolu dostatečně rešeršně zpracovat a zařadit do bakalářské práce.

SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ

1. Franke W. W.: Discovering the molecular components of intercellular junctions--a historical view. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 2009 (A), 1(3), doi:10.1101/cshperspect.a003061.
2. Franke W. W., Rickelt S., Barth M. a Pieperhoff S.: The junctions that don't fit the scheme: special symmetrical cell-cell junctions of their own kind. *Cell And Tissue Research* [online], SPRINGER, 2009 (B), 338(1), 1-17. ISSN 0302-766X, doi:10.1007/s00441-009-0849-z.
3. Albelda S. M. a Buck C. A.: Integrins and other cell adhesion molecules. *The FASEB Journal*, 1990, 4(11), 2868–2880, doi:10.1096/fasebj.4.11.2199285.
4. Alberts Bruce, Johnson A., Lewis J., Raff M., et al.: *Molecular biology of the cell*. 4th ed. New York: Garland Science, 2002, 1462 s. ISBN 08-153-4072-9.
5. Al-Jassar C., Bikker H., Overduin M. a Chidgey M.: Mechanistic Basis of Desmosome-Targeted Diseases. *Journal of molecular biology*, Elsevier, 2013, 425(21), 4006-4022, ISSN 0022-2836, doi:10.1016/j.jmb.2013.07.035.
6. Alkina E. a Ley K.: *Vascular Adhesion Molecules in Atherosclerosis*. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 2007 American Heart Association, 2007, 27(11), 2292-2301, ISSN 1079-5642, doi:10.1161/ATVBAHA.107.149179.
7. Arevalo E., Shanmugasundararaj S., Wilkemeyer M. F., Dou X., et al.: Alcohol binding site on the neural cell adhesion molecule L1. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. National Academy of Sciences, 2008, 105(1), 371-375, ISSN 0027-8424, doi:10.1073/pnas.0707815105.
8. Barclay A. N.: Membrane proteins with immunoglobulin-like domains—a master superfamily of interaction molecules. *Seminars in immunology*. Elsevier, 2003, 15(4), 215-223, ISSN 1044-5323, doi:10.1016/S1044-5323(03)00047-2.
9. Barczyk M., Carracedo S. a Gullberg, D.: *Integrins*. *Cell and Tissue Research*. Berlin/Heidelberg: Springer-Verlag, 2010, 339(1), 269-280, ISSN 0302-766X, doi:10.1007/s00441-009-0834-6.
10. Berman, A., Kozlova N. a Morozevich G.: *Integrins: Structure and Signaling*. *Biochemistry (Moscow)*. New York: Kluwer Academic Publishers-Plenum Publishers, 2003, 68(12), 1284-1299, ISSN 0006-2979, doi:10.1023/B:BIRY.0000011649.03634.74.

11. Bray A., Lewis J. a Walter R. R.: *Základy buněčné biologie*. Ústí nad Labem: Espero, 1998, 700 s. ISBN 80-902906-0-4.
12. Brooke M. A., Nitoiu D., Kelsell D. P., Wright N.A., et al.: Cell–cell connectivity: desmosomes and disease. *Journal of Pathology* . Chichester, UK: John Wiley & Sons, 2012, 226(2), 158-171, doi:10.1002/path.3027.
13. Campbell H. K., Maiers J. L. a Demali K. A.: Interplay between tight junctions & adherens junctions. *Experimental cell research*. Elsevier, 2017, 358(1), 39-44, ISSN 0014-4827, doi:10.1016/j.yexcr.2017.03.061.
14. Campbell I. D. a Humphries M. J.: Integrin structure, activation, and interactions. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*. 2011, 3(3), doi:10.1101/cshperspect.a004994.
15. Carien, M.: Tight Junctions/Adherens Junctions: Basic Structure and Function. *Journal of Investigative Dermatology*. Nature Publishing Group, 2007, 127(11), 2525, ISSN 0022-202X, doi:10.1038/sj.jid.5700865.
16. De Franceschi N., Hamidi H., Alanko J., Sahgal P., et al.: Integrin traffic - the update. *Journal of cell science*. 2015, 128(5), 839-852, ISSN 00219533, doi:10.1242/jcs.161653.
17. Ejaz U., Akhtar F., Xue J., Wan X., et al.: Review: Inhibitory potential of low molecular weight Heparin in cell adhesion; emphasis on tumor metastasis. *European journal of pharmacology*. Elsevier B.V, 2021, 892, ISSN 0014-2999, doi:10.1016/j.ejphar.2020.173778.
18. Frisch S., a Francis H.: Disruption of epithelial cell-matrix interactions induces apoptosis. *The Journal of Cell Biology*. New York: Rockefeller University Press, 1994, 124(4), 619 , ISSN 00219525, doi:10.1083/jcb.124.4.619.
19. Furuse M.: Molecular basis of the core structure of tight junctions. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*. 2010, 2(1), 2907 , doi:10.1101/cshperspect.a002907.
20. Gil N., Fajardo E. J., Fiser A.: Discovery of receptor-ligand interfaces in the immunoglobulin superfamily. *Proteins*. 2020, 88(1), 135-142, doi:10.1002/prot.25778.
21. Gupta G. S.: L-Selectin (CD62L) and Its Ligands. *Animal Lectins: Form, Function and Clinical Applications*. (2012), 553–574, doi:10.1007/978-3-7091-1065-2_26.
22. Hao L., Huang S. Y., Shi F. H., Gu Z. C., et al.: $\alpha_4\beta_7$ integrin inhibitors: a patent review, *Expert Opinion on Therapeutic Patents*, 2018, 903-917, doi: 10.1080/13543776.2018.1549227_

23. Harjunpa A H., Asens M., Guenther C., a Fagerholm S.: Cell Adhesion Molecules and Their Roles and Regulation in the Immune and Tumor Microenvironment. *Frontiers In Immunology*. Frontiers Media, 2019, ISSN 1664-3224, doi:10.3389/fimmu.2019.01078.
24. Hassan A. A., Artemenko M., Tang K. S. a Wong A. S. T.: Selectins: An Important Family of Glycan-Binding Cell Adhesion Molecules in Ovarian Cancer. *Cancers*. MDPI, 2020, 12(8), ISSN 2072-6694, doi:10.3390/cancers12082238.
25. Howe A., Aplin A. E., Alahari S. K., a Juliano R.: Integrin signaling and cell growth control. *Current opinion in cell biology*. Elsevier, 1998, 10(2), 220-231, ISSN 0955-0674, doi:10.1016/S0955-0674(98)80144-0.
26. Hulpiau P., Gul I. a Van Roy F.: New Insights into the Evolution of Metazoan Cadherins and Catenins. *Molecular Biology Of Cadherins*. ELSEVIER ACADEMIC PRESS, 2013, 116, 71-94. ISSN 1877-1173, doi:10.1016/B978-0-12-394311-8.00004-2.
27. Hulpiau P. a Van Roy F.: Molecular evolution of the cadherin superfamily. *The international journal of biochemistry & cell biology*. Elsevier, 2009, 41(2), 349-369, 1357-2725, doi:10.1016/j.biocel.2008.09.027.
28. Humphries M. J., Mcewan P. A., Barton S. J., Buckley P. A., et al.: Integrin structure: heady advances in ligand binding, but activation still makes the knees wobble. *Trends in biochemical sciences (Amsterdam. Regular ed.)*. Elsevier, 2003, 28(6), 313-320, ISSN 0968-0004, doi:10.1016/S0968-0004(03)00112-9.
29. Hynes R. O.: Integrins: bidirectional, allosteric signaling machines. *Cell*. 2002 Sep 20;110(6):673-87, doi: 10.1016/s0092-8674(02)00971-6. PMID: 12297042
30. Ivetic A.: Signals regulating L-selectin-dependent leucocyte adhesion and transmigration. *The international journal of biochemistry & cell biology*. Elsevier, 2013, 45(3), 550-555, ISSN 1357-2725, doi:10.1016/j.biocel.2012.12.023.
31. Jaiganesh A.: Desmosomes: Essential contributors to an integrated intercellular junction network [version 1; peer review. *F1000 research*. F1000 Research, 2019, 8, ISSN 2046-1402, doi:10.12688/f1000research.20942.1.
32. Joseph-Silverstein J. a Silverstein R. L.: Cell Adhesion Molecules: An Overview. *Cancer investigation*. Taylor & Francis, 1998, 16(3), 176-182, ISSN 0735-7907, doi:10.3109/07357909809050034.
33. Jubeli E., Moine L., Vergnaud-Gauduchon J. a Barratt G.: E-selectin as a target for drug delivery and molecular imaging. *Journal of controlled release*. Elsevier B.V, 2012, 158(2), 194-206, ISSN 0168-3659, doi:10.1016/j.jconrel.2011.09.084.

34. Kong D., Kim Y., Kim M., Jang J., et al.: Emerging Roles of Vascular Cell Adhesion Molecule-1 (VCAM-1) in Immunological Disorders and Cancer. *International Journal Of Molecular Sciences*. MDPI, 2018, 19(4), ISSN 14220067, doi:10.3390/ijms19041057.
35. Läubli H. a Borsig L.: Selectins promote tumor metastasis. *Seminars in cancer biology*. Elsevier, 2010, 20(3), 169-177, ISSN 1044-579X, doi:10.1016/j.semcancer.2010.04.005.
36. Lawson Ch. a Wolf S.: ICAM-1 signaling in endothelial cells. *Pharmacological reports*. Elsevier Urban & Partner Sp. z o.o, 2009, 61(1), 22-32. ISSN 1734-1140, doi:10.1016/S1734-1140(09)70004-0.
37. Leshchyn'ska I. a Sytnyk V.: Reciprocal Interactions between Cell Adhesion Molecules of the Immunoglobulin Superfamily and the Cytoskeleton in Neurons. *Frontiers In Cell And Developmental Biology*. FRONTIERS MEDIA, 2016, 4, ISSN 2296-634X, doi:10.3389/fcell.2016.00009.
38. Lewczuk Ł., Pryczynicz A. a Guzińska-Ustymowicz K.: Cell adhesion molecules in endometrial cancer – A systematic review. *Advances in medical sciences*. Elsevier B.V, 2019, 64(2), 423-429, ISSN 1896-1126, doi:10.1016/j.advms.2019.08.003.
39. Liu Z., Miner J. J., Yago T., et al.: Differential regulation of human and murine P-selectin expression and function in vivo. *The Journal of experimental medicine*. 2010, 207(13), 2975-2987, ISSN 00221007, doi:10.1084/jem.20101545.
40. Luo B., Carman Ch. a Springer T.: Structural Basis of Integrin Regulation and Signaling. *Annual Review of Immunology*. 2007, 25, 619-647, ISSN 0732-0582, doi:10.1146/annurev.immunol.25.022106.141618.
41. Mahoney M. G., Müller E. J. a Koch P. J.: Desmosomes and Desmosomal Cadherin Function in Skin and Heart Diseases—Advancements in Basic and Clinical Research. *Dermatology Research and Practice*. Hindawi Publishing Corporation, 2010, 2010(1), ISSN 1687-6105, doi:10.1155/2010/725647.
42. Maître J. L. a Heisenberg C. P.: Three Functions of Cadherins in Cell Adhesion. *Current biology*. Elsevier, 2013, 23(14), 626-633, ISSN 0960-9822, doi:10.1016/j.cub.2013.06.019.
43. Mcever R. P.: Selectins: lectins that initiate cell adhesion under flow. *Current Opinion in Cell Biology*. Elsevier, 2002, 14(5), 581-586, ISSN 0955-0674, doi:10.1016/S0955-0674(02)00367-8.

44. Mège, Marc R. a Ishiyama N.: Integration of Cadherin Adhesion and Cytoskeleton at Junctions. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*. 2017, 9(5), ISSN 1943-0264, doi:10.1101/cshperspect.a028738.
45. Michael M. a Parsons M.: New perspectives on integrin-dependent adhesions. *Current opinion in cell biology*. Elsevier, 2020, 63, 31-37, ISSN 0955-0674, doi:10.1016/j.ceb.2019.12.008.
46. Nagafuchi A.: Molecular architecture of adherens junctions. *Current Opinion in Cell Biology*. Elsevier, 2001, 13(5), 600-603, ISSN 0955-0674, doi:10.1016/S0955-0674(00)00257-X.
47. Nekrasova O. a Green K. J.: Desmosome assembly and dynamics. *Trends in Cell Biology*. 2013, 23(11), ISSN 09628924, doi:10.1016/j.tcb.2013.06.004.
48. Neri T., Nieri D., Celi A.: P-selectin blockade in COVID-19-related ARDS. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2020, 318(6), 1237-1238, doi:10.1152/ajplung.00202.2020.
49. Samanta D. a Almo S.: Nectin family of cell-adhesion molecules: structural and molecular aspects of function and specificity. *Cellular and Molecular Life Sciences*. Basel: Springer Basel, 2015, 108(33), 645-658, ISSN 1420-682X, doi:10.1007/s00018-014-1763-4.
50. Sato T., Shibata W. a Maeda S.: Adhesion molecules and pancreatitis. *Journal of Gastroenterology*. Tokyo: Springer Japan, 2019, 54(2), 99-107, ISSN 0944-1174, doi:10.1007/s00535-018-1500-0.
51. Seong E., Yuan L. a Arikath J.: Cadherins and catenins in dendrite and synapse morphogenesis. *Cell adhesion & migration*. Taylor & Francis, 2015, 9(3), 202-213, ISSN 1933-6918, doi:10.4161/19336918.2014.994919.
52. Steed E., Balda M. S. a Matter K.: Dynamics and functions of tight junctions. *Trends in cell biology*. Elsevier, 2010, 20(3), 142-149, ISSN 0962-8924, doi:10.1016/j.tcb.2009.12.002.
53. Takada Y., Ye X. a Scott S.: *Genome Biology*. 2007, 215, ISSN 1474-760X, doi:10.1186/gb-2007-8-5-215.
54. Takamatsu S.: Naturally occurring cell adhesion inhibitors. *Journal of Natural Medicines*. Tokyo: Springer Japan, 2018, 72(4), 817-835, ISSN 1340-3443, doi:10.1007/s11418-018-1220-z.
55. Ulbrich H., Eriksson E. E. a Lindbom L.: Leukocyte and endothelial cell adhesion molecules as targets for therapeutic interventions in inflammatory disease. *Trends in*

- pharmacological sciences (Regular ed.). Elsevier, 2003, 24(12), 640-647, ISSN 0165-6147, doi:10.1016/j.tips.2003.10.004.
56. Van Itallie Ch. M. a Anderson J. M.: Architecture of tight junctions and principles of molecular composition. *Seminars in cell & developmental biology*. Elsevier, 2014, 36, 157-165, ISSN 1084-9521, doi:10.1016/j.semcdb.2014.08.011.
57. Vattepu R., Klausmeyer R. A., Ayella A., Yadav R., et al.: Conserved tryptophan mutation disrupts structure and function of immunoglobulin domain revealing unusual tyrosine fluorescence. *Protein Science*. Hoboken, USA: John Wiley & Sons, 2020, 29(10), 2062-2074, ISSN 0961-8368, doi:10.1002/pro.3929.
58. Wedepohl S., Beceren-Braun F., Riese S., et al.: L-Selectin – A dynamic regulator of leukocyte migration. *European journal of cell biology*. Elsevier, 2012, 91(4), 257-264, ISSN 0171-9335, doi:10.1016/j.ejcb.2011.02.007.
59. Wong Ch. W., Dye D. E., Coombe D. R.: "The Role of Immunoglobulin Superfamily Cell Adhesion Molecules in Cancer Metastasis", *International Journal of Cell Biology*, vol. 2012, Article ID 340296, 9 pages, 2012, doi.org/10.1155/2012/340296.
60. Xiong J.-P., Stehle T., Diefenbach B., et al.: Crystal Structure of the Extracellular Segment of Integrin $\alpha V\beta 3$. *Science*. American Society for the Advancement of Science, 2001, 294(5541), 339-345, ISSN 00368075, doi:10.1126/science.1064535.
61. Xu Z. a Jin B.: A novel interface consisting of homologous immunoglobulin superfamily members with multiple functions. *Cellular and Molecular Immunology*. Nature Publishing Group, 2010, 7(1), 11, ISSN 1672-7681, doi:10.1038/cmi.2009.108.
62. Yang S. a Cai X.: Genome-wide screening of the classical cadherin gene family and cadherin-1 expression response infected with streptococcus agalactiae in nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture reports*. Elsevier, 2020, 17, 100393, ISSN 2352-5134, <https://doaj.org/article/f753cb910789446e849f7b439d884e06>.
63. Zhu Y., Xian X, Wang Z., Bi Y., et al.: Research Progress on the Relationship between Atherosclerosis and Inflammation. *Biomolecules*. MDPI, 2018, 8(3), ISSN 2218-273X, doi:10.3390/biom8030080.