



Investice do rozvoje vzdělávání

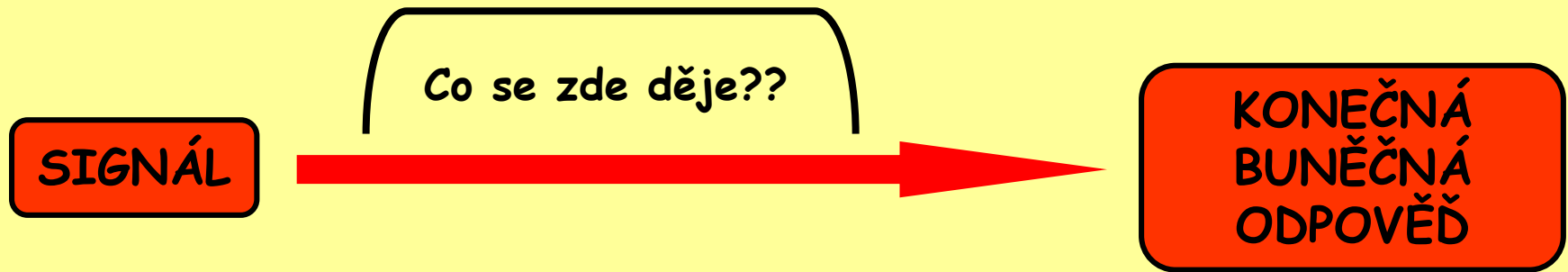
5. Buněčná signalizace

Buněčná biologie 2: KBB/BB2

Prof. RNDr. Zdeněk Dvořák, Ph.D.

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

PŘEDMĚT BUNĚČNÁ SIGNALIZACE



Senzorický impulz z venčí

- světlo
- chlad
- tlak
- hypoxie



Reakce buňky - orgánu

- vasokonstrikce
- třes
- motilita střeva
- vzrůst teploty

PŘEDMĚT FYZIOLOGIE

BUNĚČNÁ SIGNALIZACE

- široké spektrum informačních molekul
- strukturní a funkční různorodost
- cíl: vnější stimulus vede k tvorbě kaskády informačních molekul a následných dějů, které vyústí v konečnou buněčnou odpověď
- růstové faktory, cytokiny, mitogeny
- **hormony (striktní definice endokrinní)**
- retinoidy, eikosanoidy, lipidy, žlučové kyseliny apod.
- neurotransmitery

PŘEDNÁŠKA BUDE PROFILOVÁNA V RÁMCI HORMONÁLNÍ REGULACE

HORMONÁLNÍ REGULACE

Sloučeniny zapojené do koordinace metabolických aktivit různých orgánů a tkání - buněčná signalizace; „signal transduction“ = přenos signálu

- HORMONY
- NEUROTRANSMITERY
- RŮSTOVÉ FAKTORY
- CYTOKINY



- Vněbuněčné signální molekuly
- Syntéza v jednom typu buněk



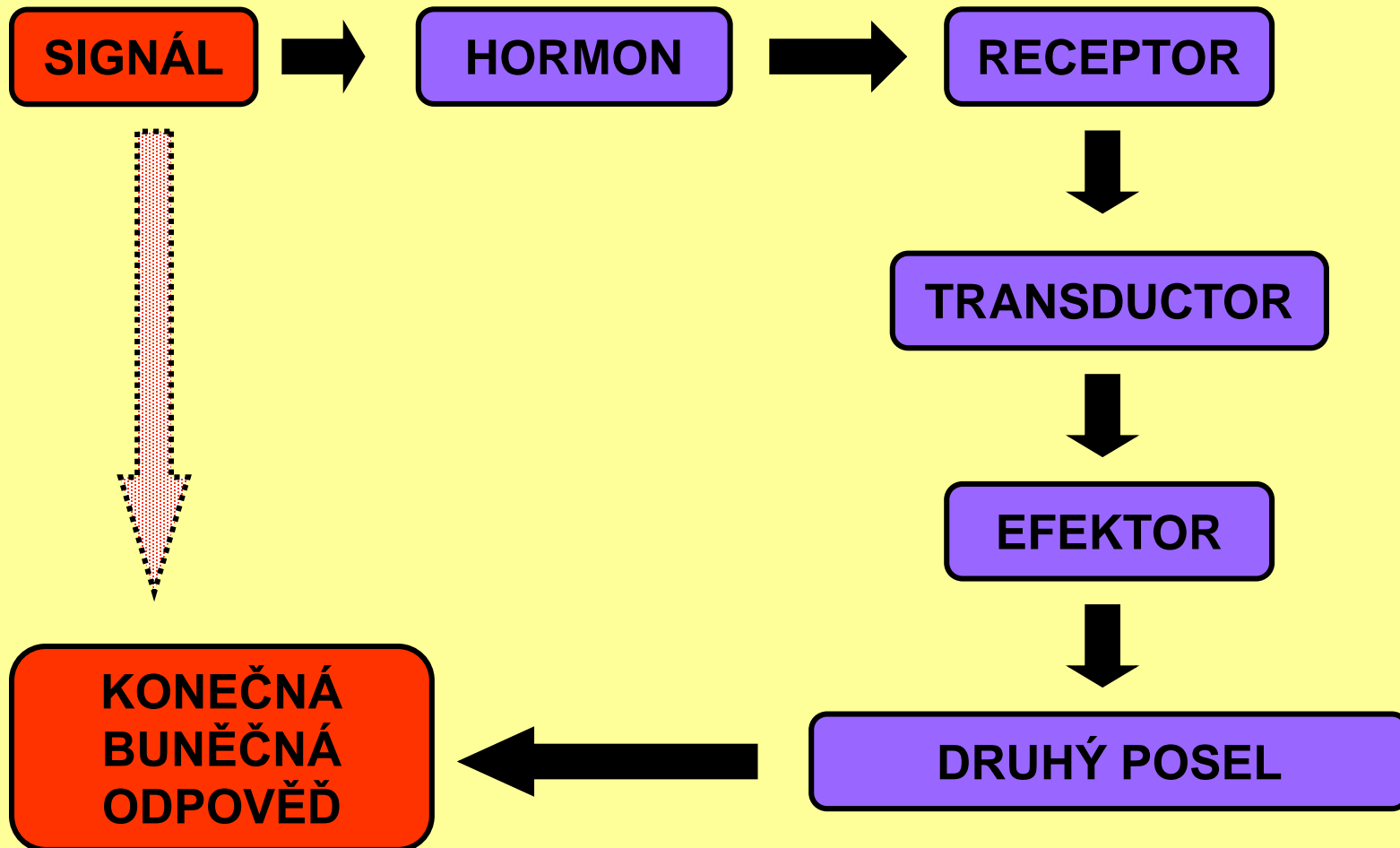
Přenos/transmise

CÍLOVÉ BUŇKY

HORMONY

- Syntetizovány ve specifických tkáních - **ENDOKRINNÍ ŽLÁZY**
- Secretovány přímo do **KREVNÍHO ŘEČIŠTĚ** a dopraveny na místo účinku
- Specificky mění **METABOLICKÉ AKTIVITY CÍLOVÝCH BUŇEK** (dálkově ze sekrečních orgánů)
- Aktivní ve velmi nízkých koncentracích (pM - μM)
- Rapidně metabolizované - **KRÁTKODOBÝ EFEKT**

PŘENOS SIGNÁLU



INTEGRATION AND CONTROL OF METABOLIC PROCESSES

Sensory inputs from the environment

CENTRAL NERVOUS SYSTEM

Hypothalamus

Primary target

Anterior pituitary

Posterior pituitary

Thyrotropin

Corticotropin

Somatotropin

Luteinizing hormone

Follicle Stimulating hormone

Prolactin

Vasopresin

Oxytocin

Secondary target

Thyroid

Adrenal cortex

Adrenal medula

Pancreatic Islet cells

Ovary

Testis

Thyroxine
Triiodo-thyronne

Cortisol
Corticosterone
Aldosterone

Epinephrine
Nor-epinephrine

Insulin
Glucagon
Somatostatin

Progesterone
Estradiol

Testosterone

Muscles
Liver

Many tissues

Liver
Muscles
Heart

Liver
Muscles

Reproductive organs

Mammary glands

Smooth Muscle;
Mammary glands

Arterioles

Ultimate target

BUNĚČNÁ SIGNALIZACE DLE MÍSTA PŮSOBENÍ

ENDOKRINNÍ

- Hormon je skretován žlázou s vnitřní sekrecí
- Hormon působí na jiný vzdálený orgán - přenos krevním řečištěm
- adrenalin, insulin, kortisol

PARAKRINNÍ

- Látka působí na bezprostřední vzdálenost - sousední buňky
- Přenos volnou difúzí
- eikosanoidy, cytokiny, neurotransmitery

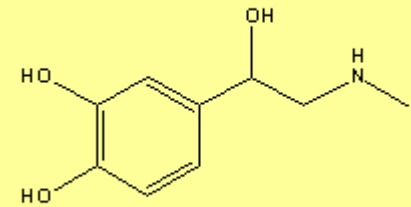
AUTOKRINNÍ

- Látka působí na stejnou buňku ve které byla vytvořena/sekretována
- neurotransmitery

KLASIFIKACE HORMONŮ PODLE STRUKTURY

1. Odvozené od aminokyselin

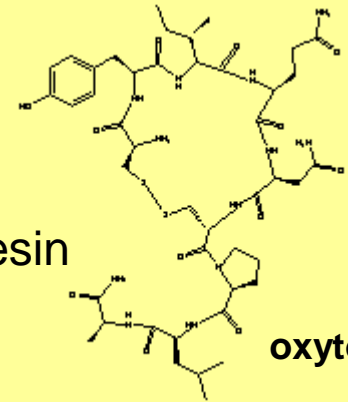
- epinefrin (adrenalin)
- nor-epinefrin
- thyroxin
- triiodthyronin



epinephrin

2. Peptidy a aminokyseliny

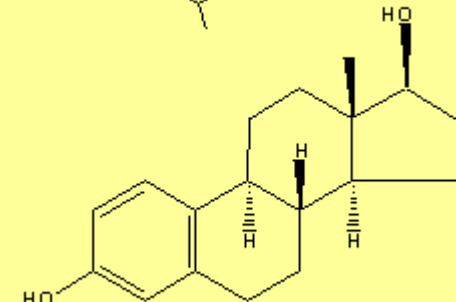
- insulin; glukagon
- liberiny; oxytocin; vasopresin
- ADH; ACTH



oxytocin

3. Steroidy

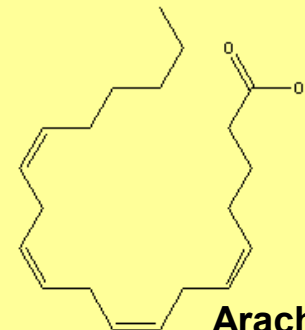
- kortisol; aldosteron
- progesteron; estradiol; testosteron



estradiol

4. Eikosanoidy

- prostaglandiny; leukotrieny
- prostacykliny; thromboxany



Arachidonová kys.

KLASIFIKACE HORMONŮ PODLE MECHANISMU ÚČINKU

1. Hormony NEPROCHÁZEJÍCÍ plasmatickou membránou cílové buňky

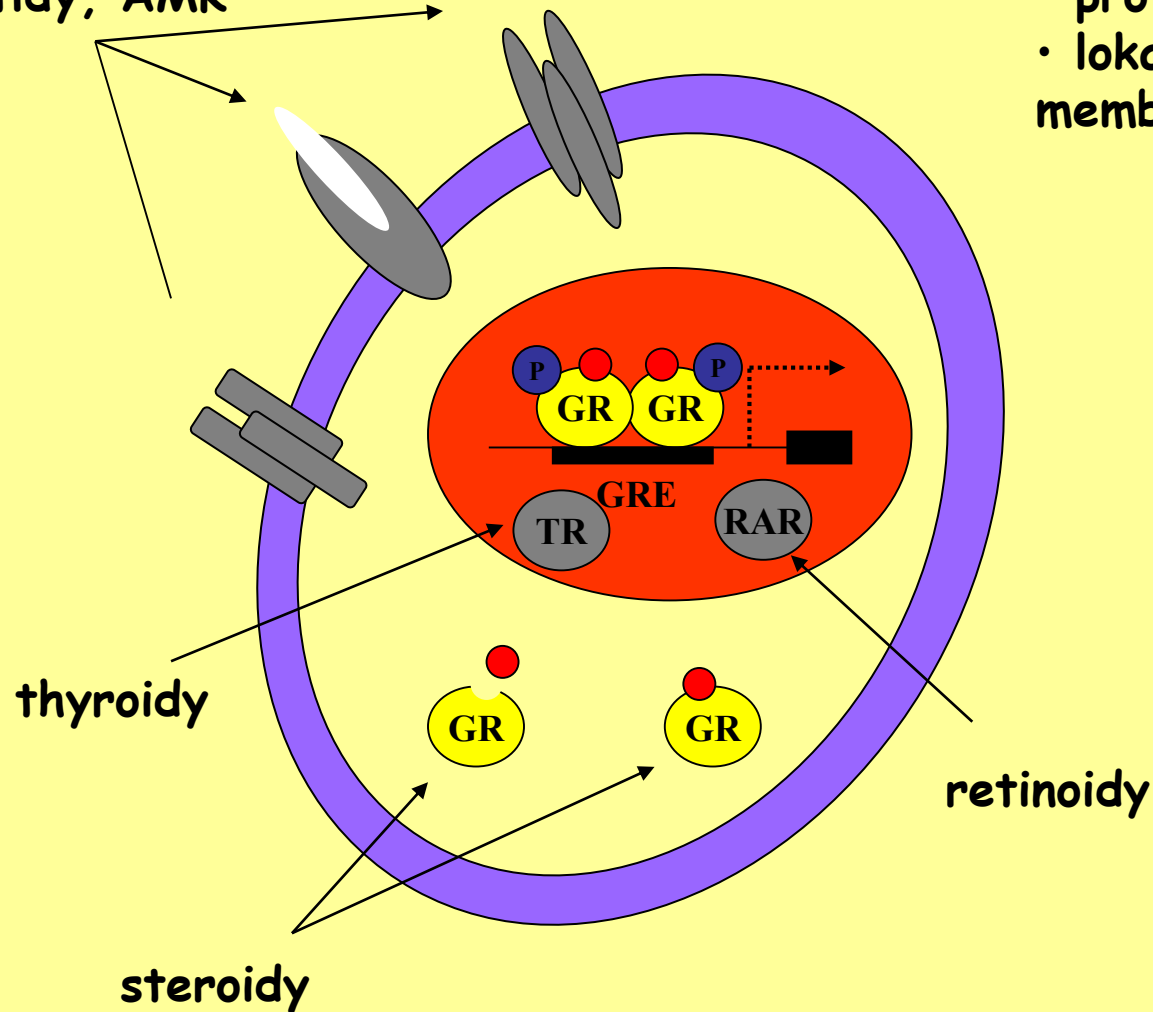
- aminokyseliny; peptidy
- hydrofilní sloučeniny
- vazba hormonu na RECEPTOR na BUNĚČNÉM POVRCHU
- Hormonální odezva uvnitř buňky - změny v AKTIVITĚ klíčových proteinů/enzymů
- ÚČINEK PŘES:
 - druhé posly
 - aktivace enzymů v cytosolické doméně receptoru
 - otevírání iontových kanálů
- KRÁTKODOBÝ účinek; SUPERRYCHLÁ odpověď

2. Hormony PROCHÁZEJÍCÍ plasmatickou membránou cílové buňky

- steroidní a thyroïdní hormony (+ retinoidy a rexinoidy)
- lipofilní sloučeniny
- vazba hormonu na INTRACELULÁRNÍ RECEPTOR
- Komplex HORMON-RECEPTOR se váže na DNA a spouští TRASKRIPCI
Specifických genů - změny v HLADINÁCH klíčových proteinů/enzymů
- DLOUHODOBÝ ÚČINEK; POMALÁ odpověď

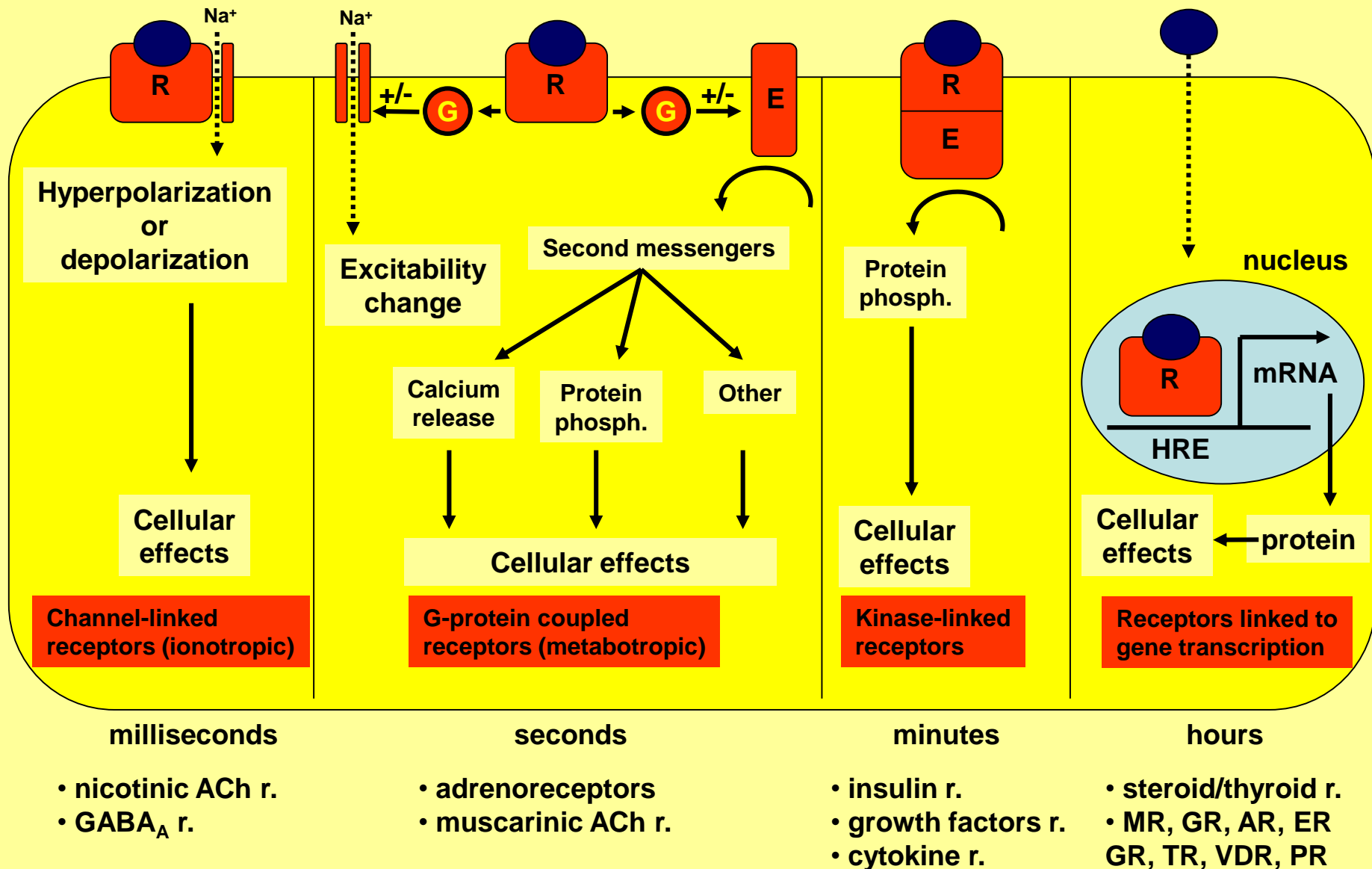
RECEPTORY

Peptidy, AMK



- proteiny
- lokalizované v plasmatické membráně nebo uvnitř buňky

TYPY RECEPTORŮ



SUBTYPY RECEPTORŮ

- exprese různých receptorových subtypů s různou afinitou k různým ligandům je příčinou tkáňově specifického účinku ligandů
- zvýšená hustota receptorů = zvýšená buněčná odpověď

ADRENERGNI RECEPTORY

$\alpha 1$ – spojené s fosfatidylinositolovou kaskádou

$\alpha 2$, $\beta 1$, $\beta 2$ – spojené s adenylátcyklosovou kaskádou

$\alpha 1$ – slinná žláza

$\alpha 2$ – pankreatické β -buňky

- sval

$\beta 1$ – srdce

- adipocyt

$\beta 2$ – játra

↑ K^+ ; ↑ H_2O sekrece

↓ sekrece

↑ glykogenolýza

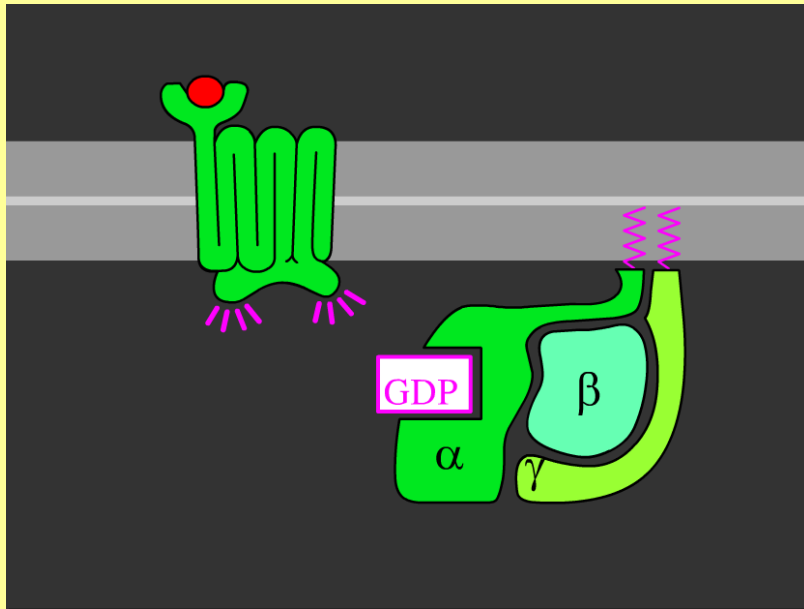
↑ tep; síla kontrakce

↑ lipolýza

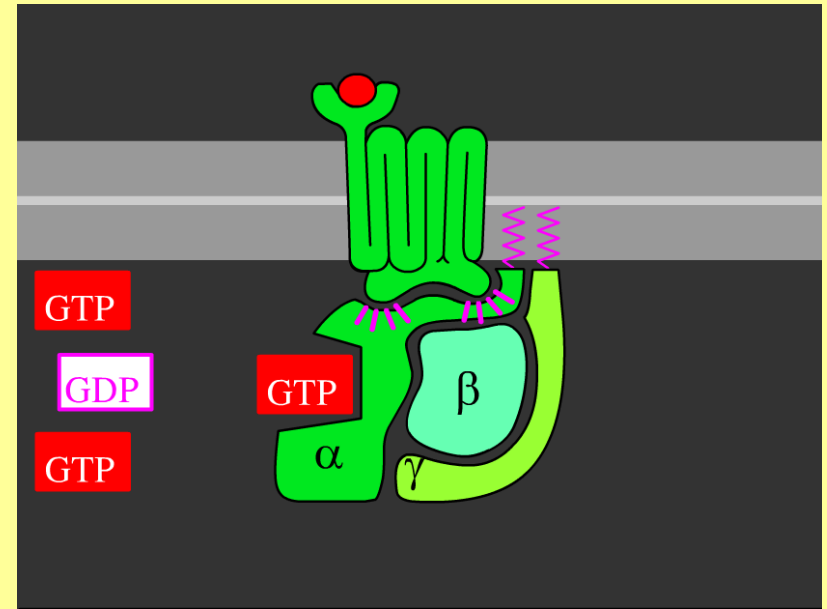
↑ glykogenolýza

GTP- vázající proteiny = G - proteiny

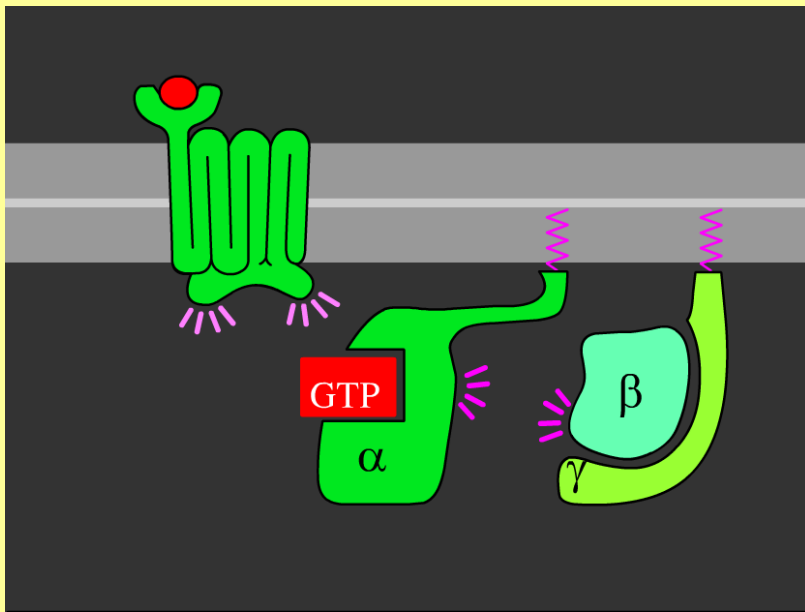
- guanyl-nukleotidové proteiny
- **TRANSDUCTORY** = převod excitačního signálu z **RECEPTORU** na **EFFECTOR** v plasmatické membráně
- periferní membránové proteiny (umístěné na cytosolické straně)
- **TRIMER** = skládá se z α , β a γ podjednotek
- α podjednotka je vazebné místo pro **GDP/GTP**; **GTPasová** aktivita



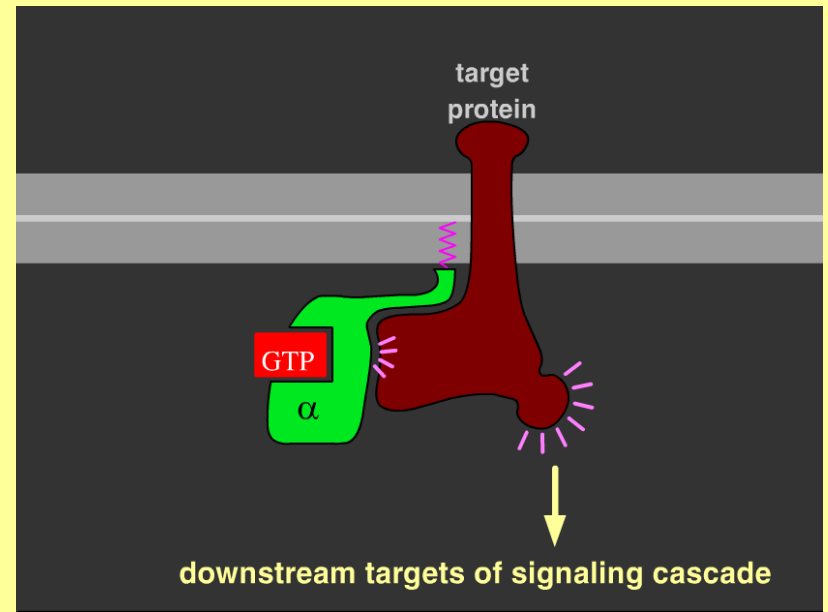
- velká ligand-vazebná extracellulární doména
- tvorba komplexu hormon-receptor
- konformační změna receptoru
- převod signálu dovnitř do buňky



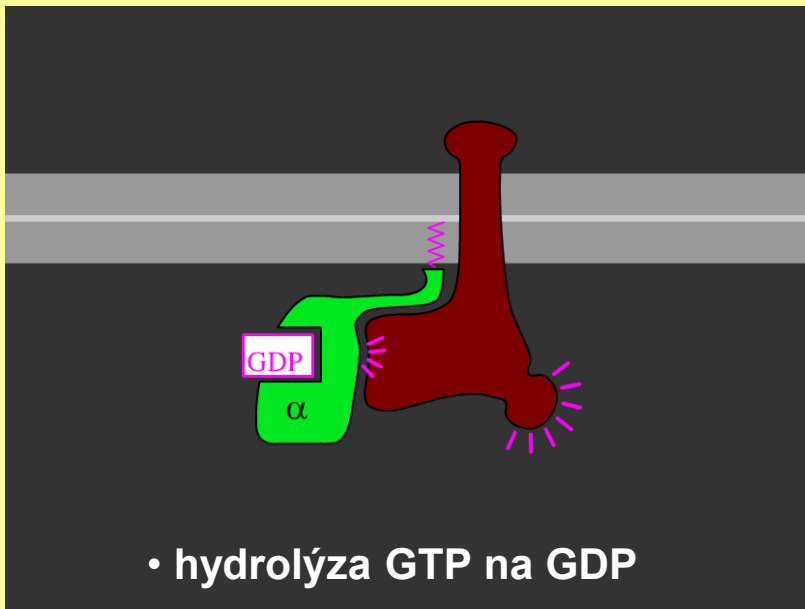
- receptor interaguje s G-proteinem
- výměna GDP za GTP v α -podjednotce



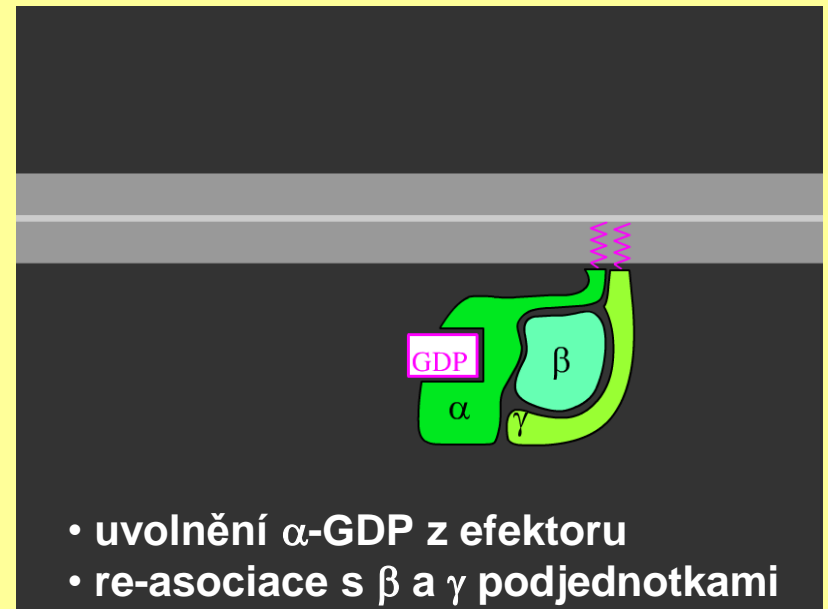
- uvolnění α -(GTP) podjednotky



- aktivace efektoru



- hydrolýza GTP na GDP



- uvolnění α -GDP z efektoru
- re-asociace s β a γ podjednotkami

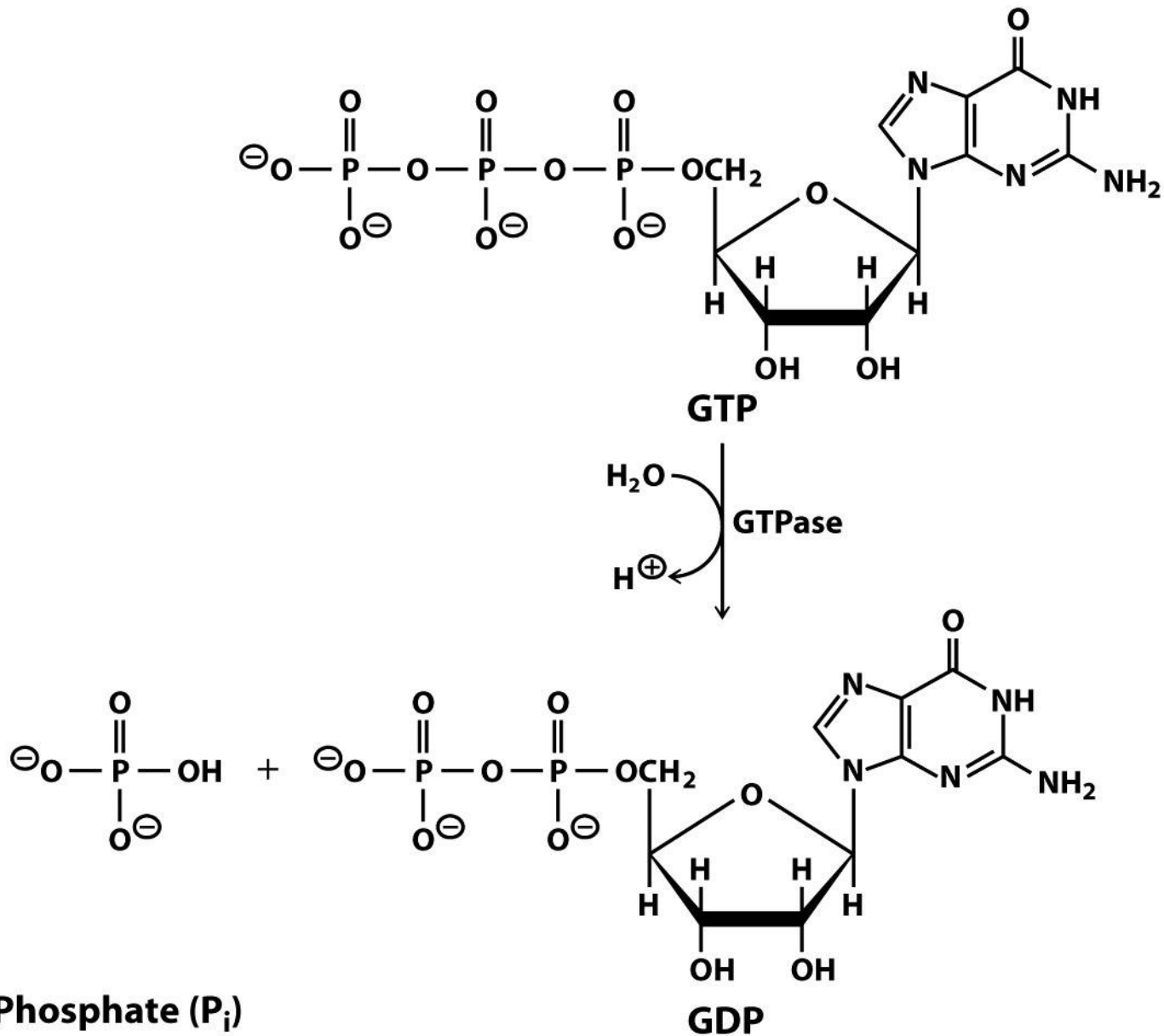


Figure 9-38 Principles of Biochemistry, 4/e
 © 2006 Pearson Prentice Hall, Inc.



• Inhibice GTPasové aktivity α -GTP podjednotky vede k ireversibilní aktivaci efektoru a následně k nekontrolovatelné buněčné odpovědi

• Příklad: *Vibrio cholerae* toxin inhibuje GTPasovou aktivitu v enterocytech, což vede k permanentní aktivaci efektoru (adenylát cyklasy). Výsledkem je, že sekrece Na^+ a H_2O je nekontrolovatelná a dochází k dehydrataci organismu.

Stimulus	Receptor	G-prot.	Efektor	Odpověď
Epinefrin	β -adrenergní r.	G_s	Adenylát cyklasa	Degradace glykogenu
Serotonin	Serotoninový r.	G_s	Adenylát cyklasa	Behaviorální sensitizace
Světlo	Rhodopsinový		TransducincGMP PD	Vizuální excitace
IgE-antigen komplex	Mast cell IgE r.	G_{PLC}	Fosfolipasa C	Sekrece
f-Met peptid	Chemotaktický r.	G_{PLC}	Fosfolipasa C	Chemotaxe
Acetylcholin	Muskarinový r.	G_k	Draslíkový kanál	Zpomalení pacemaker aktiv.

SECOND MESSENGERS

- druzí poslové
 - amplifikace vnitrobuněčných signálů - produkty aktivovaných efektorů
 - malé molekuly nebo ionty - allosterické efektory
-
- cAMP - cyklický adenosinmonofosfát
 - cGMP - cyklický guanosinmonofosfát
 - DAG - 1,2-diacylglycerol
 - IP3 - inositol-1,4,5-trifosfát
 - Ca²⁺ - vápník (volný nebo vázaný na kalmodulin)

SYSTÉMY PRO PŘENOS SIGNÁLU

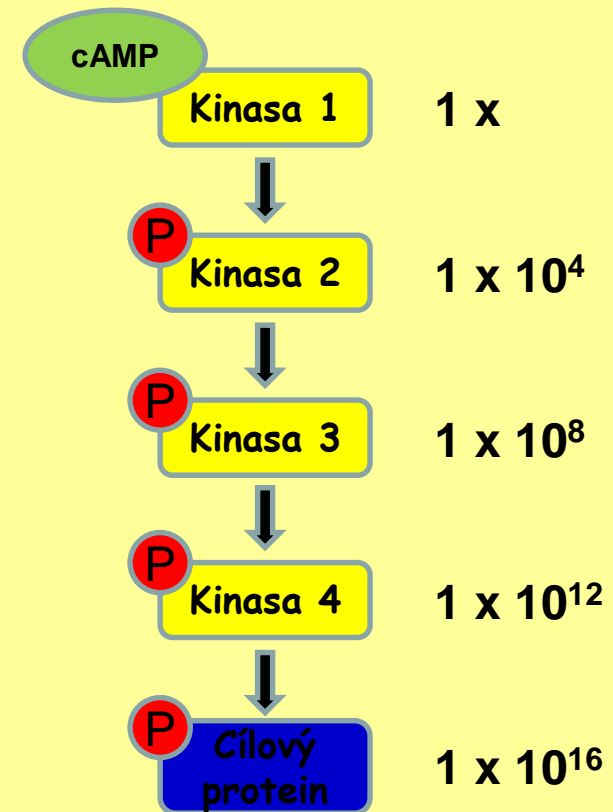
- ADENYLÁT CYKLASOVÝ systém
- FOSFATIDYLINOSITOLOVÝ systém
- TYROSIN KINASOVÝ systém
- GUANYLÁT CYKLASOVÝ systém
- SIGNALIZACE STEROIDY/THYROIDY/RETINOIDY

ADENYLÁT CYKLASOVÝ (AC) SYSTÉM

- druhým poslem je cyklický adenosin monofosfát (cAMP)
- cAMP je allosterický aktivátor proteinkinasy
- aktivované proteinkinasy fosforylují cílové proteiny
- často další kinasy
- amplifikace signálu!!!
- fosforylace proteinů (enzymů)
= změněná funkce = buněčná odpověď

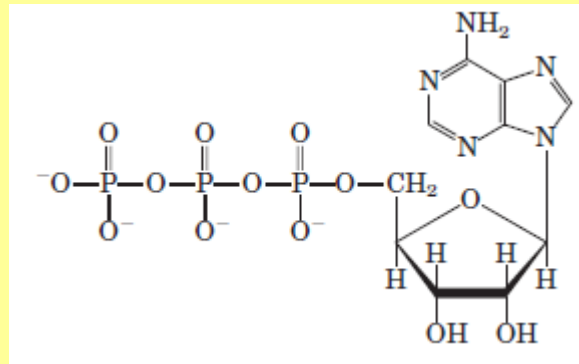
Účinky cAMP

- ↑ degradace energetických zásob
- ↑ sekrece HCl žaludeční sliznicí
- ↓ agregace krevních destiček

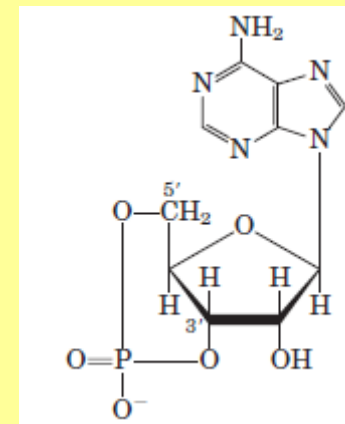
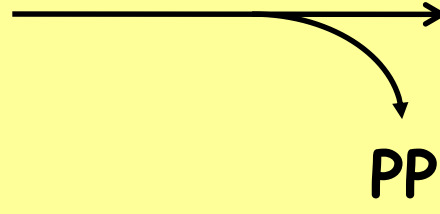


SYNTHESA cAMP

- výchozí látkou je adenosin trifosfát - ATP
- v reakci katalyzované ADENYLÁT CYKLASOU vzniká cyklický adenosin monofosfát - cAMP a uvolní se voda

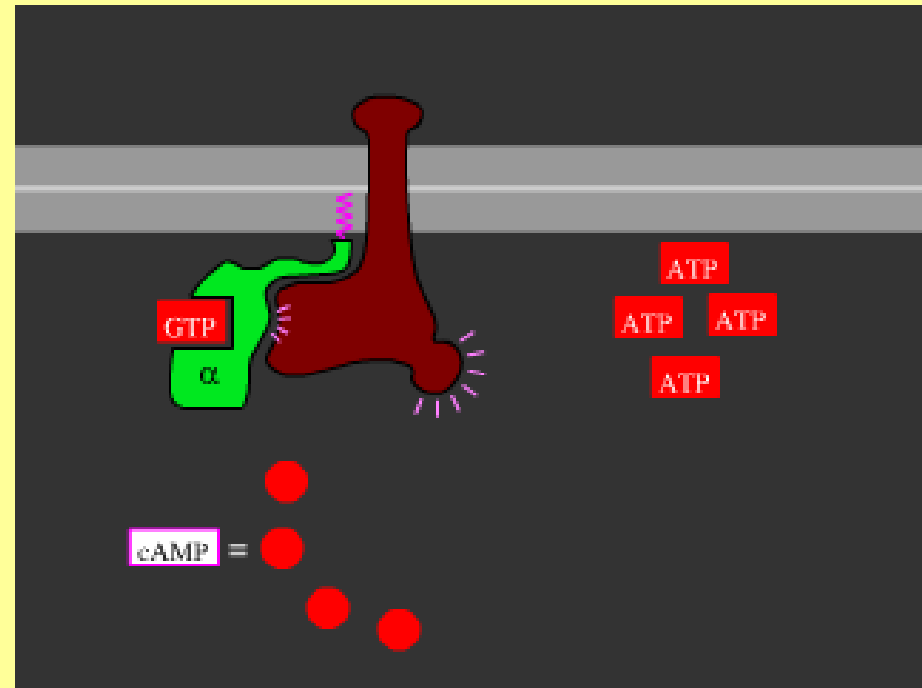
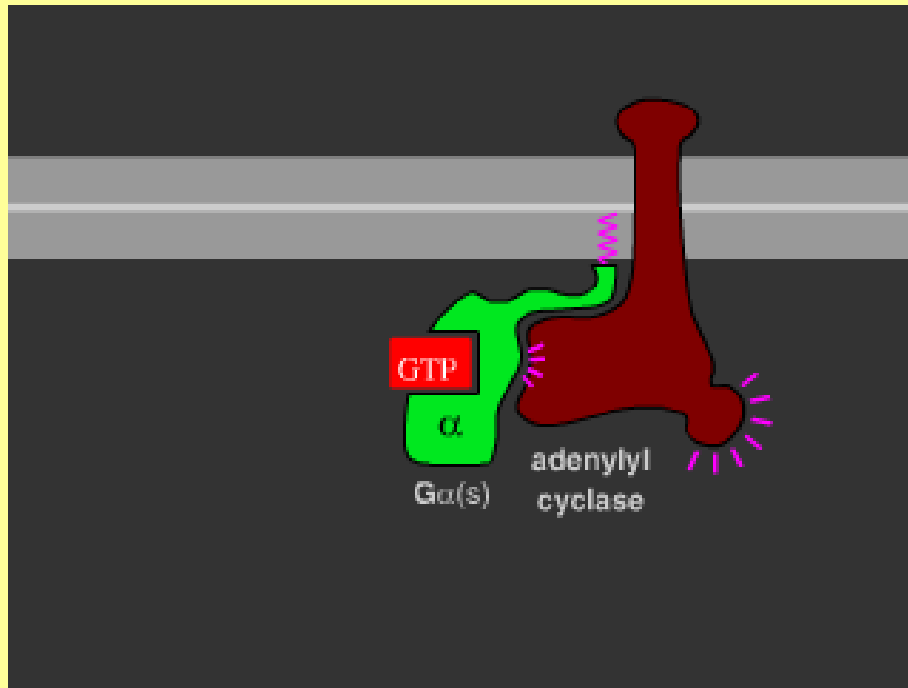


ATP



cAMP

ADENYLÁT CYKLASOVÝ (AC) SYSTÉM

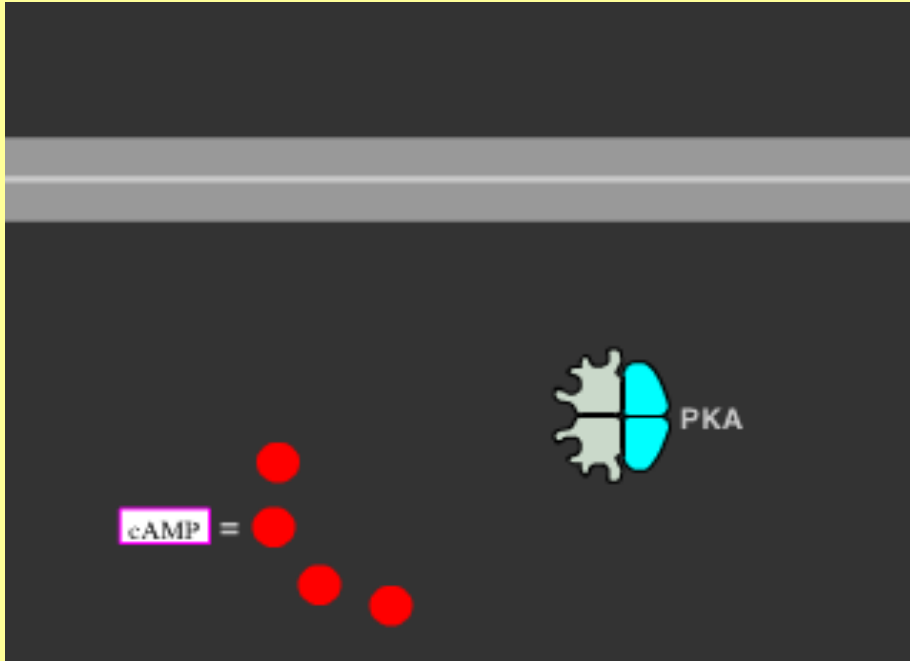


- AC je aktivovaná přes G-protein
- efektor = membránová AC

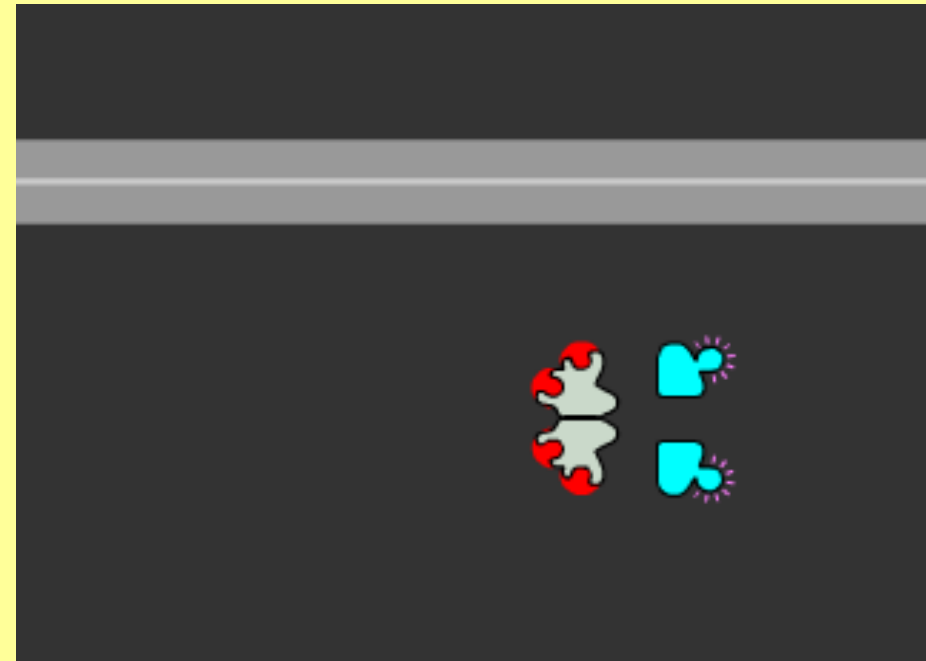
- AC přeměňuje ATP na cAMP
- nárůst cytosolického cAMP
- cAMP je druhý posel

Alberts et al: Molecular biology of the cell, 4th Edition

cAMP AKTIVUJE PROTEIN KINASU A



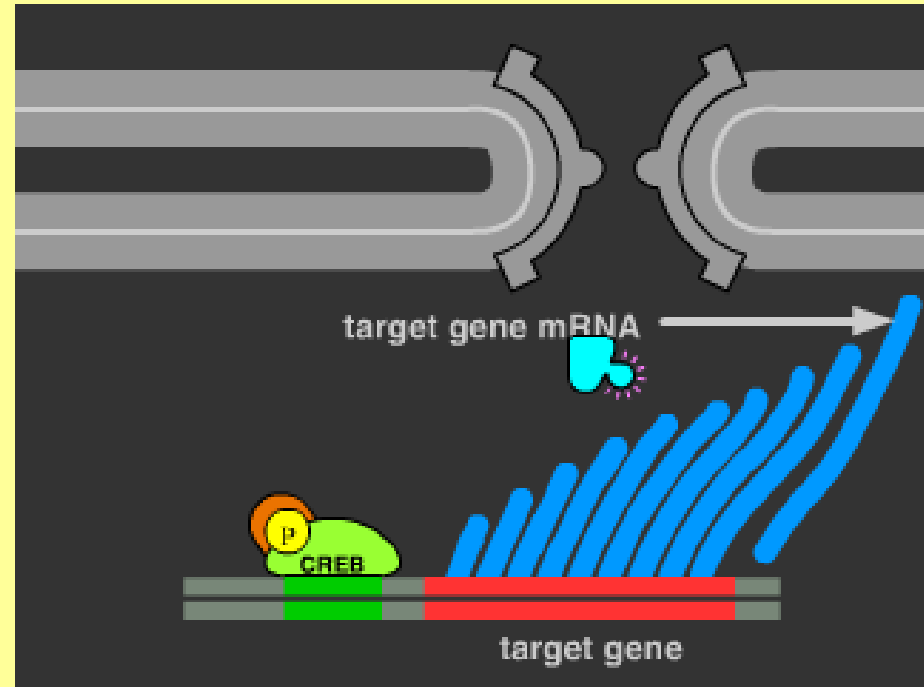
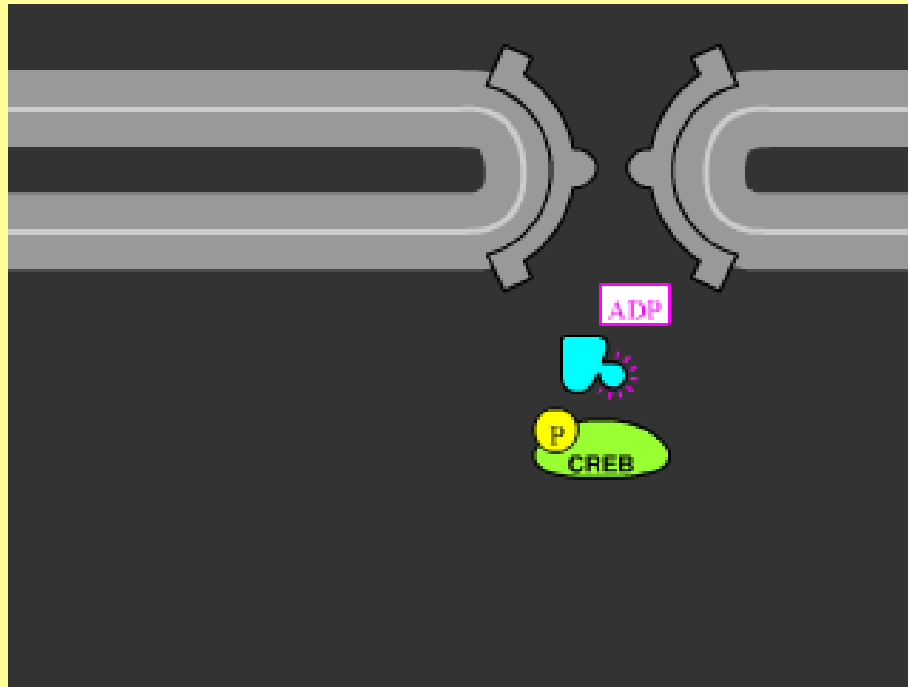
- Protein kinasa A (PAK) se skládá ze 2 katalytických a 2 regulačních podjednotek
- cAMP se váže na regulační podjednotky



- po navázání cAMP dochází k disociaci heterotetrameru PKA
- následně se uvolňují aktivní podjednotky PKA

Alberts et al: Molecular biology of the cell, 4th Edition

PKA FOSFORYLUJE DOWN-STREAM CÍLE - PROTEINY



- PKA fosforyluje cytosolické proteiny
- PKA může vstoupit do jádra a fosforilovat transkripční faktory

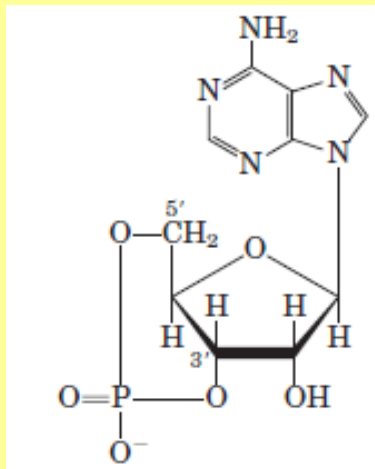
- fosforilované transkripční faktory recrutují transkripční ko-aktivátory
- spuštění genové exprese

<https://www.youtube.com/watch?v=iGb93jCKVXs>

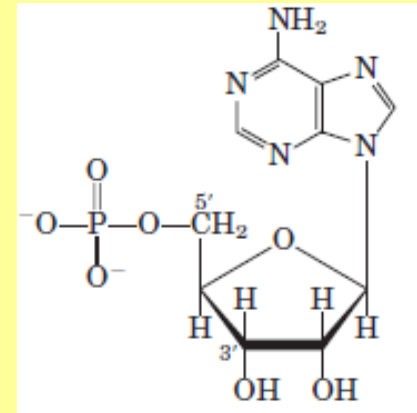
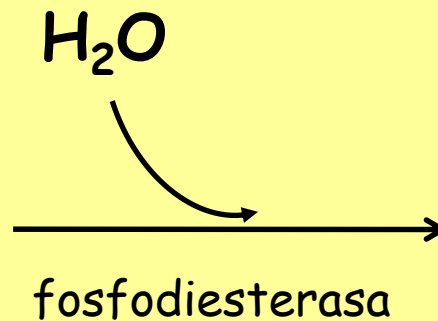
Alberts et al: Molecular biology of the cell, 4th Edition

DEGRADACE cAMP

- produktem degradace cAMP je AMP
- reakce je katalyzována FOSFODIESTERASOU
- různá tkáňová distribuce fosfodiesteras a subtypy
- terapeutické využití inhibice fosfodiesterasy
- typickým inhibitorem je kofein - prodlouží účinek epinefrinu na kardiovaskulární systém (EPI působí přes β 2-adrenergní receptory spojené s G-proteiny a AC)



cAMP



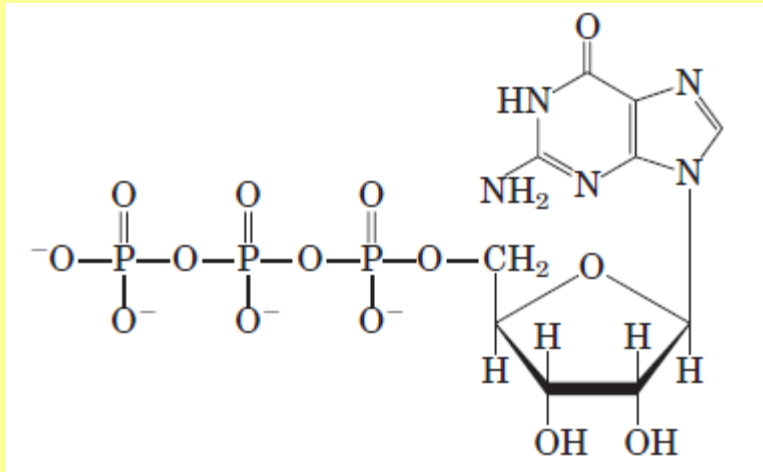
AMP

Hormony využívající AC systém a cAMP jako druhého posla

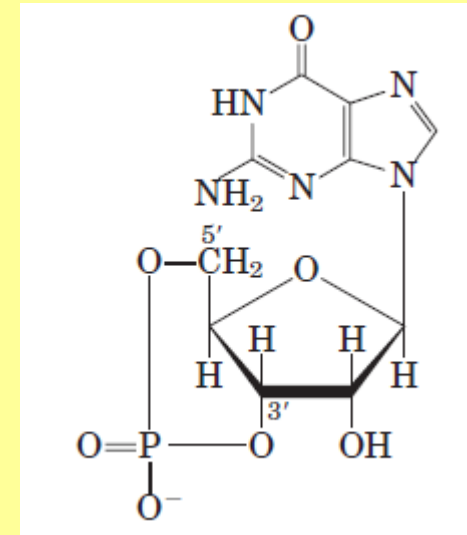
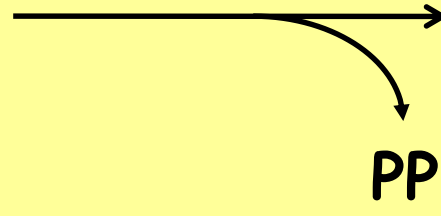
- Kalcitonin
- Choriový gonadotropin
- Kortikotropin
- Epinefrin
- Follicle-stimulating hormon
- Glukagon
- Luteinizující hormon
- Nor-epinefrin
- Lipotropin
- Melanocyty-stimulující hormon
- Parathyroidní hormon
- Thyroidy-stimulující hormon
- Vasopresin

GUANYLÁT CYKLASOVÝ SYSTÉM

- druhým poslem je cyklický guanosin monofosfát - *cGMP*
- výchozí látkou je guanosin trifosfát *GTP* a reakce je katalyzována guanylát cyclasou



GTP



cGMP

- *cGMP* má v různých tkáních různou funkci
- v ledvinách a ve střevě řídí výměnu iontů a zadržování vody
- v srdci způsobuje relaxaci hladkého svalstva
- v mozku je pravděpodobně zapojen do vývoje a do funkce dospělého mozku

GUANYLÁT CYKLASOVÝ SYSTÉM

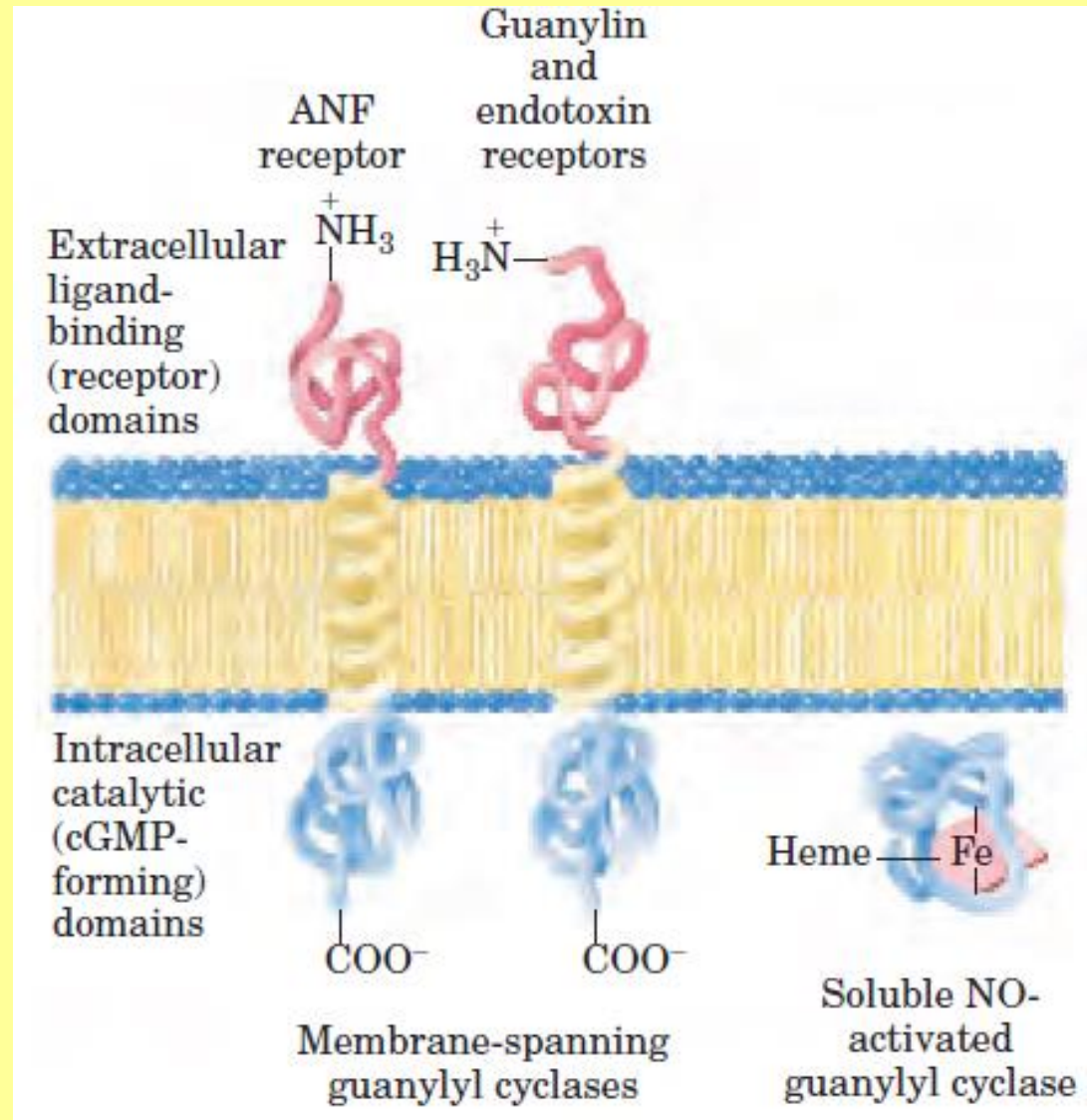
Membránová forma GC

- single transmembrane domain
- srovnej s 12 TM u AC)
- enzyme-linked receptor
- srovnej s GPCR u AC)

Cytosolická forma GC

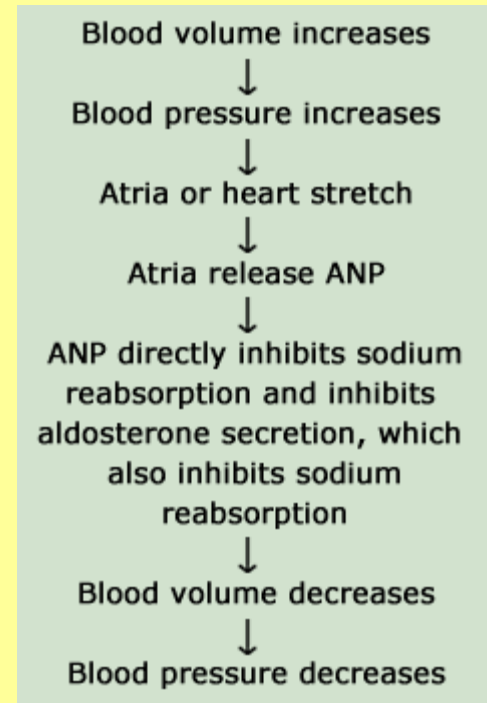
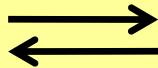
- soluble form
- allosterická aktivace

Lehningers Biochemistry 4th Edition, 2005



MEMBRÁNOVÁ GC - LEDVINY, SRDCE

- GC v ledvinách je aktivována hormonem „atrial natriuretic factor = ANF“
- ANF je uvolněn v srdeční síni (atrium), když je srdce roztažené zvýšeným objemem krve
- ANF je následně krevním řečištěm dopraven do ledvin, kde aktivuje GC ve sběrných kanálcích
- po aktivaci GC dojde k nárůstu cGMP, který spustí zvýšenou exkreci Na^+ a následně vody
- ztráta vody vede k poklesu objemu krve, čímž vymizí stimulus, který vedl k sekreci ANF
- hladká svalovina cév rovněž obsahuje ANF receptor, a ANF tak působí relaxaci (vasodilataci) krevních cév, čímž se zvýší průtok krve a sníží krevní tlak



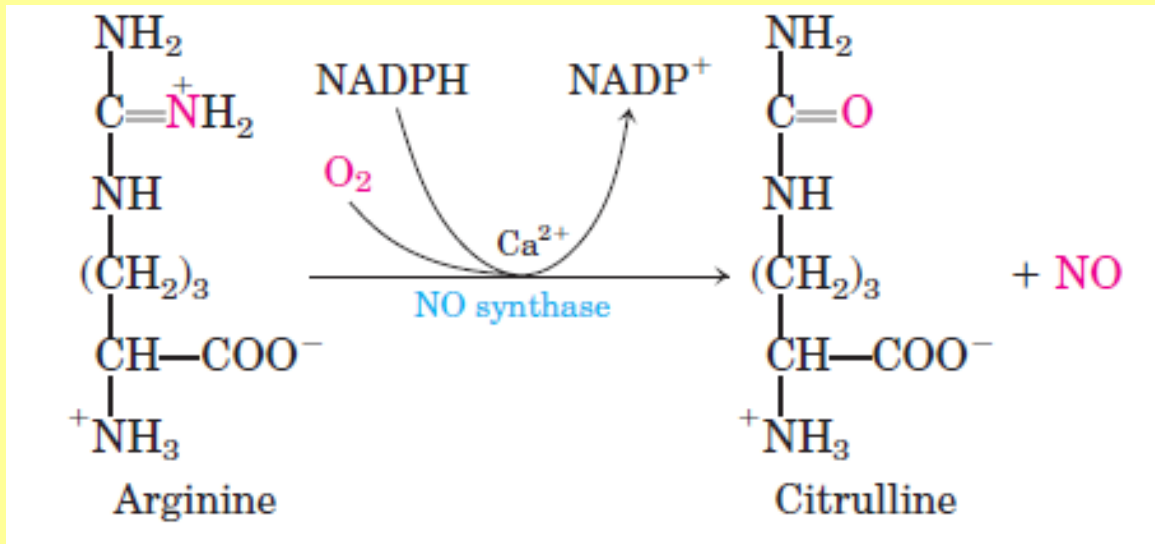
MEMBRÁNOVÁ GC - STŘEVO

- GC v plasmatické membráně střevních epiteliálních buněk je aktivována intestinálním peptidem guanylinem, který reguluje sekreci Cl^- iontů ve střevě
- tento receptor je rovněž cílem pro termostabilní endotoxin produkovaný *Escherichia coli* a dalšími gram-negativními bakteriemi
- nárůst koncentrace cGMP v důsledku působení endotoxinu způsobí zvýšení sekrece Cl^- iontů a následně snížení resorpce vody střevním epitelem
- výsledkem je průjem!



CYTOSOLICKÁ GC

- cytosolická (soluble) GC je protein pevně asociovaný s hemovou skupinou
- cytosolická GC je enzym aktivovaný vazbou oxidu dusnatého - NO
- NO je produkován Ca^{2+} -dependentní NO-synthasou z argininu



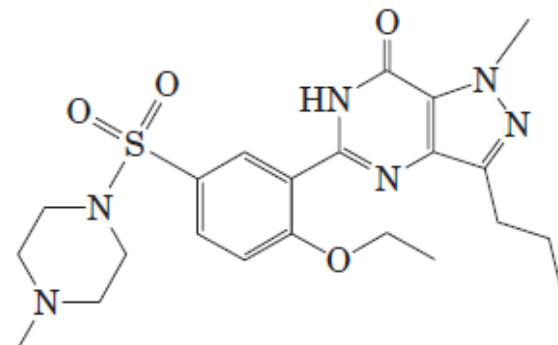
- NO-synthasa je přítomná v mnoha tkáních
- NO je dostatečně nepolární a volně difunduje přes buněčnou membránu bez transporterů

Lehningers Biochemistry 4th Edition, 2005

CYTOSOLICKÁ GC



- NO se v cílové buňce váže na hemovou skupinu GC a spouští produkci cGMP
- v srdci snižuje cGMP sílu kontrakce stimulací iontové pumpy exportující Ca^{2+} ionty z cytosolu
- NO má vazodilatační účinek
- obdobný mechanismus (působení NO) u nitrátů - nitroglycerin v léčbě anginy pectoris - poprvé popisovali zaměstnanci v továrnách na výrobu výbušnin, že projevy anginy pectoris byly přes týden utlumeny a objevovaly se o víkendech - takto byl objeven lék!!!
- působení cGMP je ukončeno působením specifické fosfodiesterasy PDE
- v lidském organismu jsou různé isoformy PDE s různou tkáňovou a orgánovou distribucí
- isoforma PDE v cévách penisu je inhibována sildenafilem (Viagra)
- Viagra způsobí, že hladina cGMP zůstane zvýšena, jakmile jednou vzroste po vhodném stimulu - princip využití v léčbě erektilní dysfunkce

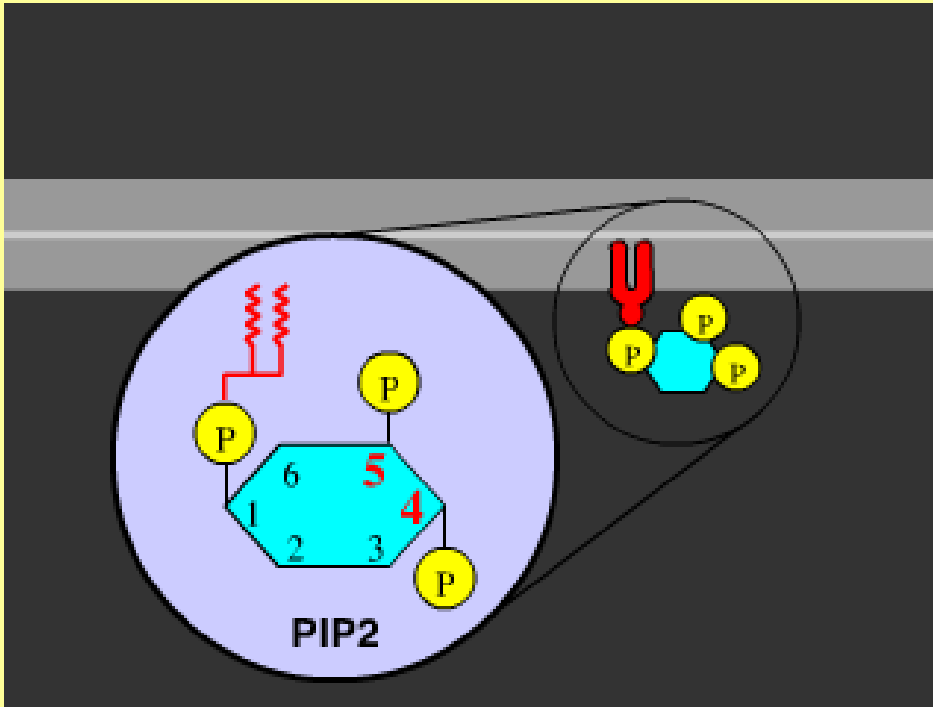


Sildenafil (Viagra)

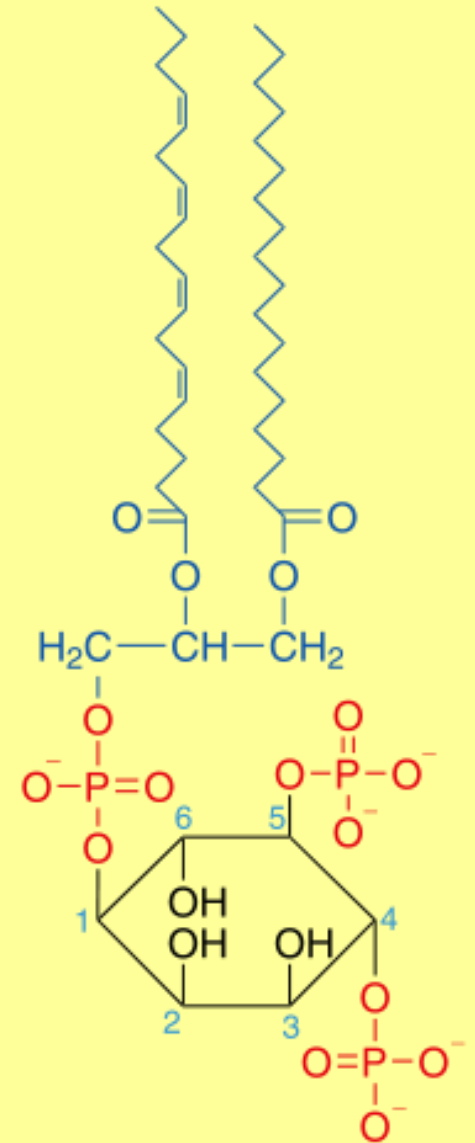
FOSFATIDYLINOSITOL FOSFÁTOVÝ SYSTEM (PIP)

- využívá dva druhé posly
- IP3 = inositol-1,4,5-trifosfát
- DAG = 1,2-diacylglycerol
- v signální dráze se účastní Ca^{2+} ionty – „*třetí posel*“
- „*end point*“ kaskády je aktivace protein kinasy C (PKC)
- PKC fosforyluje různé cílové proteiny - enzymy, receptory, transkripční faktory, transportery
- ovlivnění metabolických dějů, homeostazy, genové exprese

PIP2

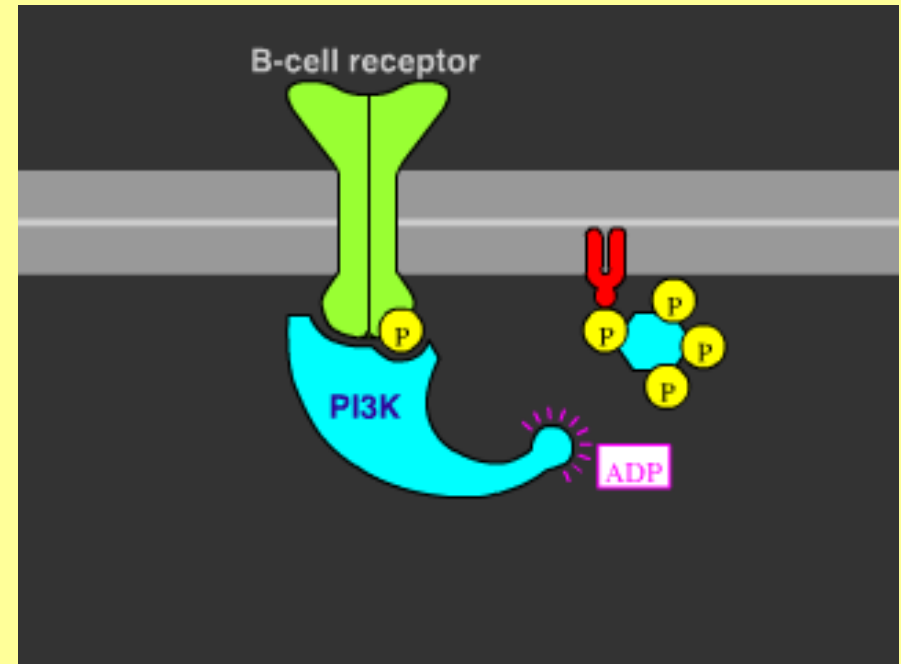
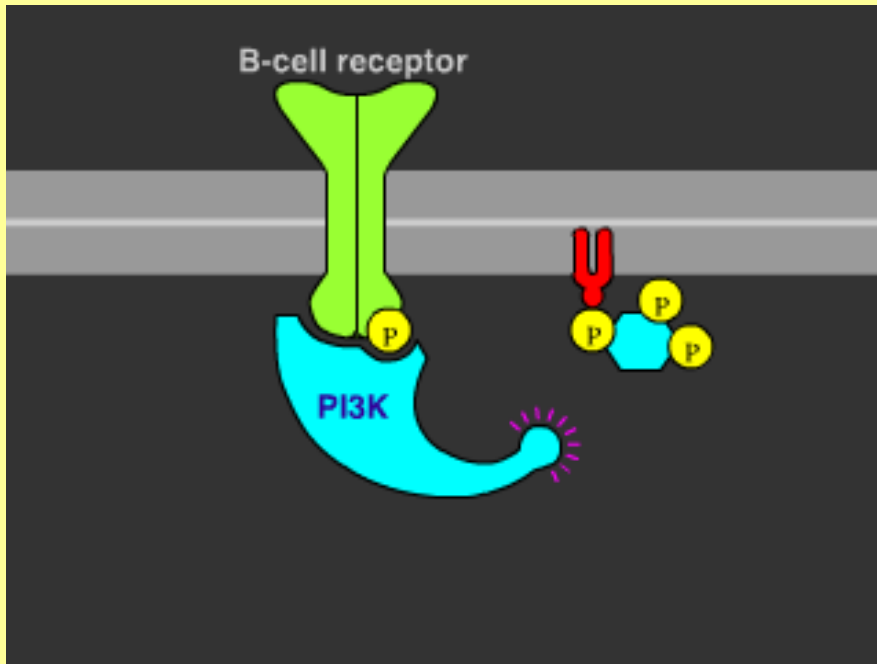


- hlavní signální molekula je fosfatidylinositol-4,5-bis-fosfát (PIP2)



Alberts et al: Molecular biology of the cell, 4th Edition

FOSFORYLACÍ PIP2 VZNIKÁ PIP3

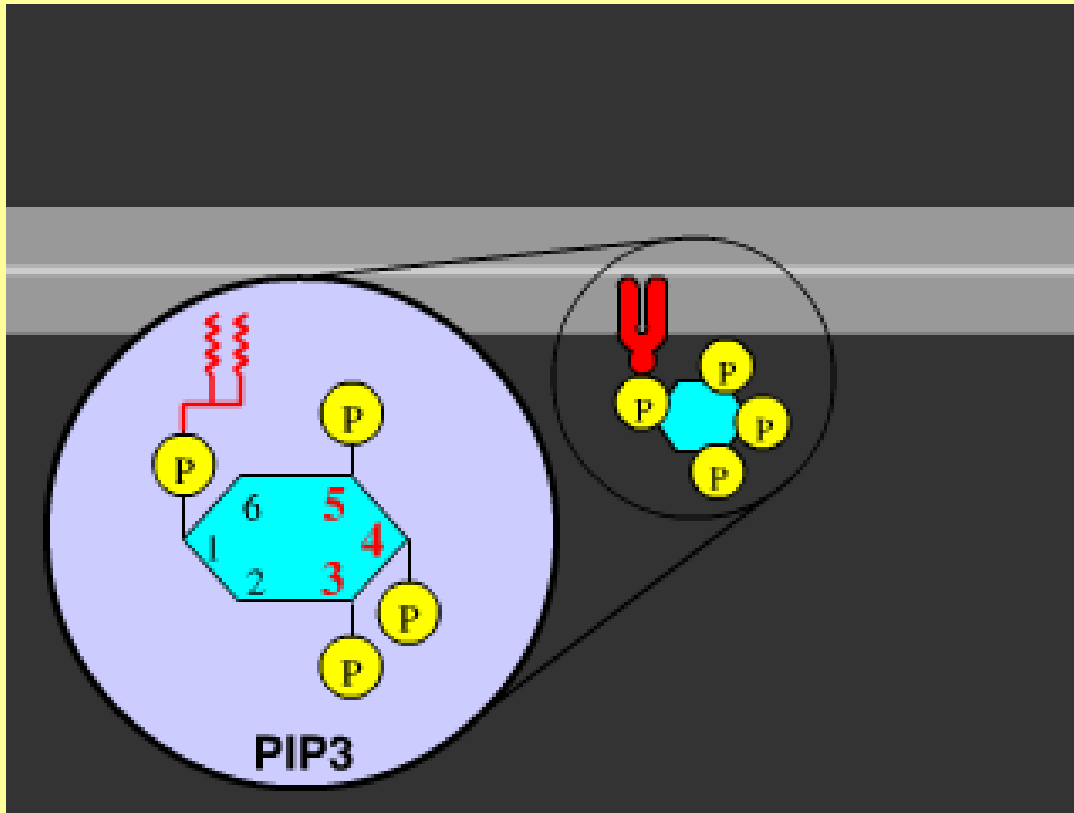


- membránový receptor je aktivován vazbou ligandu a přenáší signál přes membránu
- aktivace efektoru - PI3 kinasy
- fosfoinositine-3-kinasa

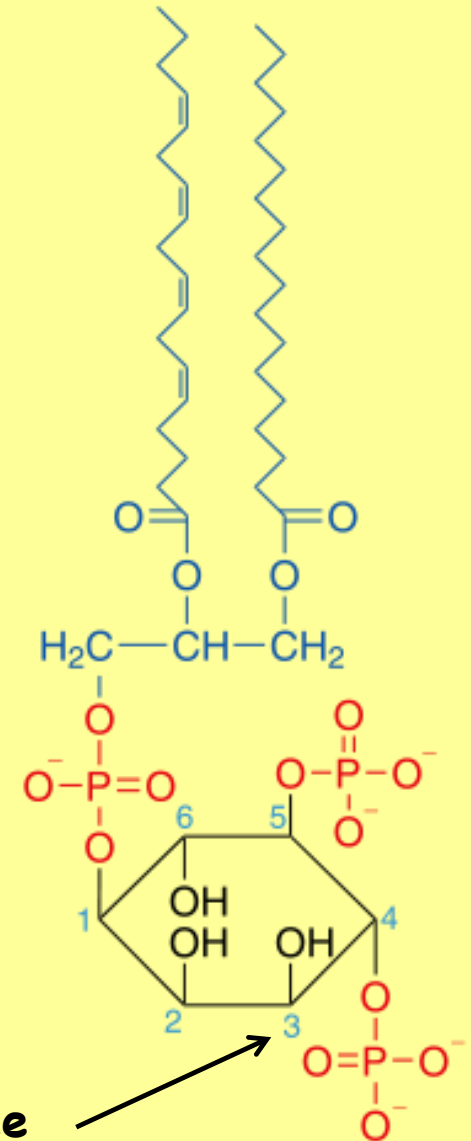
- PI3 kinasa fosforyluje PIP2 v poloze „3“ za vzniku PIP3
- fosfatidylinositol-3,4,5-trisfosfát

Alberts et al: Molecular biology of the cell, 4th Edition

FOSFORYLACÍ PIP2 VZNIKÁ PIP3



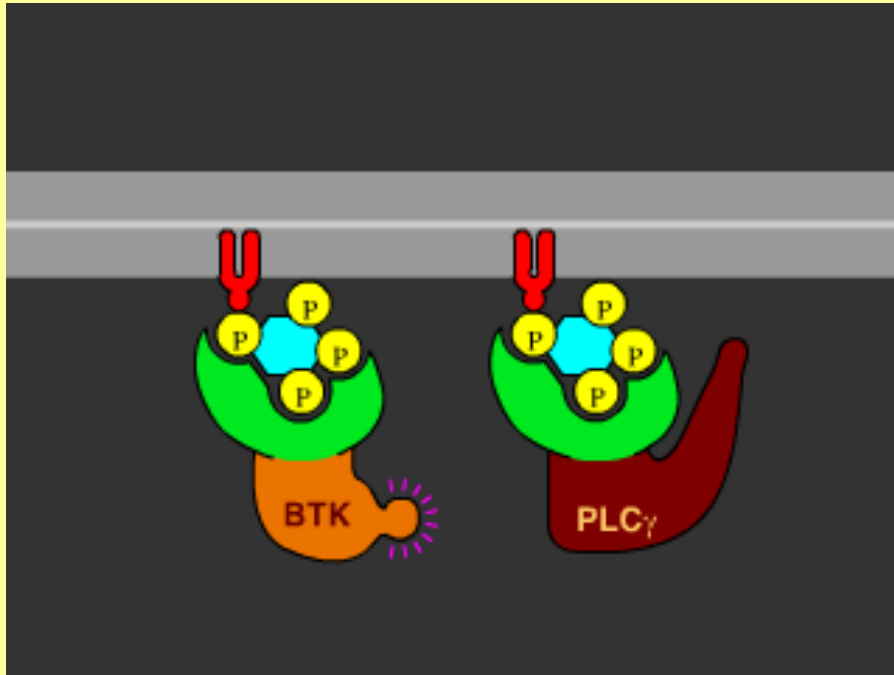
- fosfatidylinositol-3,4,5-tris-fosfát (PIP3)



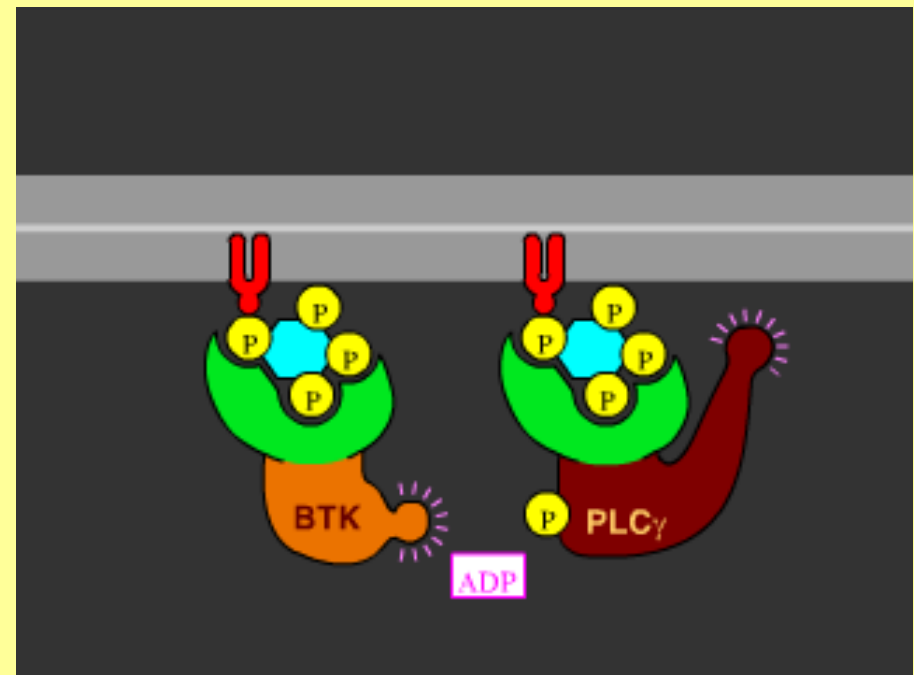
fosforylace

Alberts et al: Molecular biology of the cell, 4th Edition

PIP3 AKTIVUJE ENZYMY



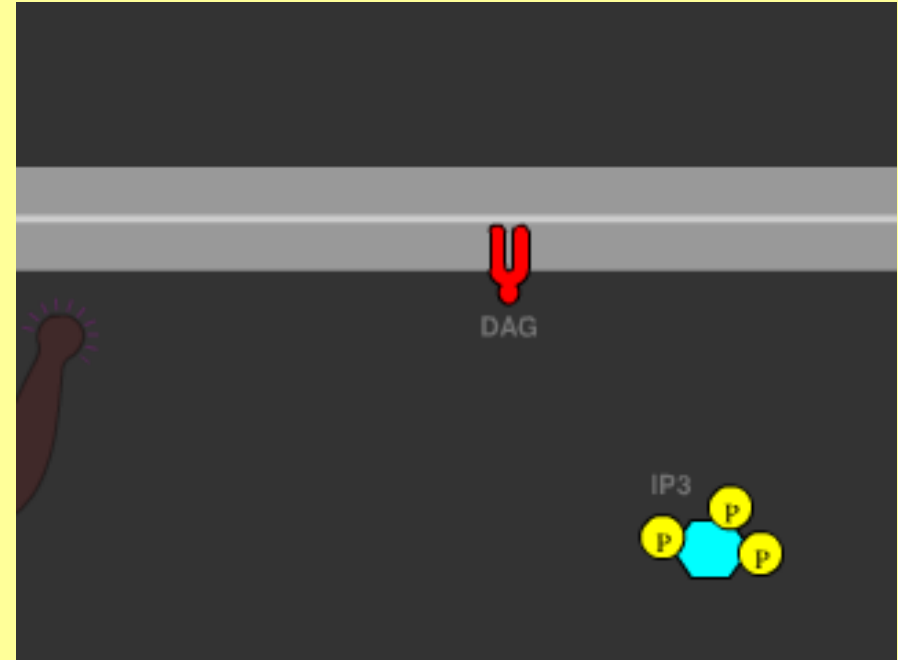
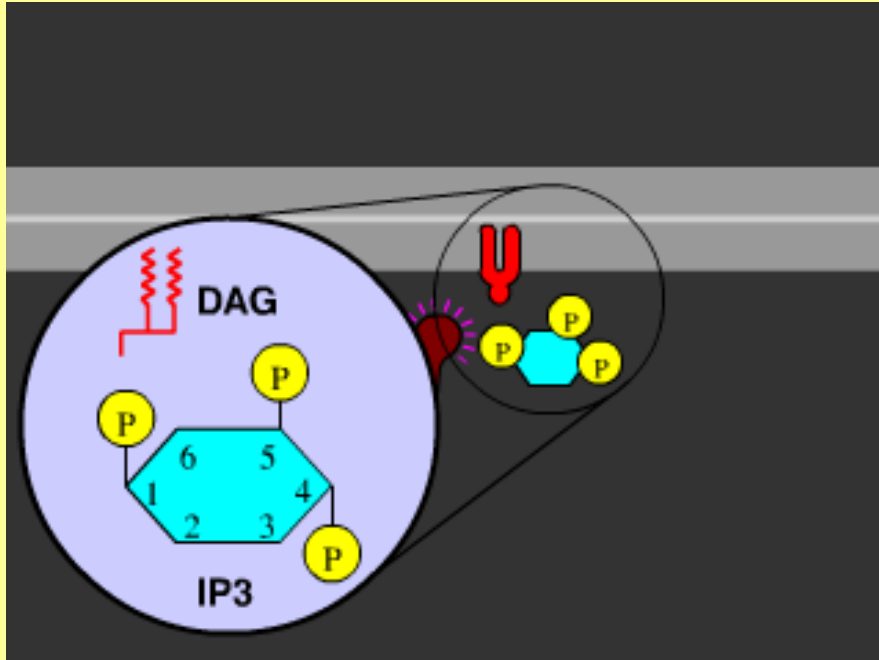
- PIP3 recrútuje tyrosinkinasu (BTK) a fosfolipasú C (PLC)



- BTK fosforyluje PLC
- PLC je aktivovaná

Alberts et al: Molecular biology of the cell, 4th Edition

PLC ŠTĚPÍ PIP2 - VZNIK IP3 A DAG

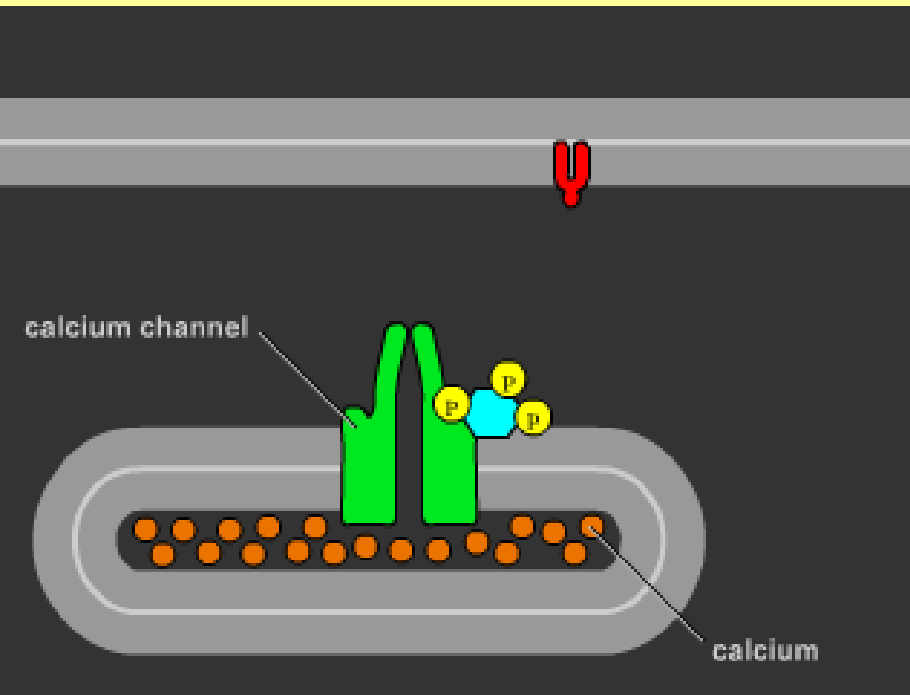


- aktivovaná PLC štěpí PIP2
- vznikají 2 druží poslové

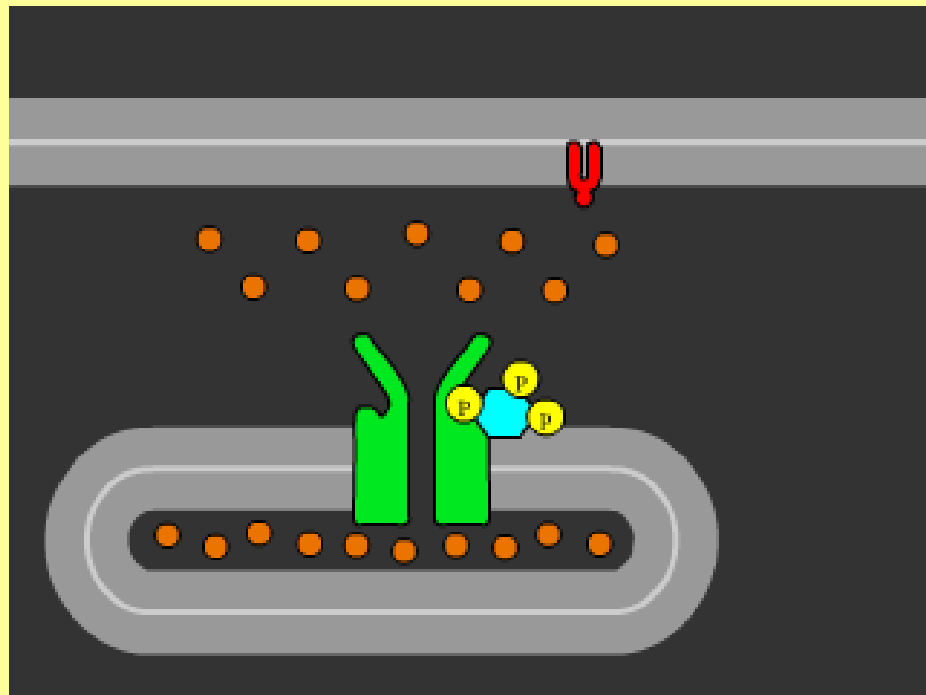
- IP3 = inositol-1,4,5-trifosfát
- DAG = 1,2-diacylglycerol

Alberts et al: Molecular biology of the cell, 4th Edition

DRUHÝ POSEL IP3 UVOLNÍ TŘETÍHO POSLA Ca^{2+}



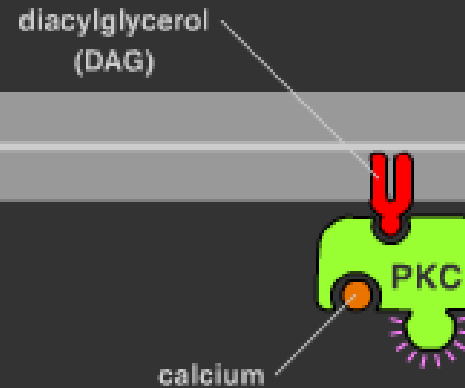
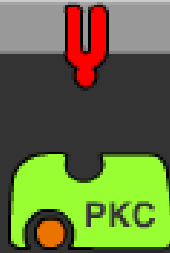
- IP3 se váže na vápníkový kanál v endoplasmatickém retikulu



- Ca^{2+} kanál se otevírá a uvolňuje se Ca^{2+} do cytosolu

Alberts et al: Molecular biology of the cell, 4th Edition

Ca²⁺ A DAG SYNERGISTICKY AKTIVUJÍ PKC

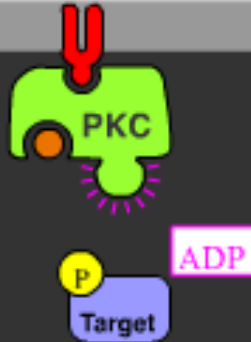


- Ca²⁺ se váží na PKC
- PKC putuje k plasmatické membráně

- PKC je aktivována když jsou vázány Ca²⁺ a DAG

Alberts et al: Molecular biology of the cell, 4th Edition

PKC FOSFORYLUJE PROTEINY



- různé cílové proteiny
- ovlivnění různých buněčných funkcí, proliferace, transkripce, metabolismu

RECEPTORY (Insulinový receptor)

ENZYMY (Tyrosin hydroxylasa, CYPs)

TRANSPORTERY (Glukosový tr.)

TRANSKRIPČNÍ FAKTORY

Alberts et al: Molecular biology of the cell, 4th Edition

PIP SYSTÉM

PIP systém má různé účinky:

- glykogenolýza v jaterních buňkách
- sekrece histaminu mastocyty
- uvolnění serotoninu krevními destičkami
- sekrece insulinu pankreatickými ostrůvky
- kontrakce hladkého svalstva
- sekrece epinefrinu chromafinovými buňkami nadledvinek

AKTIVACE PIP SYSTÉMU:

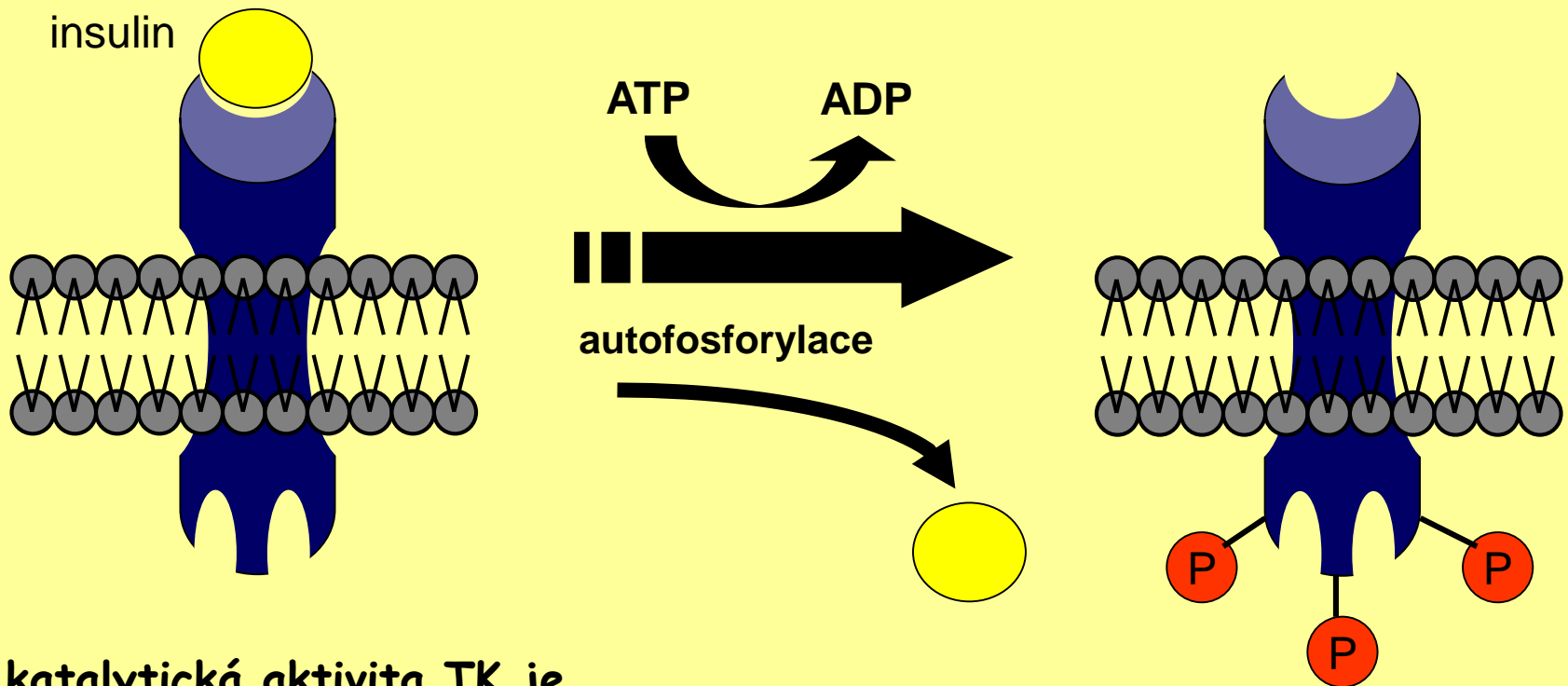
- různé stimuly - např. ACTH, epinefrin, neurotransmitery, růstové faktory, antigeny apod.

INAKTIVACE PIP SYSTÉMU

IP3 → IP2

TYROSINKINASOVÝ (TK) SYSTÉM

- enzyme-linked receptors
- membránové receptory - obsahují efektorovou doménu
- efektor = tyrosinkinasa (TK); proteinkinasa specifická pro fosforylaci tyrosinových zbytků
- extracelulární signály - insulin, nervový růstový faktor; epidermální růstový f.



• katalytická aktivita TK je zapnuta po vazbě insulinu

• zvýšená aktivity nezávisle na vazbě insulinu

TYROSINKINASOVÝ (TK) SYSTÉM

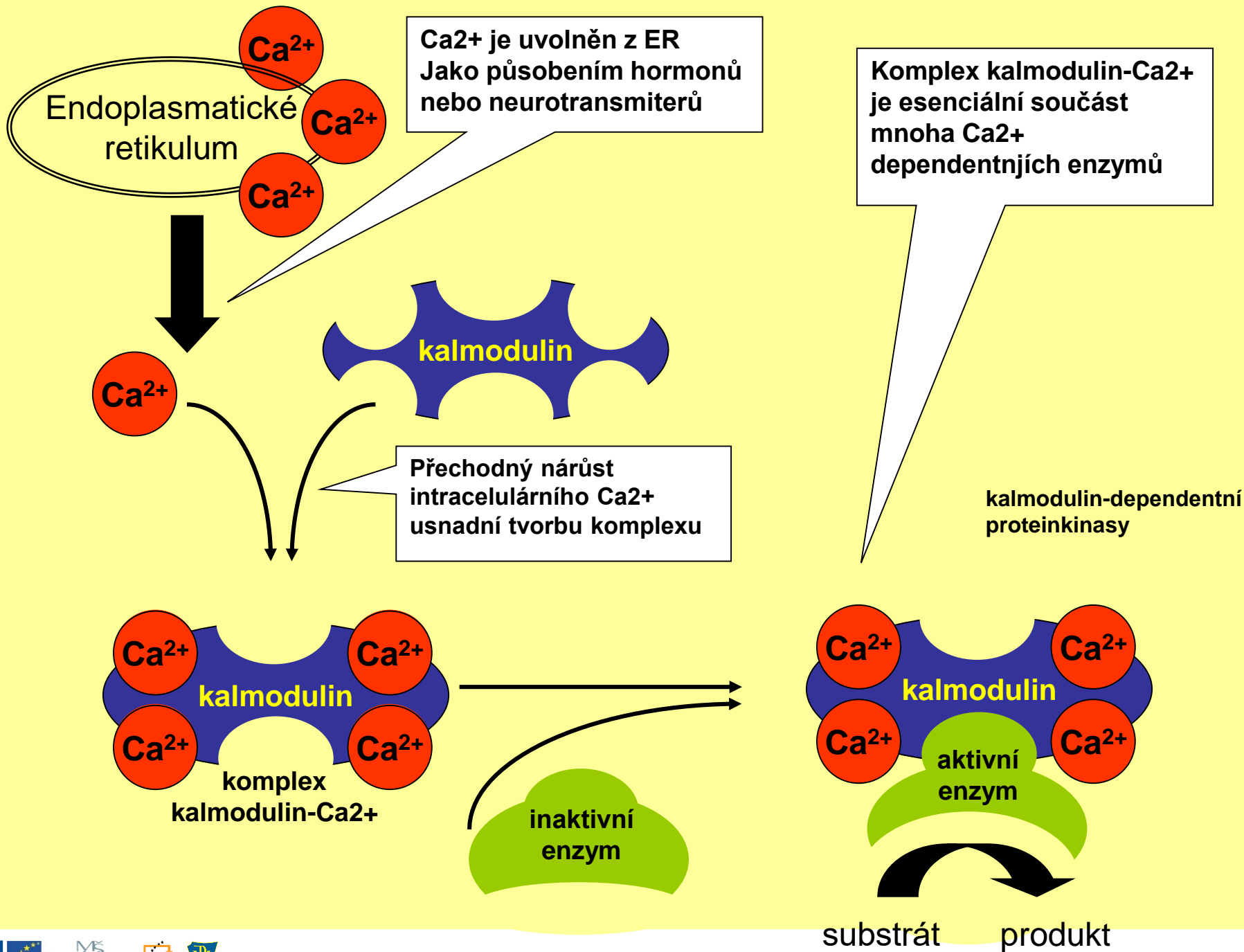
- hormon se váže na TK = H-R komplex = aktivace TK
- TK fosforyluje cílové proteiny (např. fosfatasy; aminokyselinové transportery; glukosový transporter atd.) = BUNĚČNÁ ODPOVĚĎ
- autofosforylace TK zajišťuje, že aktivita TK je zapnuta i v nepřítomnosti hormonu = dlouhodobý účinek insulinu
- insulin má obecně pro-růstové vlastnosti - chová se jako metabolický aktivátor a růstový faktor téměř ve všech typech buněk
- KRÁTKODOBÝ ÚČINEK = syntéza sacharidů a lipidů
- DLOUHODOBÝ ÚČINEK = syntéza nukleových kyselin a proteinů

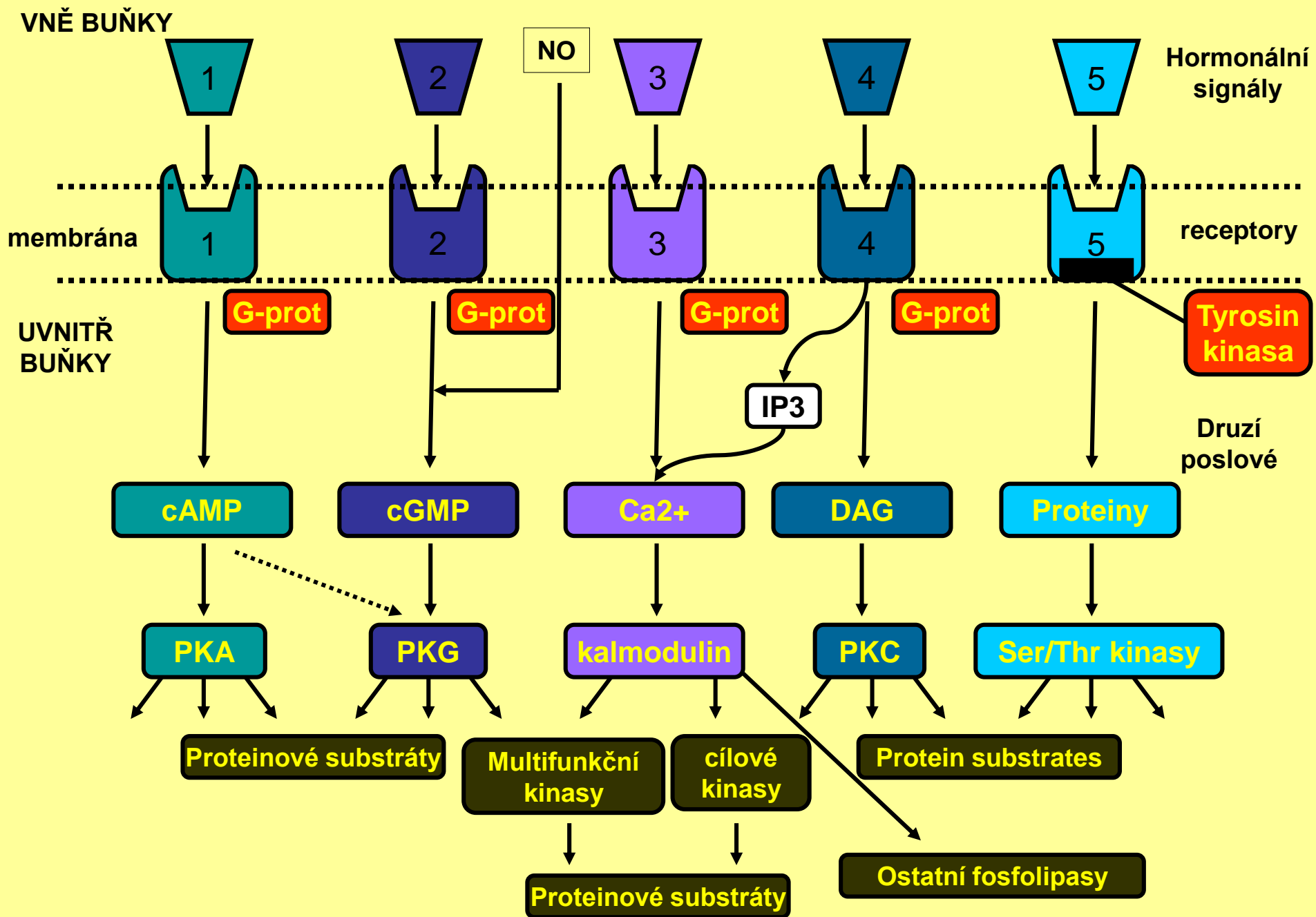
CALMODULIN

- **CALcium MODULated proteIN (CaM)**
- **protein váže vápník - přítomen ve všech eukaryotních buňkách**
- **po vazbě vápníku dochází ke konformační změně CaM, který následně interaguje s cílovým proteinem**
- **často se jedná o kinasy, tzv. calmodulin-dependent kinases**
- **v cytosolu i v organelách**
- **mnoho buněk není schopno využít k signalizaci vápník přímo a využívá CaM**

- **CaM - 16 kDa protein; 4 domény, každá váže vápník**

- **CaM je zapojen do řady dějů - kontrakce hladkého svalstva, vnitrobuněčný pohyb, apoptosa, růst nervů, imunitní odpověď, krátkodobá a dlouhodobá paměť**





MECHANISMUS ÚČINKU STEROIDNÍCH A JADERNÝCH RECEPTORŮ

- vnitrobuněčná lokalizace
- cytosolické - GR, MR, ER, PR, AR, CAR, AhR
(podléhají jaderné translokaci)
- jaderné - RARs, RXRs, VDR, TR, PXR

- nemají druhého posla

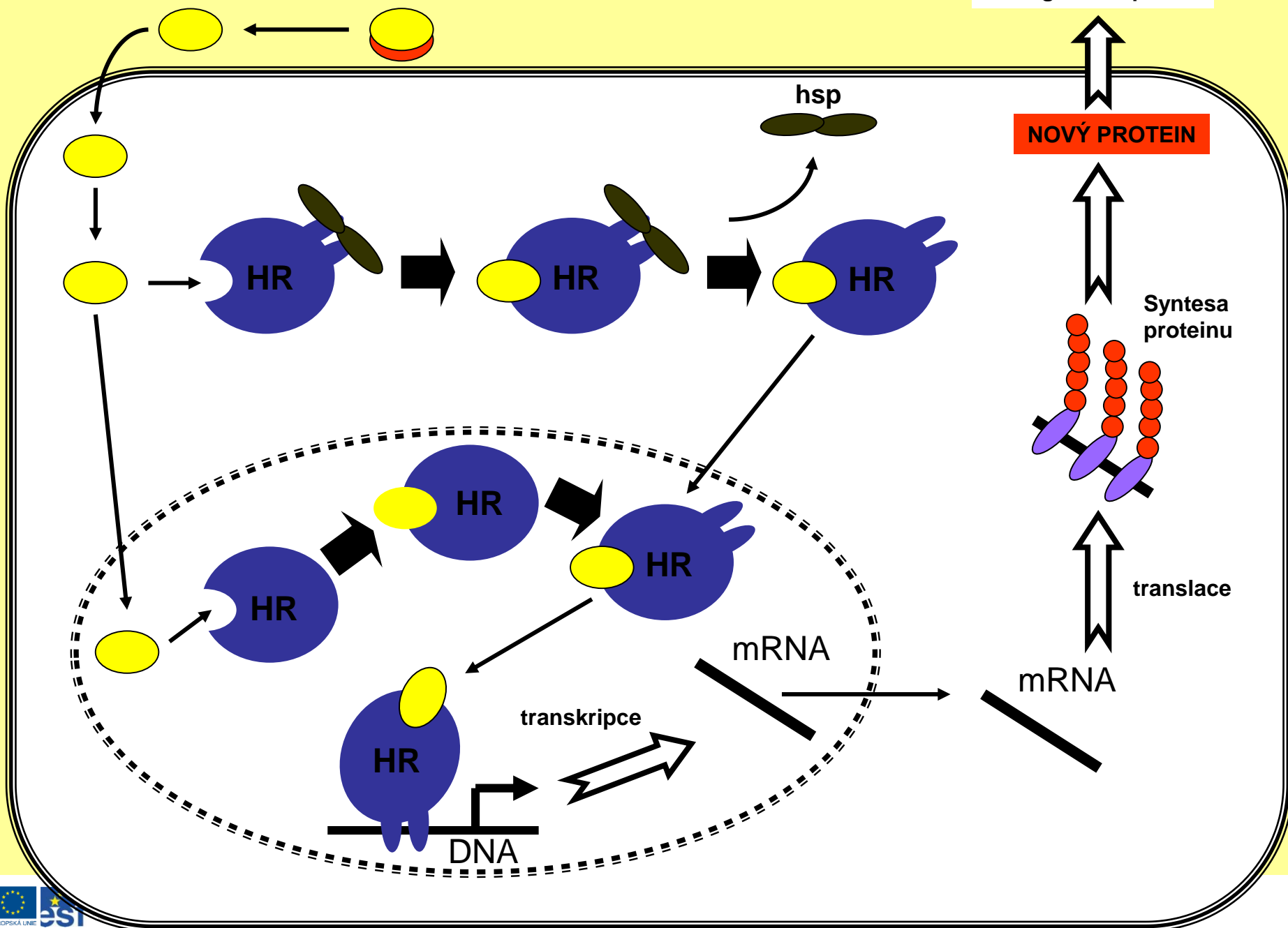
- efektozem je DNA

- vazbou do DNA je spuštěna/zastavena genová exprese;
tj. buněčná odpověď
- zvýšená/snížená syntesa specifických proteinů

Volný steroidní hormon

Hormon vázaný
Na proteiny plasmy

Biologická odpověď



HORMONY A KARCINOGENEZE

Změna struktury jakékoli součásti
signál přenášejících systémů



Ztráta metabolické kontroly v buňce



Transformace normální buňky



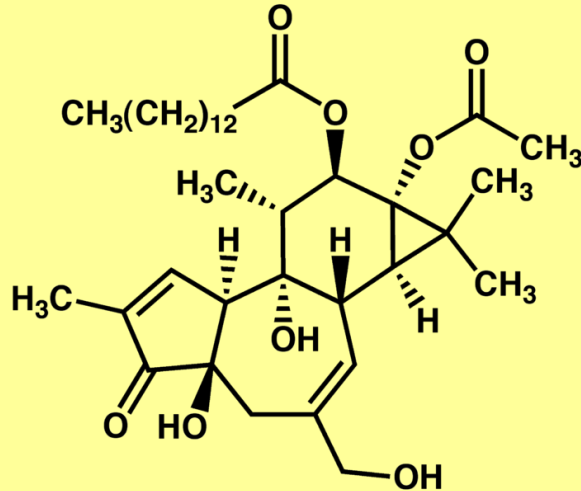
Ztráta metabolické kontroly; nekontrolovaný buněčný
růst; transformace normální buňky na nádorovou buňku

HORMONY A KARCINOGENEZE

- G-proteiny
- insulinový receptor
- receptory pro thyroidní/steroidní h.

Analoga kódovaná VIRÁLNÍMI ONKOGENY = proteiny, které váží hormon, ale **POSTRÁDAJÍ VYPÍNAČÍ** mechanismus (málo GTPasové aktivity; permanentní aktivita TK; pevná vazba hormonu

- DAG
- vs
- PMA



Analoga (FORBOLOVÉ ESTERY)

- příčina aktivace proteinkinasy C
- stimulace formace tumoru (hlavně v přítomnosti karcinogenů)
- PMA - phorbol myristate acetate