

Genetika jadrových receptorov

Chandoga J; Petrovič R; Kolejáková K;
Fischerová M; Adámat' J; Maceková D;

Centrum lekárskej genetiky FNsP Bratislava,
úsek molekulovej a biochemickej genetiky,
Mickiewiczová 13, Bratislava 813 69



02-57290 192, clgfn@post.sk

Nukleárne receptory (NR) a chemická komunikácia

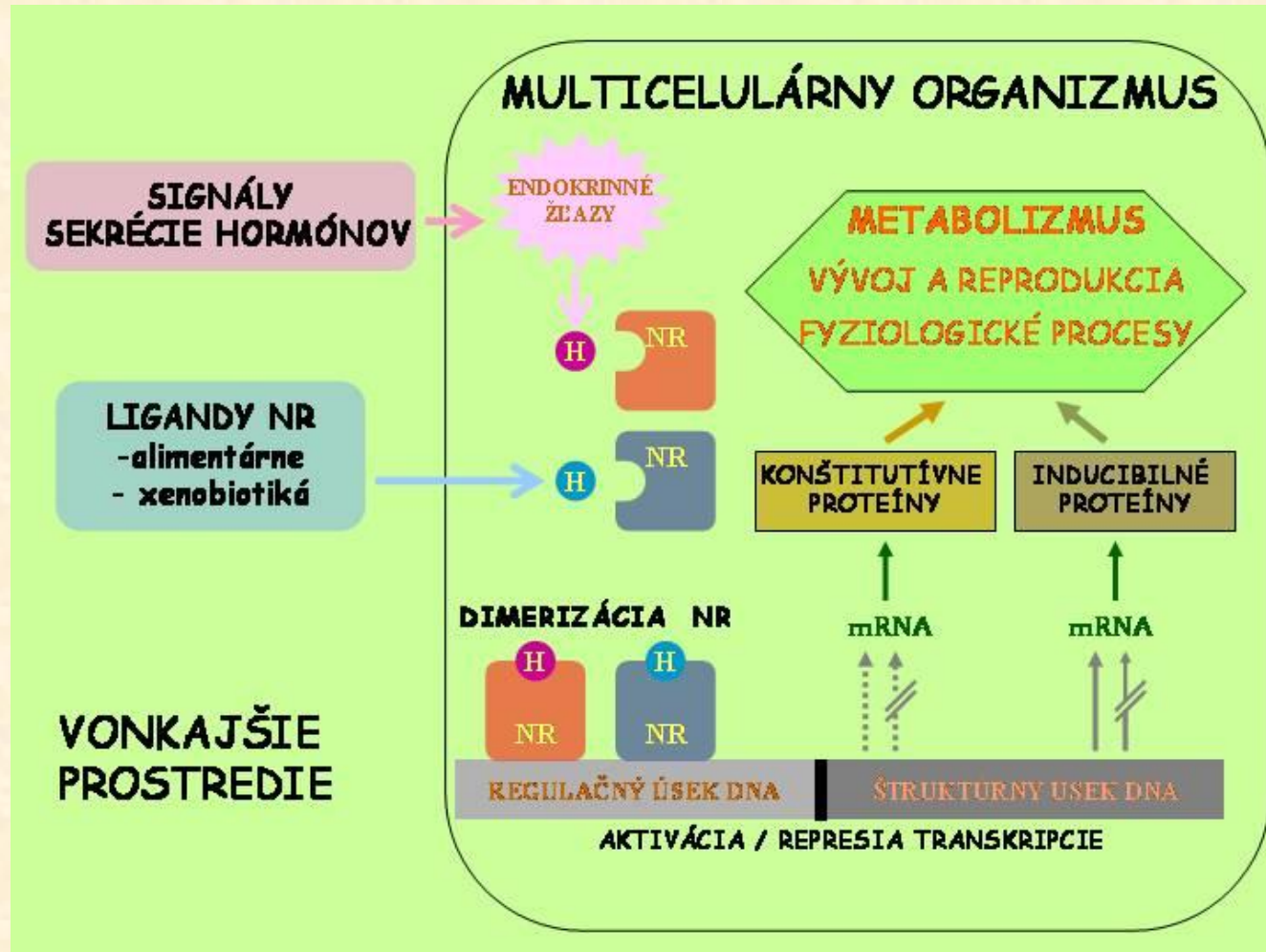
- evolučne veľmi starý, konzervovaný spôsob odovzdávania informácie a signalizácie medzi organizmami a medzi bunkami multicelulárnych organizmov pomocou nízkomolekulových lipofilných látok
- fytoestrogény - endogénne signály pre produkciu farbív a exogénne signály pre inhibíciu reprodukcie herbivorných predátorov; u leguminóz sú aj signály pre Rizobaktérie na zabezpečenie potrebných živín (amoniak)
- vyžaduje existenciu receptorov s afinitou pre špecifické ligandy, ktoré väzbou na receptor iniciujú odpoveď
- na signalizácii participuje okrem hormónov aj široká škála alimentárnych faktorov a xenobiotík
- xenobiotiká môžu ovplyvniť až prerušiť signalizačné cesty; praktické využitie vid' herbicídy, fibrátové farmaká, etc.

NR - molekulárne mechanizmy pôsobenia

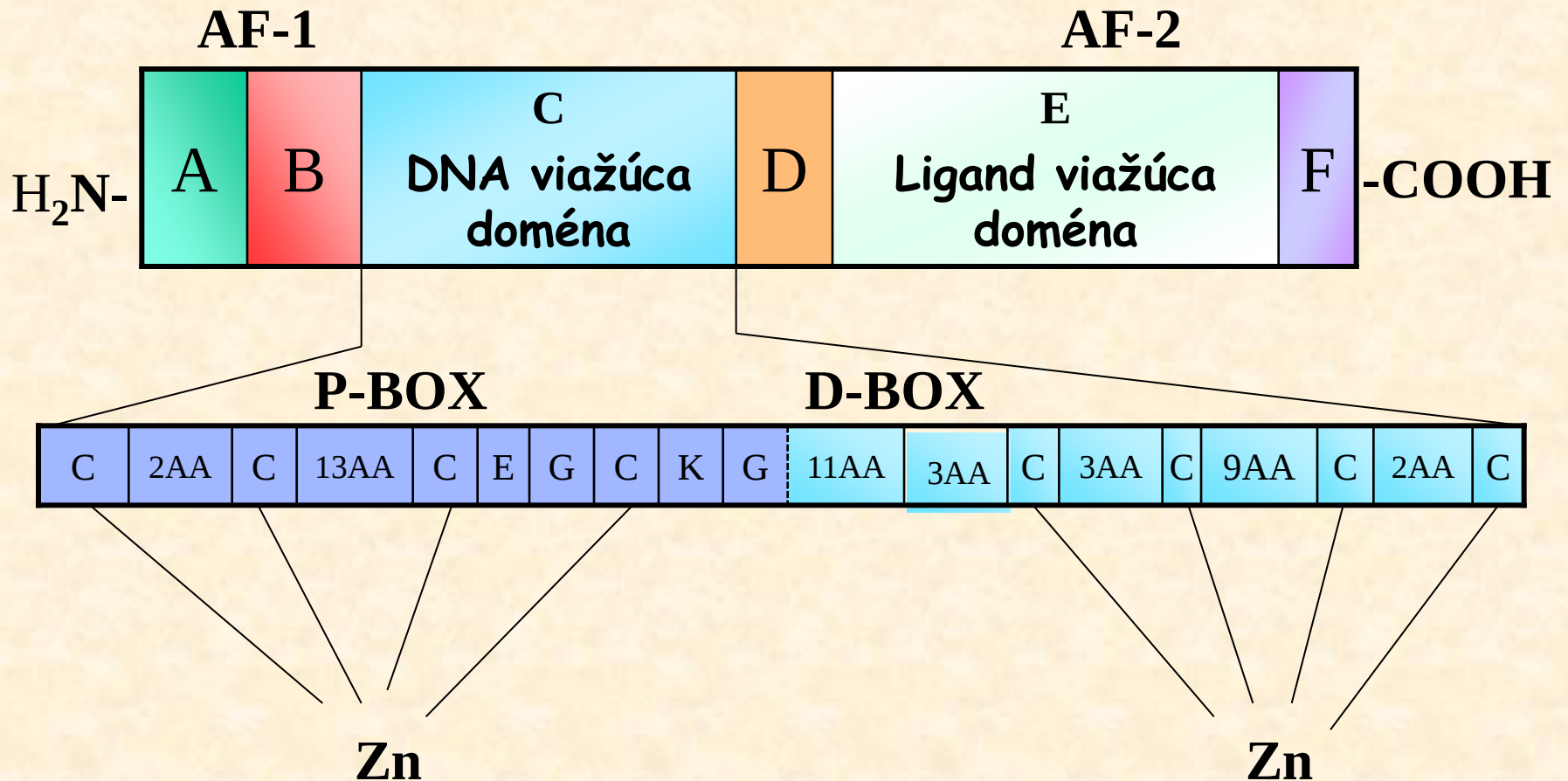
- sú transkripčné faktory aktivované ligandami, prítomnými v cytoplazme alebo v jadre buniek; fungujú ako aktivátory alebo represory transkripcie
- sú súčasťou signalizačných dráh, ktoré regulujú a kontrolujú
 - metabolizmus
 - rast, vývoj organizmu a diferenciáciu tkanív
 - sexuálnu zrelosť a reprodukciu
 - fyziologické (orgánové) funkcie
- mechanizmus aktivácie NR a ovplyvnenie transkripcie (sú nedostatočne objasnené) vyžaduje prítomnosť koregulátorov-koaktivátorov a korepresorov, ktoré ovplyvňujú štruktúru nukleoproteínov pomocou aktivácie enzýmov histón-acetylázy (HAT), histón-deacetylázy (HDAC) a DNA metyltransferáz (DNMT)

Signálna transdukcia pomocou NR

- uplatňuje sa pri procesoch, ktoré nevyžadujú promptnú reguláciu (hodinové regulácie), zvlášť pri adaptácii na zmenu vonkajších podmienok



Štruktúra NR



A, B, F - variabilné domény

C - DNA binding domain (DBD)

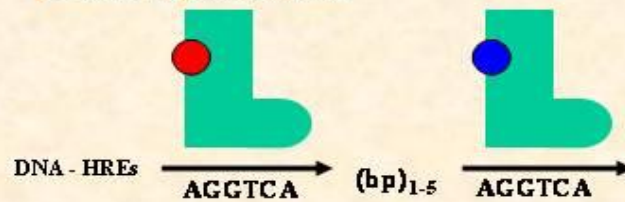
E - ligand binding domain (LBD)

Väzba NR na elementy homonálnej odozvy

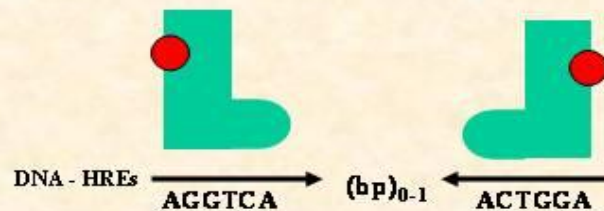
Hormone-Response Elements (HREs)

- HREs majú spoločnú analogickú štruktúru, pozostávajúcu z dvoch kópií hexamérových konsenzových sekvencií spravidla oddelených viacerými báзовými pármí

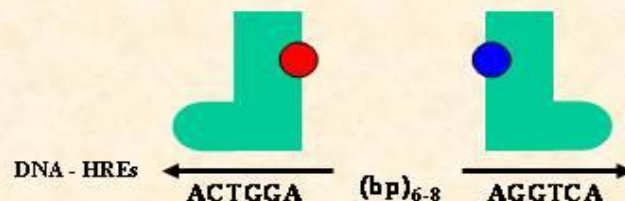
- priame opakovania



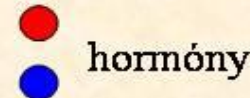
- palindrómové invertované opakovania



- palindrómové evertované opakovania

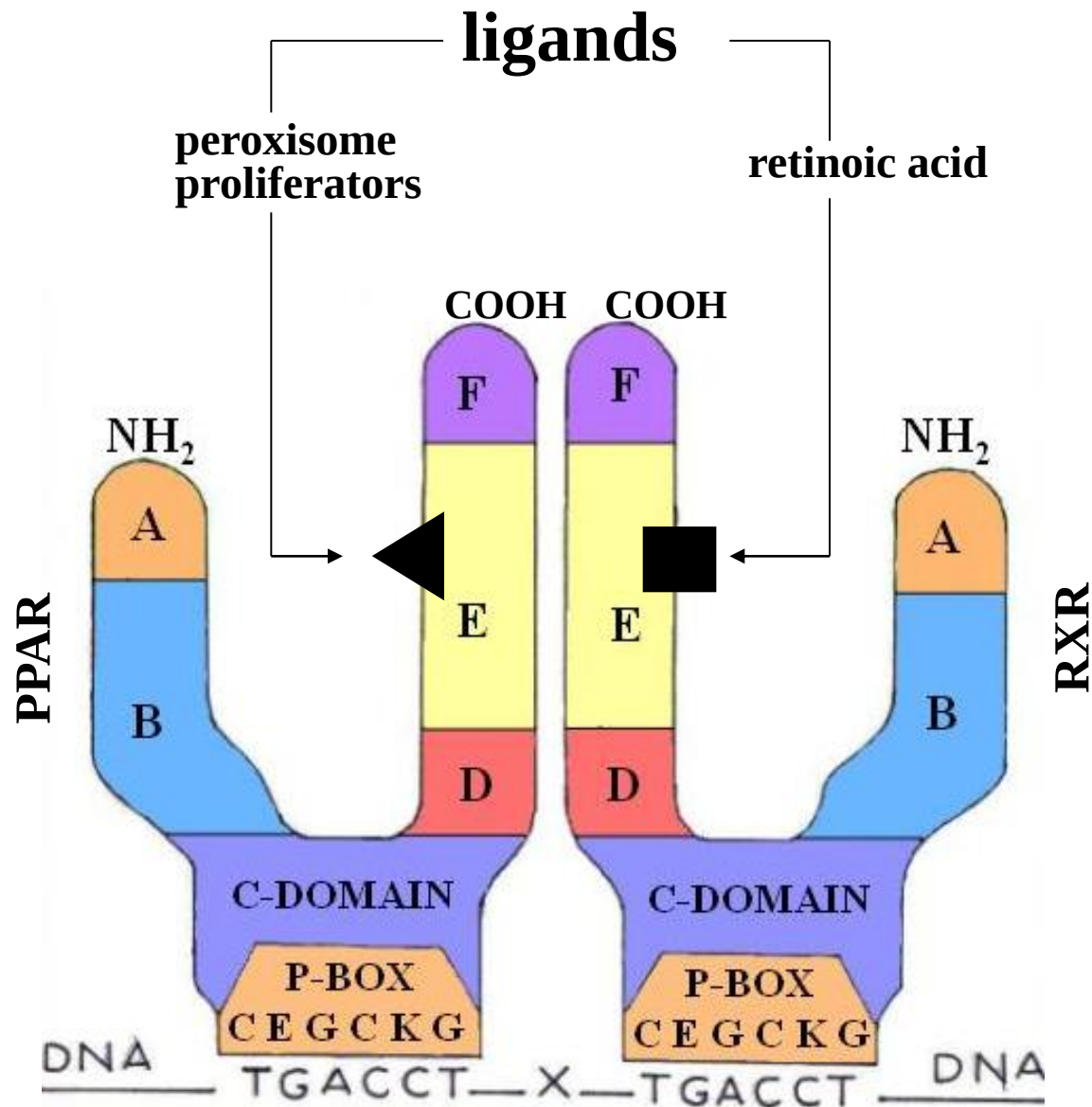


receptor

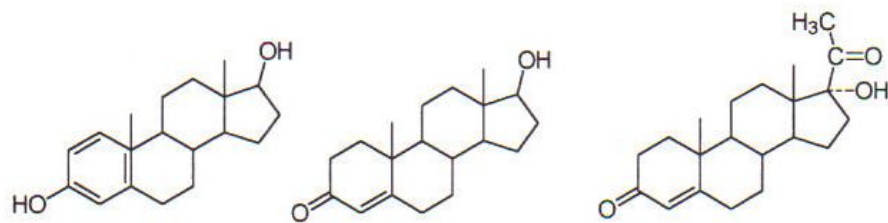


hormóny

Väzba dimérov NR na HREs



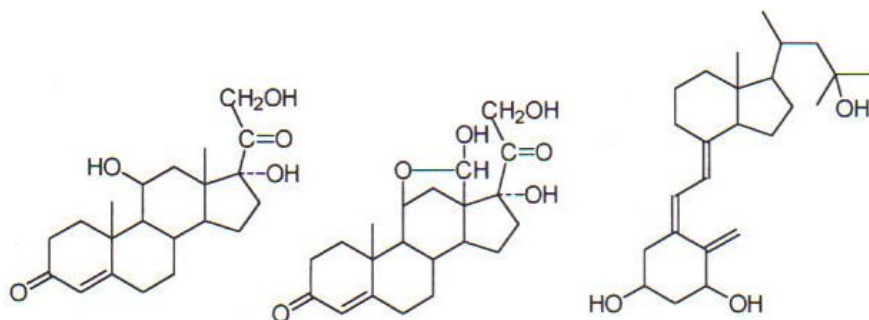
Naturálne ligandy NR



Estradiol

Testosterone

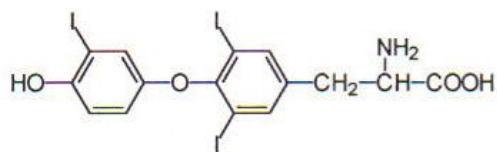
Progesterone



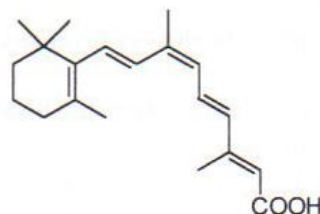
Cortisol

Aldosterone

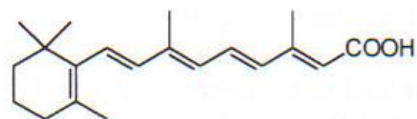
1, 25-Dihydroxycholecalciferol
(from Vit D3)



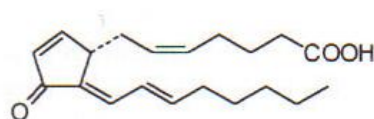
3, 5, 3'-L-triiodothyronine



9-cis-retinoic acid



All-trans-retinoic acid



15-deoxy- $\Delta^{12,14}$ -prostaglandin J₂

Prevzaté: G.Krauss,
Biochemistry of signal
transduction and
regulation, WILEY-VCH,
2003

Kritériá klasifikácie a nomenklatúra NR

- sekvenčnou analýzou ľudského genómu sa identifikovalo 48 NR, z čoho iba 24 je na ligande dependentných
- NR sa viažu na sekvenčne špecifické úseky promótorov (HREs) ako homodiméry (GR, MR, PR, ER), heterodiméry (VDR, T3R, PPAR, vždy s RXR) alebo monoméry (NGFI-B)
- medzi štruktúrou konzervovaného úseku NR (DBD), dimerizáciou každého receptora, a fylogenetickou pozíciou existuje úzka korelácia, čo neplatí pre LBD
- NUCLEAR RECEPTOR NOMENCLATURE COMMITTEE klasifikuje ľudské NR do 6-tich evolučných skupín - NR1 až NR6 a špecifikácia je robená pomocou veľkých písmen a čísiel napr. TRα-NR1A1

Názvy a symboly vybraných NR

- **AR** - androgen receptor
- **ER** - estrogen receptor
- **ERR** - estrogen related receptor
- **CR** - corticosteroid receptor
- **CAR** - constitutive androstane receptor
- **LXR** - liver X-activated receptor
- **HNF4** - hepatocyte nuclear factor
- **FXR/BAR** - farnesoid/bile acid receptor
- **MR** - mineralocorticosteroid receptor

- **PPAR** - peroxisome proliferators activated receptor
- **PR** - progesterone receptor
- **PXR** - pregnane X-receptor
- **ROR** - retinoid related orphan receptor
- **RAR** - retinoid acid receptor
- **RXR** - retinoid acid X-receptor
- **SXR/PXR** - steroid/xenobiotic receptor
- **TR** - thyroid receptor
- **VDR** - vitamin-D-receptor
- **NGFI-B** - nerve growth factor induced clone B

Ligandy a štruktúra HREs vybraných NR

Receptor	Nomenklatúra	HREs	Konfigurácia HREs	Ligand
TR α	NR1A1	RGGTCA	IR-0, DR-4, ER-6,8	tyroidný hormón
TR β	NR1A2	RGGTCA	IR-0, DR-4, ER-6,8	tyroidný hormón
GR	NR3C1	AGAACA	IR-3	kortizol, dexametazón
MR	NR3C2	AGAACA	IR-3	aldosterón, spiroolaktón
AR	NR3C4	AGAACA	IR-3	testosterón, flutamid
ER α	NR3A1	RGGTCA	IR-3	estradiol-17 β , tamoxifen, raloxifen
ER β	NR3A2	RGGTCA	IR-3	estradiol-17 β , rôzne syntetické zlúčeniny
PR	NR3C3	AGAACA	IR-3	progesterón
VDR	NR1I1	RGKTCA	DR-3	vitamín D, 1,25- dihydroxyvitamín D ₃

Receptor	Nomenklatúra	HREs	Konfigurácia HREs	Ligand
RXR α	NR2B1	AGGTCA	DR-1	retinová kyselina
RXR β	NR2B2	AGGTCA	DR-1	retinová kyselina
RXR γ	NR2B3	AGGTCA	DR-1	retinová kyselina
RAR α	NR1B1	AGTTCA	IR-0, DR-2,5; ER-8	retinová kyselina
RAR β	NR1B2	AGTTCA	IR-0, DR-2,5; ER-8	retinová kyselina
RAR γ	NR1B3	AGTTCA	IR-0, DR-2,5; ER-8	retinová kyselina
CAR	NR1I3	AGTTCA	DR-3,4; ER-6,7	fenobarbitál
PPAR α	NR1C1	AGGTCA	DR-1	MK, fibráty, Wy14,1643
PPAR β	NR1C2	AGGTCA	DR-1	MK, GW501516
PPAR γ	NR1C3	AGGTCA	DR-1	MK, tiazolidíndióny
NGFI-B	NR4A1	AAAGGTCA	DR-5	orphan

Regulácia transkripcie pomocou NR a transkripčných faktorov

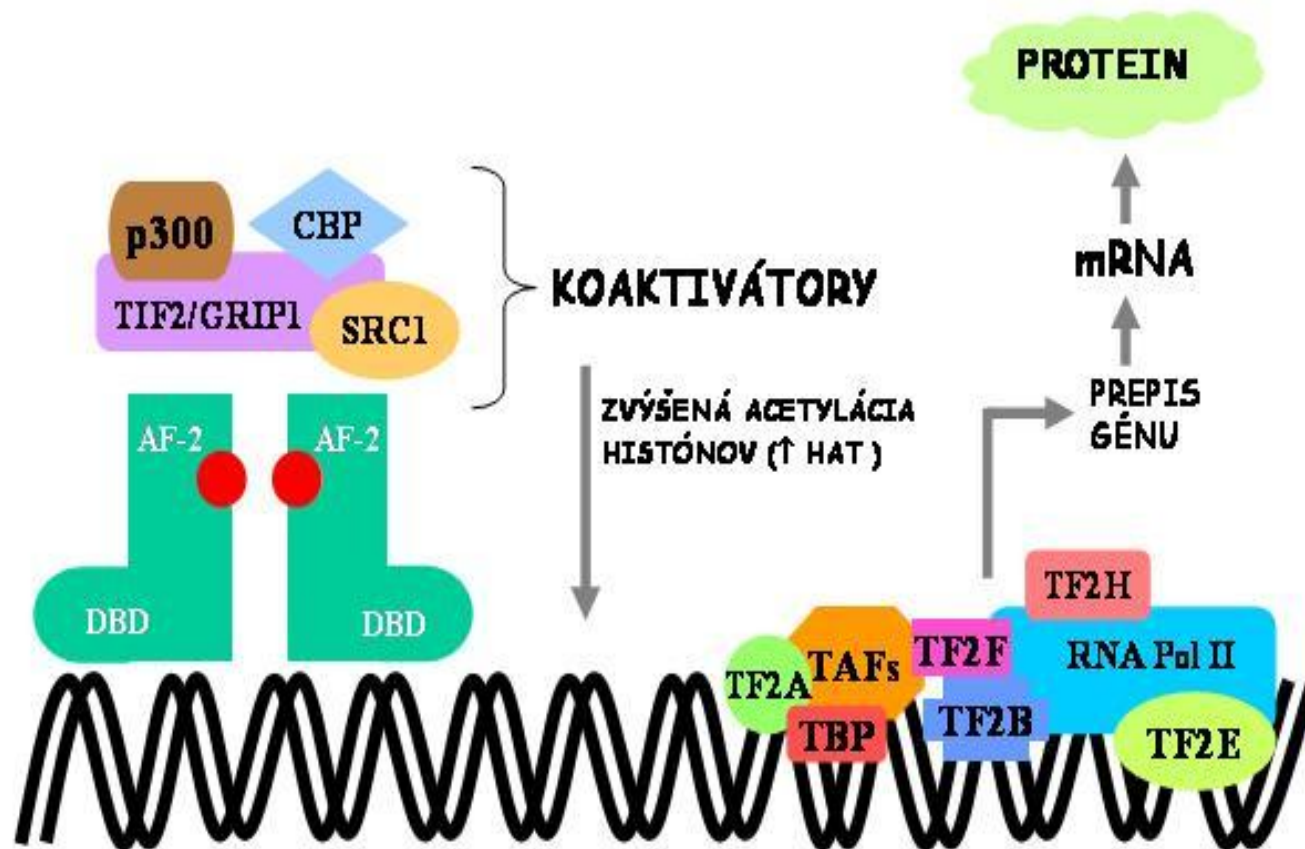
NR prostredníctvom domén AF-1, AF-2 a TF modulujú transkripciu a aktivitu RNA polymerázy

AF-1, na rozdiel od AF-2, zabezpečuje aktiváciu a represiu nezávisle od prítomnosti ligandov (aj silencing génu)

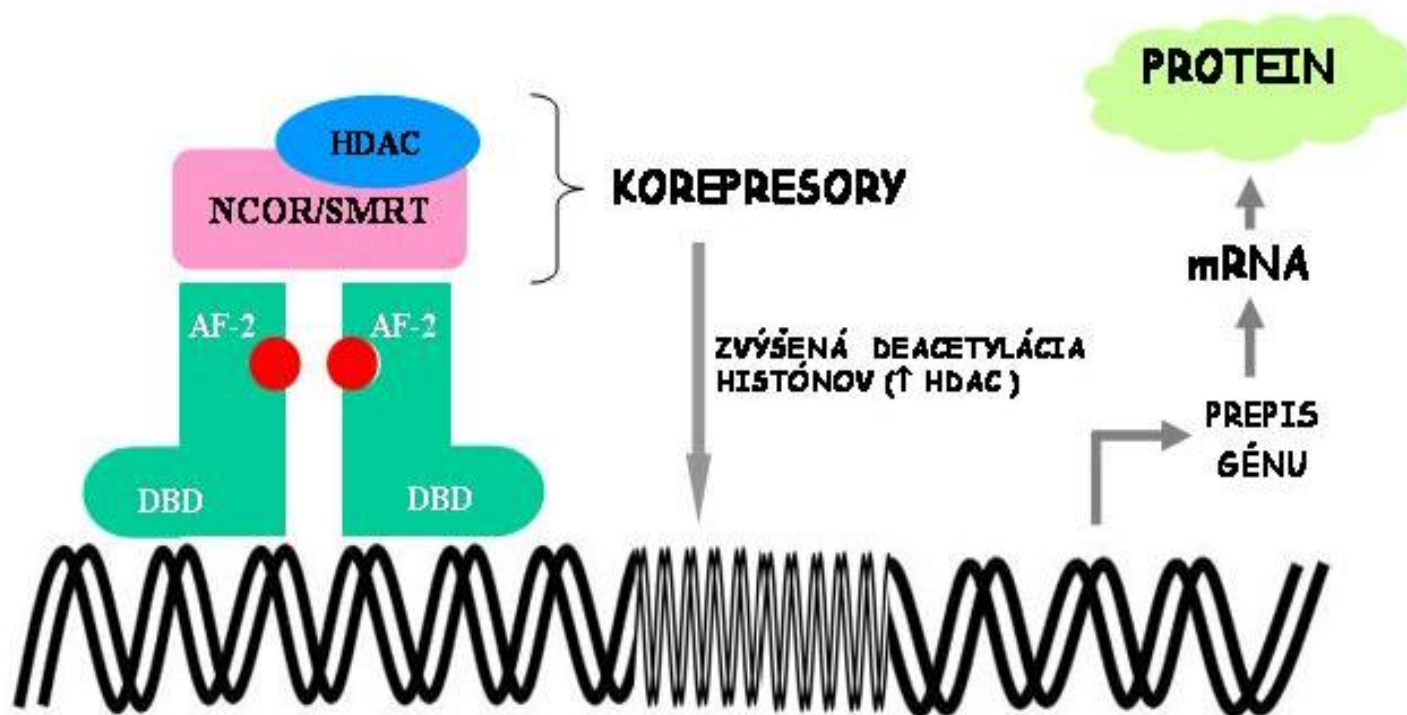
NR interagujú s :

1. komponentami transkripčného aparátu TFIIB, TAF
2. koaktivátormi rodiny p160 (SRC1, SRC2, SRC3), CBP, p300, pričom dochádza k aktivácii HAT
3. korepresormi NCoR (Nuclear Receptor Corepressor), SMRT (Silencing Mediator for Retinoid and Thyroid Hormone Receptors), ktoré zvyšujú aktivitu HDAC

Účast' koaktivátorov na regulácii transkripcie

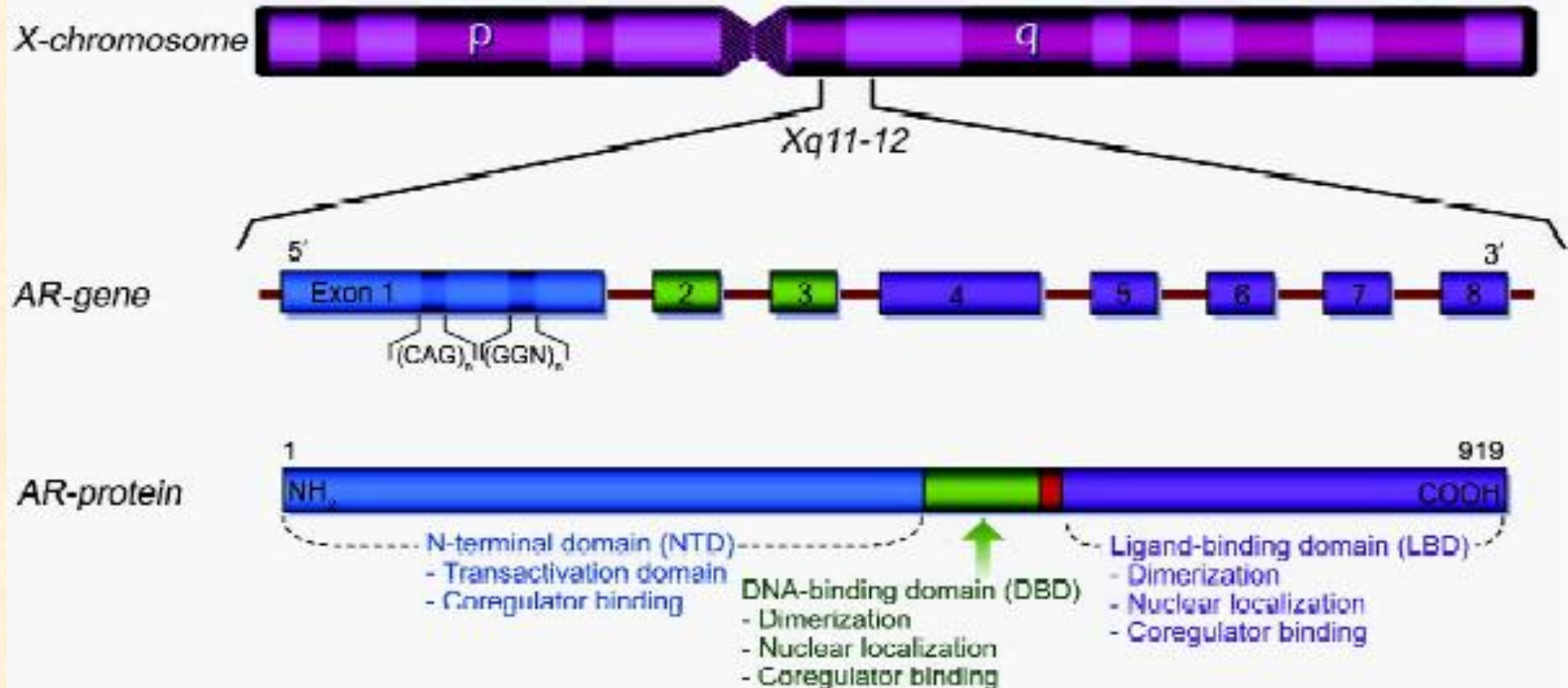


Účasť korepresorov na regulácii transkripcie



Androgénový receptor - základná charakteristika

- AR gén lokalizovaný na X chromozóme (Xq11-12)
- zložený z 8 exónov
- kóduje proteín s 919 AMK a molekulovou hmotnosťou 110 kDa



- exón 1 pozostáva z dvoch polymorfných oblastí (**CAG a GGN motívy**), ktoré kódujú rôzne dlhé polyglutamínové alebo polyglycínové úseky v N-terminálnej doméne
- polymorfné oblasti sú oddelené 248 AMK
- **CAG** opakovania v populácii varírujú od 11 do 35
- **(GGT)3GGG(GGT)2(GGC)_n** opakovanie varíruje od 10 do 30
- dĺžka CAG opakovaní nepriamo koreluje s AR transaktivačným potenciálom
- AR alely > 40 opakovaní redukujú aktivitu receptora
- AR alely s malým počtom opakovaní zvyšujú androgenicitu receptora, vedú k abnormálne vysokej stimulácii prostatického tkaniva

Mutácie AR génu

• mutácie v AR géne sú relatívne časté; je popísaných okolo 370, čím je AR jedným z NR s najvyšším počtom rôznych mutácií (web: http://www.mcgill.ca/androgen_db/)

Defektný AR je priamo zahrnutý v troch základných patologických situáciách:

1. syndróm androgénovej insenzitivity
2. neurologické ochorenia (Spinálna bulbárna muskulárna atrofia)
3. rakovina prostaty

Structural Defects	Phenotype	Mutation Type	
		Germline	Somatic
Complete gene deletions	complete AIS	3	
Partial gene deletions	complete AIS	8	
Partial gene deletions	mild AIS	1	
Partial gene deletions	<i>prostate cancer</i>		1
Partial gene deletions	<i>laryngeal cancer</i>		1
1-4 bp deletions	complete AIS	6	
1-4 bp deletions	<i>prostate cancer</i>		5
Intron deletion	partial AIS	1	
Splice - junction deletion	complete AIS	1	
Splice - junction deletion	<i>breast cancer</i>	1	
Insertions	complete AIS	4	
Insertions (variable)	Kennedy syndr.	1	
Insertions	<i>prostate cancer</i>		1
bp duplications	complete AIS	1	
Total		27	8
Single Base Mutations			
Amino acid subst.	complete AIS	134	
Amino acid subst.	partial AIS	104	
Amino acid subst.	mild AIS	10	
Amino acid subst.	<i>prostate cancer</i>	2	38
Amino acid subst.	<i>normal</i>	4	
Amino acid subst. <u>UTR</u>	<i>prostate cancer</i>	2	1
Multiple amino acid subst.	complete AIS	2	
Multiple amino acid subst.	<i>prostate cancer</i>		7
Splice - junction subst.	complete AIS	5	
Splice - junction subst.	partial AIS	1	
Splice - junction subst.	<i>breast cancer</i>	1	
Intron subst.	complete AIS	1	
Premature termination codons	<i>prostate cancer</i>		4
Premature termination codons	complete AIS	22	
Premature termination codons	partial AIS	1	
Total		289	50
GRAND TOTAL		374	

Syndróm androgénovej insenzitivity (AIS)

- spôsobený mutáciami, vedúcimi k strate funkcie AR
- 90% mutácií v AR géne vedie k AR insenzitivite
- 1:20 000 až 1:64 000 narodených chlapcov

Syndróm kompletnej androgénovej insenzitivity (CAIS)

- sa vyznačuje ženskými externými genitáliami, krátkou slepo končiacou vagínou, absenciou prostaty, gynekomastiou a slabým ochlpením, môže sa vyskytnúť rudimentárna maternica
- hladina testosterónu je v puberte zvýšená a slúži ako substrát pre syntézu estrogénov
- môže sa vyskytnúť zvýšená hladina luteinizačného hormónu

Syndróm parciálnej androgénovej insenzitivity (PAIS)

vyznačuje sa vysokou fenotypovou variabilitou



1
PAIS
mužský genitál, infertility

2
PAIS
mužský genitál, mierne znížená maskulinizácia, jednostranná hypospádia

3
PAIS
prevažne mužský genitál, výrazne znížená maskulinizácia, nezostúpené testes, rásštep skróta

4
PAIS
nejednoznačný genitál (falická štruktúra ťažko rozlíšiteľná medzi penisom a klitorisom), výrazne znížená maskulinizácia

5
PAIS
ženský genitál so separovaným uretrálnym a vaginálnym otvorom, mierna klitoromegália

6
PAIS
ženský genitál s pubickým ochlpením

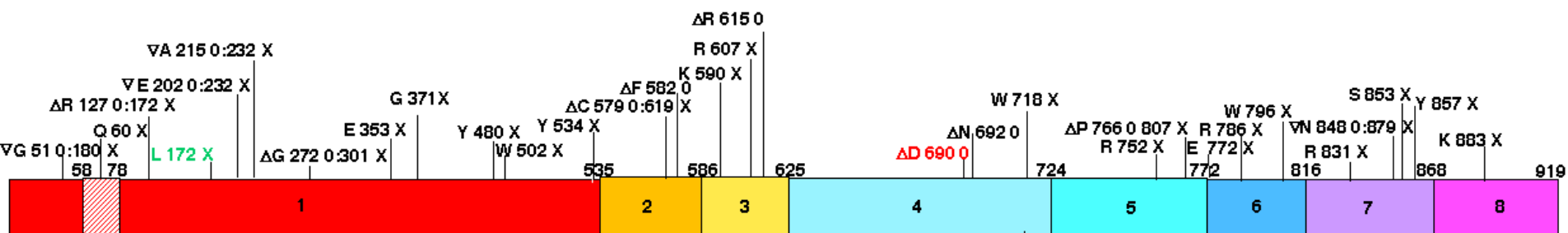
7
CAIS
ženský genitál bez pubického ochlpenia

Mutácie AR génu

4 rôzne typy mutácií v AR géne boli identifikované u pacientov s AIS

- a. **jednonukleotidové substitúcie, vedúce k zámene AMK alebo k tvorbe terminačného kodónu**
- b. **nukleotidové inzercie alebo delécie, vedúce k posunu čítacieho rámca alebo k predčasnej terminácii**
- c. **úplná alebo čiastočná delécia génu (> 10 nt)**
- d. **intrónové mutácie, narúšajúce zostrih AR mRNA**

Premature termination, deletion,or insertion mutations

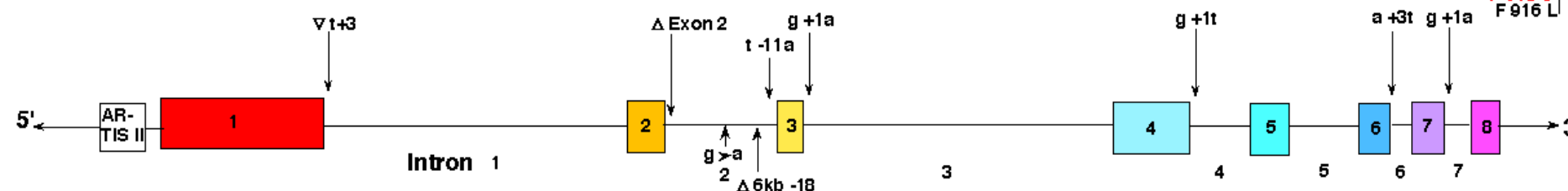


Aa substitution mutations

LEGEND

- Mutation in normal type = CAI
- Mutations in red = PAI
- Mutations in blue = MAI
- Mutations green = both CAI & PAI
- Mutations in mauve = PAI & MAI
- Mutations in Orange = PAI & normal
- Mutations with * = also has male breast cancer
- When more than one mutation present in patient, other mutations in brackets

Location of splicing and untranslated region mutations



Location of intron mutations

Vzt'ah mutácií k funkcii AR

Korelácia medzi lokalizáciou mutácie v proteíne a fenotypom AIS sa ťažko stanovuje.

- mutácie v N-terminálnej doméne (1. exón) sú málo frekventované, vedú k tvorbe stop kodónu alebo predčasnej terminácii v dôsledku inzercie/delécie
- nie je prítomný funkčný AR proteín
- mutácie v DNA viažucej doméne (exón 2, 3) sú najčastejšie jednonukleotidové substitúcie; vedú k vzniku hormón viažuceho proteínu s defektnou DNA viažucou a dimerizačnou schopnosťou, a tým je proteín neschopný transkripčnej aktivácie
- popísaných je 32 mutácií (15 ZP1, 17 ZP2)
- mutácie v ligand viažucej doméne (exón 4, 5, 6, 7, 8)
- najväčší počet rôznych mutácií je asociovaných so širokou škálou androgén rezistentných fenotypov

AR gén a mužská infertility

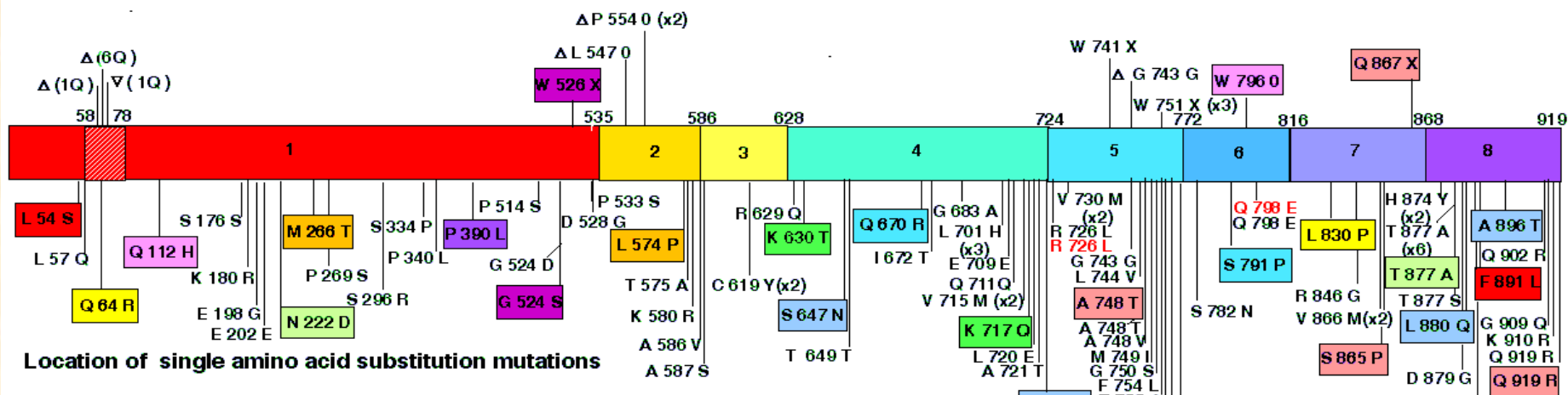
- mutácie, vedúce k infertilite spôsobujú redukciiu transaktivačného potenciálu mutantného proteínu
- nepozorovala sa žiadna korelácia medzi typom mutácie a typom infertility (azoospermia, oligozoospermia, oligoteratozoospermia)
- mutácia Gln58Leu bola identifikovaná u pacienta s azoospermiou aj u pacienta s oligoteratozoospermiou
- vplyv dĺžky CAG opakovania na infertilitu sa preukázal v Japonsku, Amerike, Austrálii a Číne; nie však v Európskej populácii

Vzťah AR k rakovine prostaty

- väčšina mutácií sú substitúcie lokalizované hlavne v LBD AR
- sú popísané aj viaceré mutácie v AR géne pri rakovine prostaty
- v dôsledku mutácií v AR aj antiandrogény a adrenálne androgény účinkujú ako AR agonisti
- v prípade AR mutácie T877A antiandrogény (hydroxyflutamid a cyprosteron acetát), DHEA, androstenediol, estradiol a progesterón sú schopné aktivovať AR transkripciu
- asi v 30% vzoriek metastázujúcej rakoviny prostaty sa zistilo, že AR mutácie zvyšujú transkripčnú citlivosť na adrenálne androgény

ANDROGEN RECEPTOR GENE MUTATIONS IN PROSTATE CANCER 30-7-03

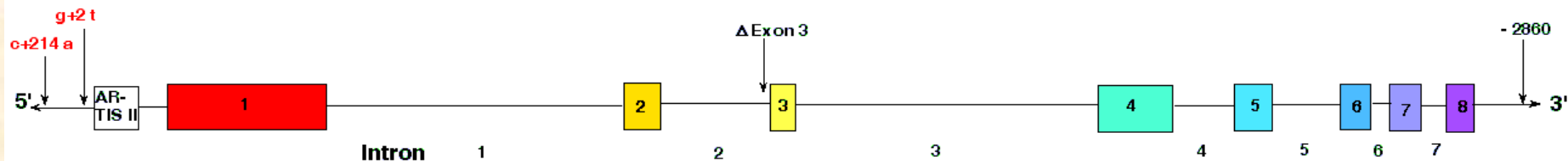
Location of mutations introducing premature termination of codons or deletion of 1-6 bp



Location of single amino acid substitution mutations

LEGEND
Mutations which are illustrated by the same colour are present in the same Cancer Tissue specimen. Mutations in red germline

Location of splicing and untranslated region mutations



Spinálna a bulbárna muskulárna atrofia (Kennedyho ochorenie)

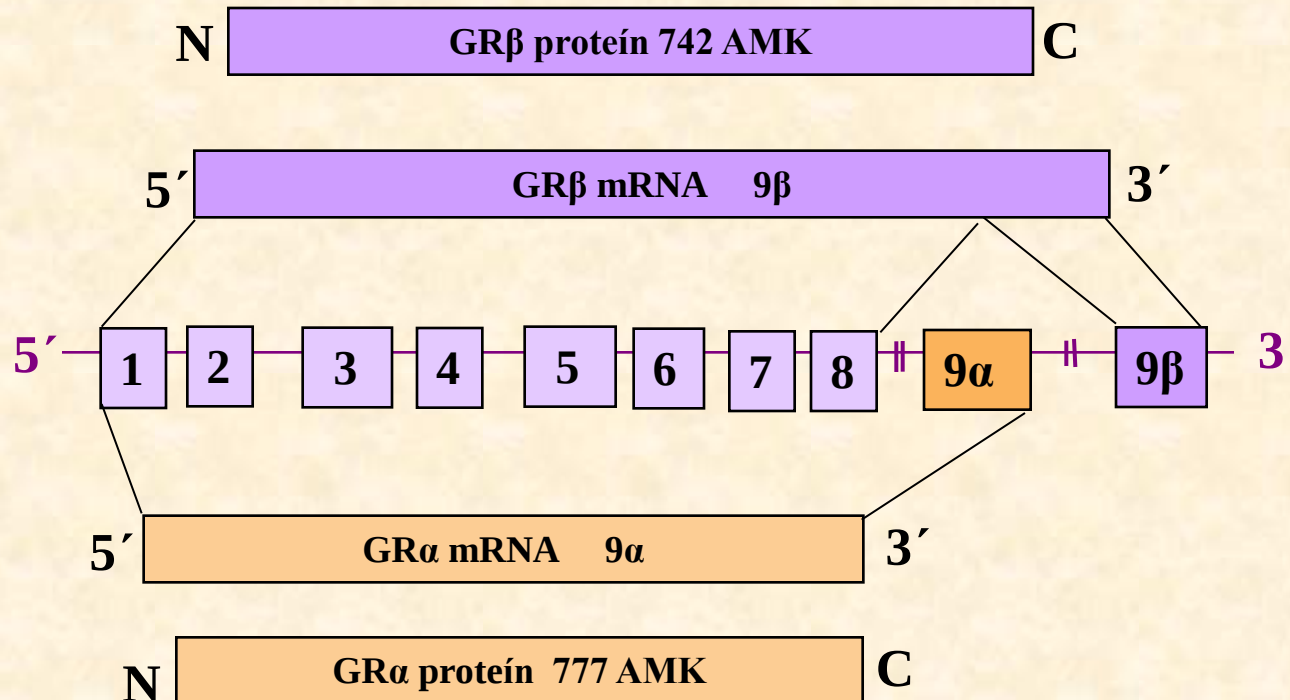
- zriedkavé na X viazané recesívne dedičné neuromuskulárne ochorenie
- postihuje 1:40 000 narodených mužov
- najfrekventovanejšie vo Fínsku a niektorých oblastiach Japonska
- ochorenie sa manifestuje medzi 30. – 50. rokom
- symptómy: svalový dyskomfort, kŕče, únava, gynekomastia, progredujúca slabosť v proximálnych častiach končatín, fascikulácie, atrofia jazyka, bulbárna slabosť, strata androgénovej citlivosti, atrofia testes, infertilita, strata reflexov, ingvinálna hernia

- ochorenie je spôsobené expanziou CAG opakovania v exóne 1 AR génu
- u zdravých je počet opakovaní 11-35
- počet opakovaní sa líši u jednotlivých etnických skupín (Negroidná populácia: 19-20, Kaukazoidná: 21-22, Mongoloidná: 22-23, Hispánska: 23)
- u postihnutých je počet opakovaní 38-75
- vzniká proteín s polyglutamínovým úsekom v N-terminálnej doméne
- zistila sa korelácia medzi počtom CAG opakovaní a vekom nástupu a závažnosťou ochorenia
- postihnuté receptory sa nachádzajú v mozgovom kmeni a v α -motoneurónoch predných rohov miechy, z čoho vyplývajú aj hlavné príznaky ochorenia

- ochorenie je výsledkom kombinácie **straty funkcie** (loss of function) AR v androgénových tkanivových bunkách, čo vedie k androgénovej insenzitivite a **získania toxickej funkcie** (gain of function) AR v motoneurónoch, čo spôsobuje neurodegeneráciu
- agregácia poškodených receptorov, proteolytické štiepenie a abnormálny metabolizmus AR sú toxické pre bunku
- zistilo sa, že štiepenie Kaspázou-3 hrá úlohu pri indukcii smrti neurónov
- poškodený AR deaktivuje transkripčný faktor CBP, ktorý má acetylázovú aktivitu, čo má za následok zastavenie expresie génu a následnú apoptózu

Glukokortikoidný receptor - základná charakteristika

- *hGR* je lokalizovaný na chromozóme 5 (5q31) a pozostáva z 9 exónov
- alternatívnym splicingom primárneho transkriptu vznikajú dve mRNA a proteínové izoformy GR α a GR β



Polymorfizmy GR

Bc/1 polymorfizmus (G/C) v intróne B (IVS2+646)

- frekvencia heterozygotov je 30-50%
- vyznačuje sa zvýšenou glukokortikosteroidovou senzitivitou, nízkou hladinou kortizolu po dexametazónovom teste a nízkou HPA-axis reaktivitou na psychologický stres (TSST)
- zmeny v metabolizme zahŕňajú hyperinzulinémiu, zvýšený BMI, zvýšené zásoby podkožného tuku po prejedaní sa a naopak znížený BMI v staršej populácii a často zvýšený TK

Asn363Ser (N363S), tranzícia AAT→AGT v pozícii 1220 v exóne 2; frekvencia heterozygotov cca 8%

- zvýšená inzulínová odpoveď na dexametazón a ostatné prejavy analogické ako pri predchádzajúcom polymorfizme

Arg23Lys AGG→AAG (200) v exóne 2; frekvencia 5-10%

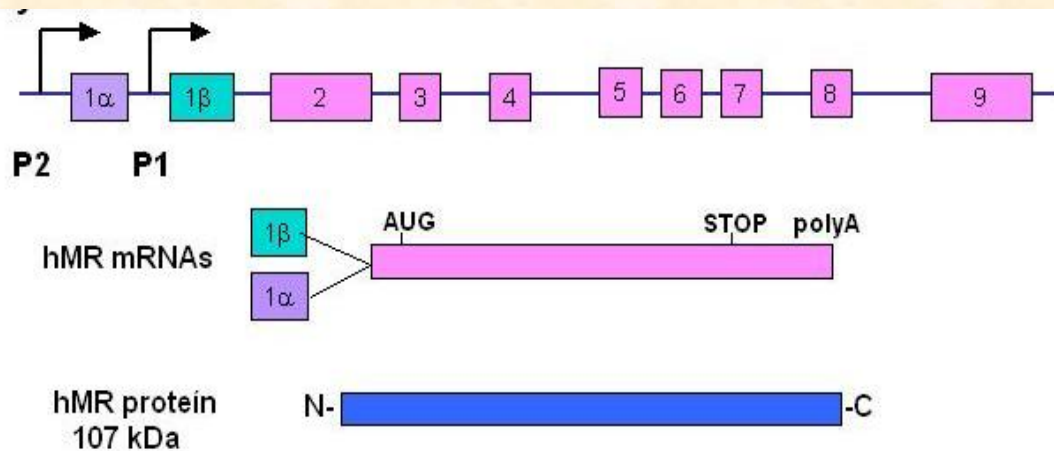
- relatívna steroidná rezistencia a výhodný metabolický profil - nižší inzulín nalačno, nižší LDL cholesterol a zvýšená muskulatúra

Mutácie génu *hGR*, vedúce k syndrómu kortikosteroidnej rezistencie

Región	Pozícia	Nukleotidová zámena	AA zámena	Vzt'ah fyziológia/patológia
exon2	1188	T-insert, frame shift		Nelsonov syndróm, pravdepodobne <i>de novo</i> somatická mutácia, zavedenie stop kodónu v 366
exon4	1562	CGC→CAC	Arg477His	žiadna transaktivačná aktivita
exon5	1808	ATC→AAT	Ise559Asp	Cushingov syndróm, pravdepodobne <i>de novo</i> mutácia, normálna afinita, ale 50% redukcia v expresii
exón6	2024	4 bp delécia na splicing. mieste	50% redukcia v GR expresii, možná instabilita mRNA	

Mineralokortikoidný receptor - základná charakteristika

- ľudský *hMR* je lokalizovaný na 4. chromozóme (q31.1)
- dva prvé exóny - 1α a 1β nie sú prepisované, zatiaľ čo osem ďalších exónov kóduje celý proteín
- alternatívnou transkripciou 5'-neprekladaných exónov sa vytvárajú rôzne izoformy mRNA - $hMR\alpha$ a $hMR\beta$
- *hMR* génová expresia je pod kontrolou dvoch promótorov, P1 (proximal, silnejší promótor) a P2 (distal, slabšia aktivita)

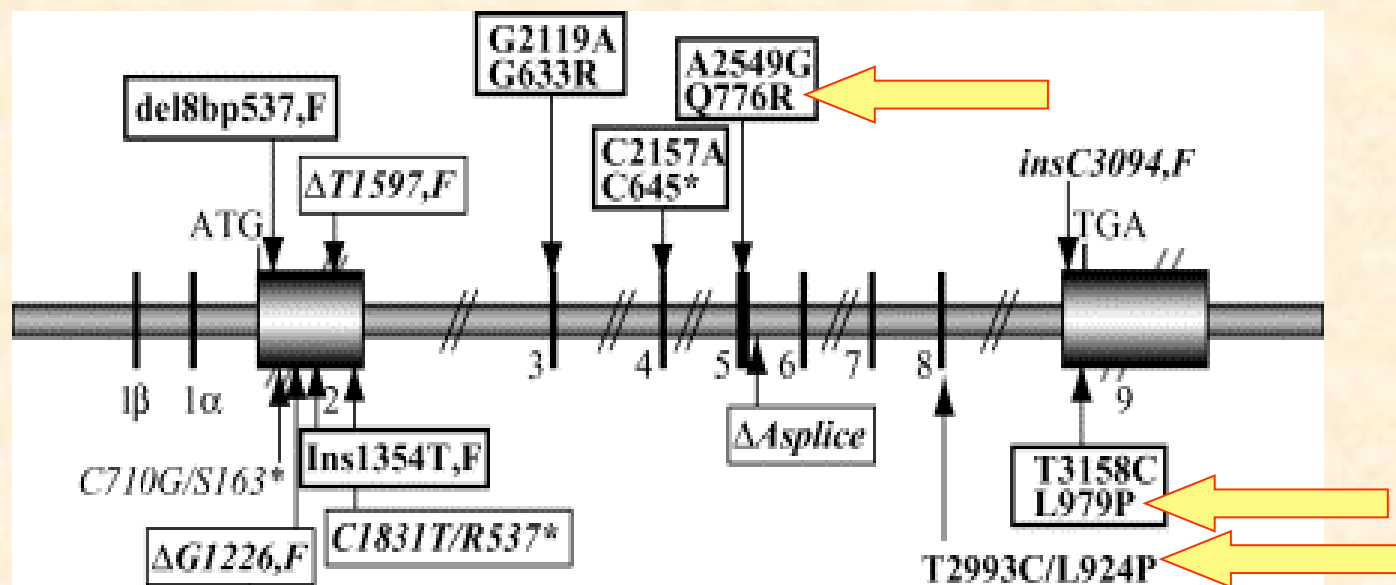


Mineralokortikoidný receptor a aldosterón majú dôležitú úlohu v regulácii homeostázy solí a krvného tlaku.

Dysregulácie MR-aldosterón systému spôsobujú rôzne ľudské patológie ako mineralokortikoidná rezistencia, hypertenzia, pseudohypoaldosteronizmus typu 1 (PHA1), zlyhanie srdca.

Pseudohypoaldosteronizmus typu 1 (PHA1)

- missense mutácie v ligand viažúcej doméne(LBD) oslabujú naviazanie aldosterónu na MR
- PHA1 je vzácna forma mineralokortikoidnej rezistencie charakterizovaná neonatálnou renálnou depléciou solí, vedúcej k hyponatrémii, hyperkalémii a metabolickej acidóze, s prejavmi dehydratácie a neschopnosti pohybu



Mutácie hMR génu identifikované v PHA1

Estrogénové receptory - základná charakteristika

- ľudské estrogénové receptory (ER) sú na ligande závislé transkripčné faktory, patriace do rodiny nukleárných receptorov
- doposiaľ boli opísané dve izoformy estrogénových receptorov (ER) ER α a ER β , kódované dvomi odlišnými génmi
- ER α gén je lokalizovaný na 6. chromozóme (6q25.1), pozostáva z 8 exónov, viac ako 140kb dlhých, ktoré sú transkriptované do 6 samostatne funkčných domén s celkovou dĺžkou 595 AMK
- ER β gén sa nachádza na 14. chromozóme (14q23.2), tvorí ho 8 exónov s celkovou dĺžkou okolo 40kb, kódujúcich proteín s 530 AMK

ERa varianty

- ERa splicingove varianty boli detegované jednak v mnohých fyziologických tkanivách (prsne tkanivo, endometrium, bunky hladkého svalstva, bunky periférnej krvi), jednak v tumorózných bunkách

Najčastejšie splicingové varianty vedú k:

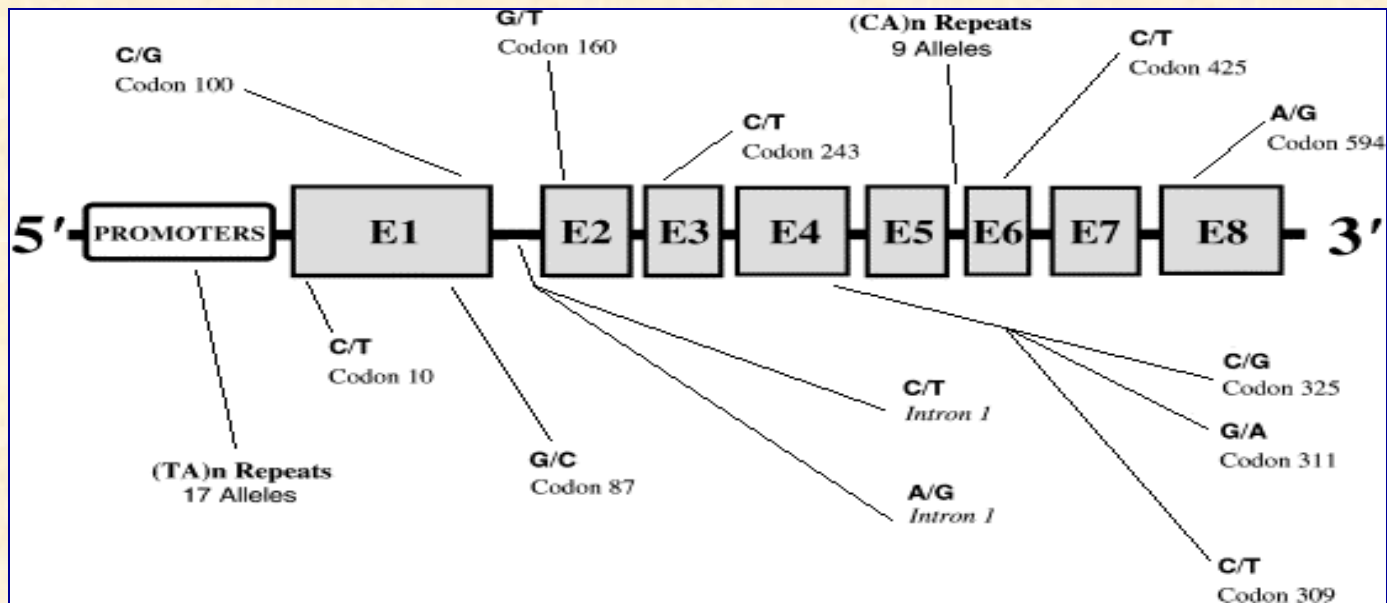
- parciálnej alebo úplnej delécii exónov 2, 3, 4, 5, 6, 7 a sú asociované s ca. prsníka, prolaktinómom, ca. endometria, ca. ovárií, systémovým lupus erythematosus, meningiómom
- duplikácii exónov 3, 4, 6; inzercii 65bp medzi 5. a 6. exón a sú v kauzálnom vzťahu s ca. prsníka
- inzercii 42bp do 6. exónu, vyvolávajúcej ca. prsníka rezistentného voči Tamoxifenu

Niektoré z častých bodových mutácií, asociovaných s ochoreniami

Mutácia	Doména	Ochorenia
H6Y, P146Q, G160C	AF-1	psychické ochorenia, familiárna forma ca. prsníka
S47T, N69K, A86V	AF-1	ca. prsníka
R157stop	AF-1	estrogénová rezistencia
S193P	DBD	ca. endometria
L296P, K303R	AF-2a, hinge	ca. prsníka
K299R	AF-2a, hinge	psychické ochorenia
E352V, M396V, 437stop, K531E, Y537E	LBD	ca. prsníka
V364E	LBD	estrogénová rezistencia
G415V, Y537S	LBD	ca. endometria
N463P	LBD	systémový lupus erythematosus

Prehľad polymorfizmov a mutácií ERa vo vzťahu k osteoporóze

• Hoci je osteoporóza ochorenie, vyznačujúce sa multifaktoriálnou etiológiou, 50 až 80%-ný podiel fenotypovej variability tvorí práve genetické pozadie. Dokonca v niektorých zriedkavých prípadoch môže ísť o familiárnu formu osteoporózy, spôsobenú jedinou mutáciou v konkrétnom kandidátnom géne.



ER β varianty

Podobne ako splicingové varianty ER α , aj varianty ER α sa vyskytujú v normálnych i v patologických tkanivách.

Najčastejšie splicingove varianty vedú k:

- delécii exónu 2, 3, 4, 5, 6, zistených v endometriu uteru, ováriu, ca. prsníka, kostnom tkanive
- zámene 61 C-terminálnych AMK za 26 nových AMK (hER β 2)
- zámene 61 C-terminálnych AMK za 44 nových AMK (hER β 3)
- AMK 409-469 ER2 + 12 nových AMK (hER β 4)
- AMK 409-469 ER2 + 3 nové AMK (hER β 5)

Progesterónové receptory - základná charakteristika

- PGR gén je lokalizovaný na 11. chromozóme (11q22) a kóduje šesťdoménový proteín s celkovou dĺžkou 933 AMK
- expresiou PGR génu z dvoch odlišných promótorových oblastí a translačných miest sa vytvárajú dve samostatné izoformy (PGRA, PGRB), líšiac sa 165 prídavnými AMK na N-terminálnom konci PGRB, kvôli čomu aj fyziologický dopad PGRA a PGRB je značne odlišný
- kým PGRA vystupuje ako aktivátor transkripcie génov progesterónovej odozvy (PRG), PGRA je represorom aktivity PGRB a zároveň inhibítorom transkripcie, aktivovanej ER

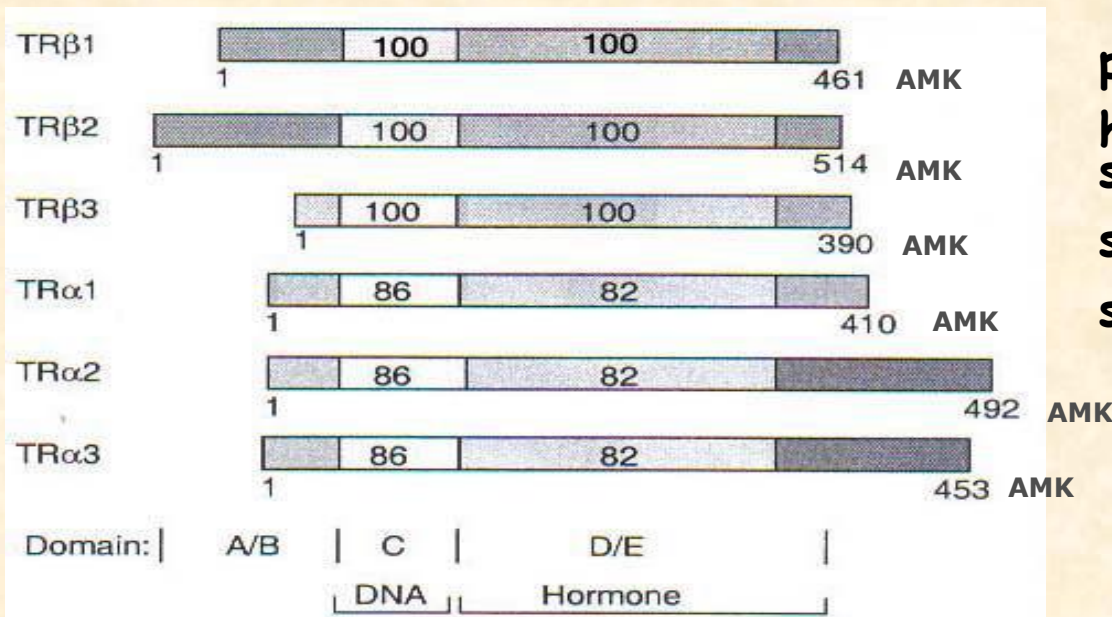
PGR v asociácii s patológiami

- na základe pokusov na KO myšiach sa usudzuje, že mutácie PGR génu spôsobujú produkciu defektného proteínu, resp. vedú k jeho zníženej expresii, čo následne môže viesť k rôznym poruchám: napr. sexuálneho správania, anovulácii, gonádotropínovej regulácie, dysfunkcii uteru; počas tehotenstva u plodov dochádza k poruchám tvorby ovariálnych duktov, regulácie tymickej involúcie a kardiovaskulárneho systému
- PGR boli taktiež identifikované v CNS a v kostnom tkanive a odhaduje sa, že - zatiaľ neznámym spôsobom!
 - vplývajú i na kognitívne funkcie a kostné procesy
- v humánnej medicíne dosiaľ práce ohľadom účinku defektných, resp. deficitných PGR prakticky úplne absentujú

Tyroidné hormónové receptory (TRs)- základná charakteristika

- sú kódované dvoma génmi: *THRA* (17q11.2) a *THRB* (3p24.3), obsahujúcich 10 exónov
- alternatívnym splicingom primárneho transkriptu vznikajú 4 izoformy T_3 -viažujúceho proteínu ($\beta 1$, $\beta 2$, $\beta 3$ a $\alpha 1$) a 2 izoformy proteínu, na ktorý sa T_3 neviaže ($\alpha 2$ a $\alpha 3$)

miesto expresie T_3 -viažúcich tyroidných proteínov v tkanivách:



pečeň, obličky, štítna žľaza
hypofýza, hypotalamus,
sietnica, vnútorné ucho
srdce, obličky
srdce, kosti, mozog

Mutácie v *THRB* géne spôsobujúce vrodený syndróm Tyroidnej hormónovej rezistencie

- ide o autozomálne dominantné ochorenie
- charakteristickým znakom je zvýšená hladina tyroidných hormónov v sére a zvýšená alebo nepotlačená hladina TSH (Thyroid Stimulating Hormone)
- klinickými príznakmi sú struma, nízky vzrast, strata váhy, tachykardia, strata sluchu, pokles IQ a dyslexia; príznaky sa môžu meniť medzi postihnutými rodinami, ale aj navzájom medzi členmi postihnutej rodiny
- bodové mutácie generalizovanej tyroidnej rezistencie sa vyskytujú najmä v oblastiach bohatých na CG

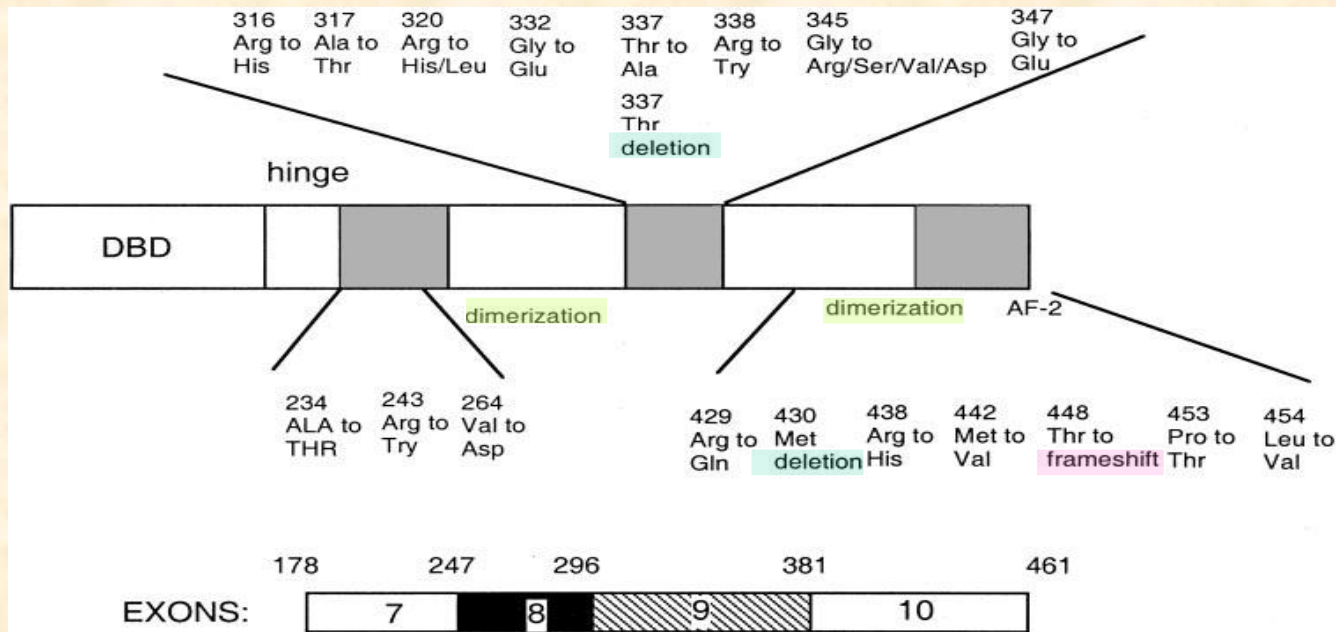
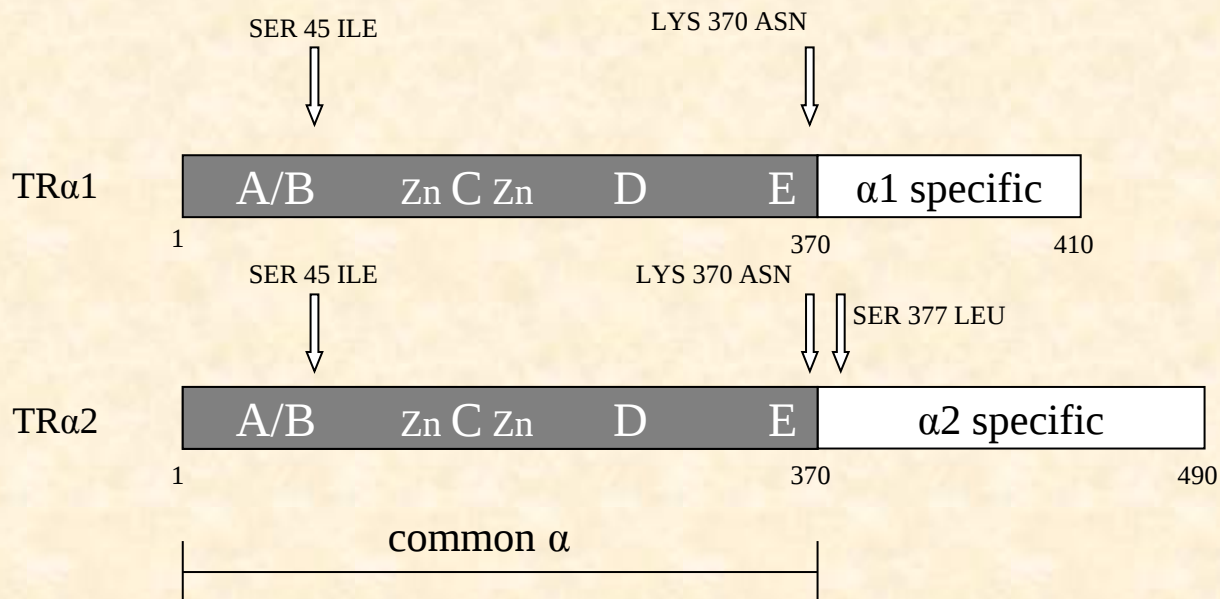


Diagram „hot spots“ v oblasti LBD (ligand binding domain)

THRA gén obsahuje 10 exónov, z ktorých posledné dva podliehajú alternatívnemu splicingu

- v jednej práci sa sledovali mutácie tohto génu u pacientov s nefunkčným nádorom hypofýzy; identifikovali sa 3 nové mutácie, pričom 2 z nich boli v homologickej časti *THRA* génu a 1 v časti charakteristickej pre α -2 izoformu

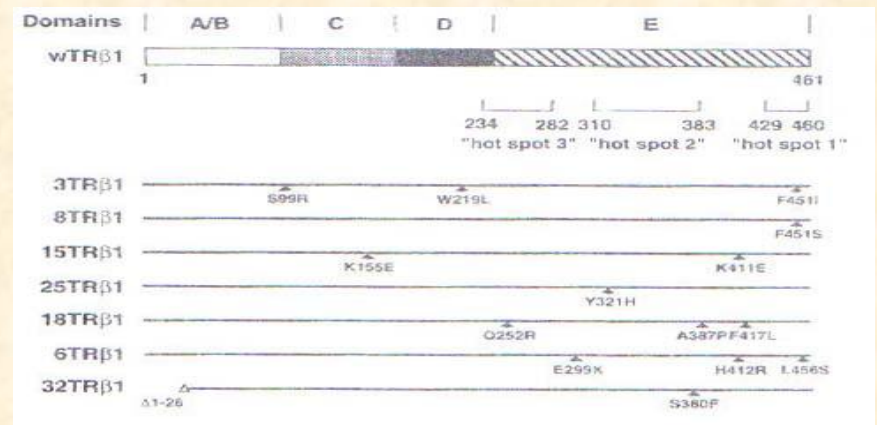
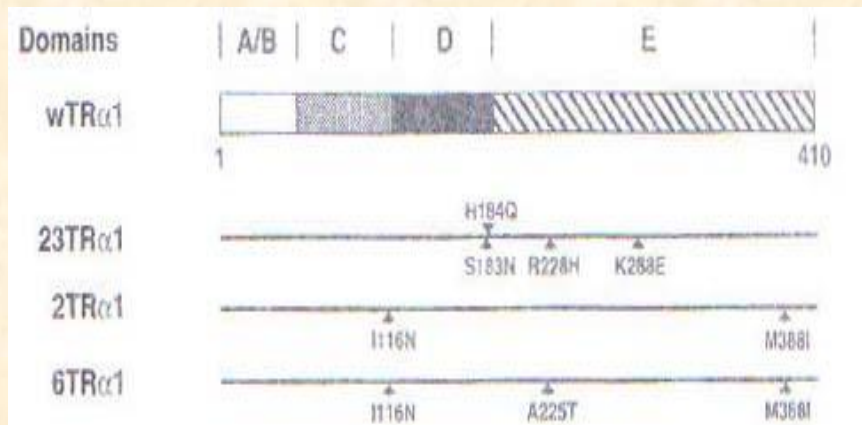
- toto ochorenie tvorí 25% nádorov predného laloku hypofýzy a je sprevádzané zvýšenou tvorbou glykoproteínových hormónov α -podjednotky



Mutácie TR

- napríklad pri Renal Clear Cell Carcinoma bolo v ligand-viažucej doméne (LBD) *THRa1* a *THRβ1* izoforiem nájdených niekoľko mutácií, ktoré znemožňujú väzbu T3 hormónu na TREs, a tým dochádza k strate transkripčnej aktivity
- toto ochorenie predstavuje 80% zo všetkých obličkových nádorov

Prehľad lokalizácie mutácií v doménach *THRa* a *THRβ* génov pri Renal Clear Cell Carcinoma



Ďakujeme za pozornosť.