



Nukleární receptory



19.5.2008

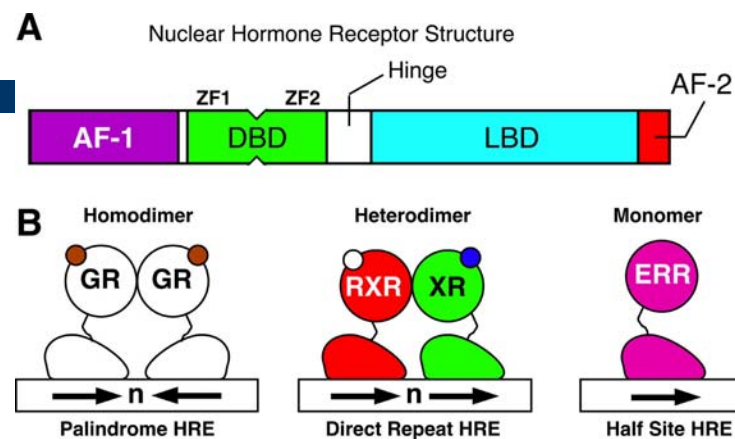
Superrodina nukleárních receptorů

- Společná struktura:
- DNA vazná doména (DBD)
- vazná doména pro ligand (LBD)
- AP-1
- AP-2
- Typy nukleárních receptorů
 1. steroidní
 - 2. nesteroidní (RXR heterodimer)
 - 3. ERR

Human Nuclear Hormone Receptor Super Family

Endocrine Receptors	Adopted Orphan Receptors	Orphan Receptors
Steroid Receptors GR glucocorticoid MR mineralocorticoid PR progesterone AR androgen ER α,β estrogen	Lipid sensors RXR α,β,γ 9cRA PPAR α,δ,γ fatty acids LXR α,β oxysterol FXR bile acids PXR xenobiotics	SHP ? DAX-1 ? TLX ? PNR ? GCNF ? TR2,4 ? NR4A α,β,γ ? Rev-erb α,β ? COUP-TF α,β,γ ?
Heterodimeric Receptors TR α,β thyroid hormone RAR α,β,γ retinoic acid VDR vitamin D (bile acid)	Enigmatic Orphans CAR androstane HNF-4 α,γ fatty acids SF-1/LRH-1 phospholipids ROR α,β,γ cholesterol ERR α,β,γ retinoic acid estrogen?	

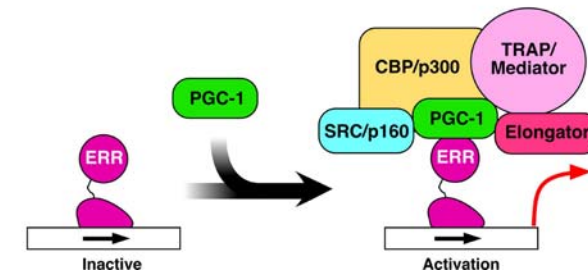
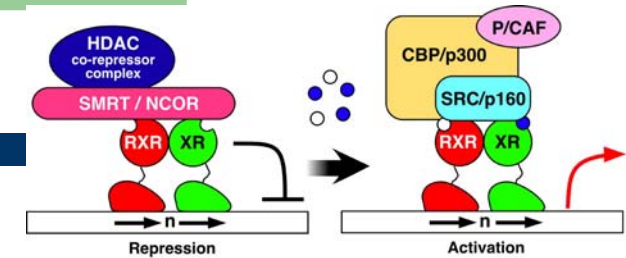
Laszlo Nagy and Peter Tontonoz, 2008



Laszlo Nagy and Peter Tontonoz, 2008

K předchozímu obrázku

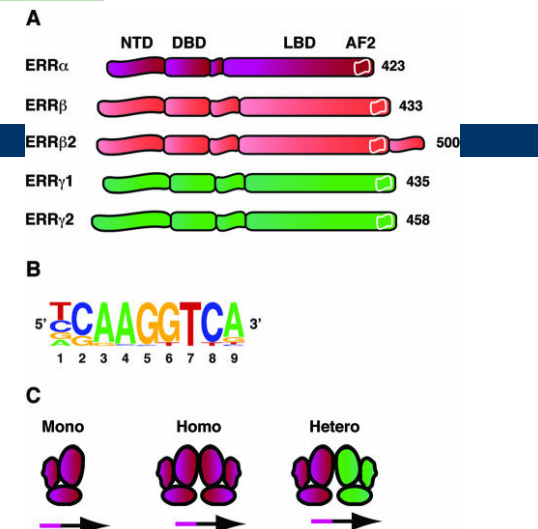
- (A) Společná struktura domén NR s aktivací v N-terminální oblasti (AF-1), DNA vazné domény s (DBD) skládající se z dvou zinkových prstů (ZF), nekonzervované non-conserved závěsné oblasti (Hinge), domény pro vazbu ligand (LBD), a C-terminálního helixu AF-2.
- (B) Dimerizace a DNA vazné sekvence.
- From the left, homodimeric endocrine receptor (Palindrome HRE), RXR heterodimers (Direct Repeat HRE) and monomeric orphan receptor (Half Site HRE). Arrows: the consensus NR recognition sequence AGGTCA or a variant.
-
-

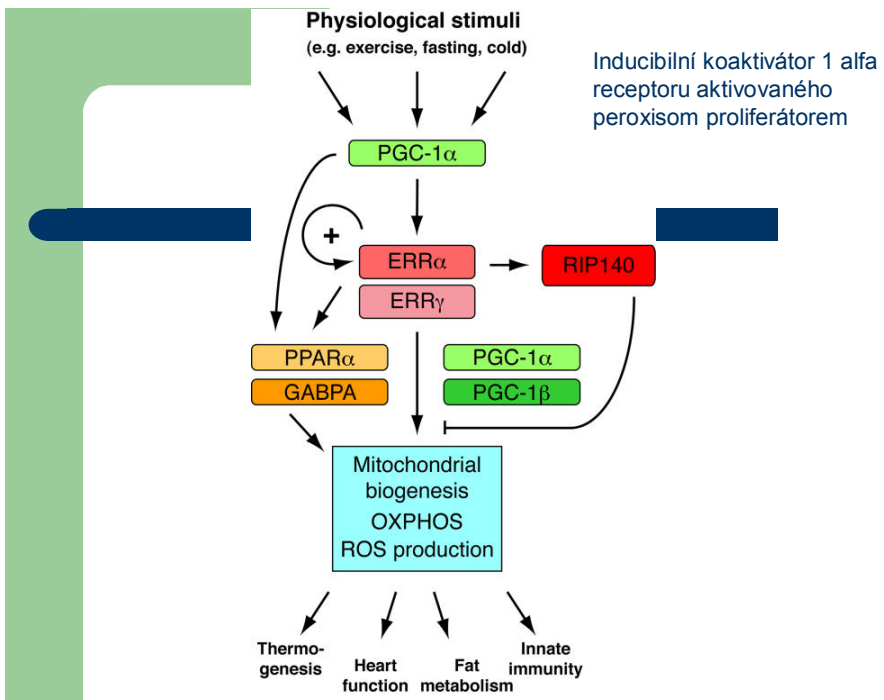


Laszlo Nagy and Peter Tontonoz, 2008

Typická cesta aktivace NR

- v nepřítomnosti ligandu tvoří NR represivní komplex s HDAC (histon deacetylázy) přes korepresor SMRT nebo NCOR.
- Vazba ligandu indukuje disociaci korepresorů a povolání koaktivátorů včetně HAT (histon acetyltransferázy) a komplexů remodelujících chromatin.
- Některé NT jsou aktivovány na ligandu nezávislou vazbou koaktivátoru PGC-1 a následným povoláním dalších koaktivátorových komplexů



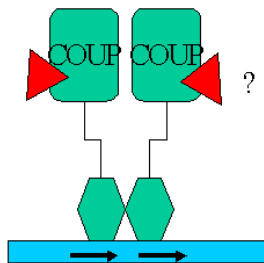


Seznam známých funkcí ERR a jejich asociovaných genů

Tissue	Isform	Function	Prototype target genes
Bone	α	Formation, differentiation	OPN
Breast cancer	α, γ	Prognostic markers, interfere with E2 response	Aromatase, TFF1
Brown adipose	α	Adaptive thermogenesis, mitochondrial biogenesis	IDH3A, CPT-1b
Cartilage	α	Formation and maintenance	Sox9
Heart	α, γ	Bioenergetics, conduction	Arg5b, An1, Ckm2, Casq2, Ldb3, Top
Inner ear	β	Epithelial cell fate, inner ear fluid homeostasis	KCNQ1, Scd264
Intestine	α	Fat transport and absorption	ApoA4
Liver	α	Suppressing gluconeogenesis	PEPCK
Macrophages	α	ROS production, innate immunity	Aox2
Placenta	β	Trophoblast differentiation	?
Skeletal muscle	α	Mitochondria biogenesis, OXPHOS	Cysc, GABPA, ESRRA
White adipose	α	Lipid metabolism	Fasn, Acadm

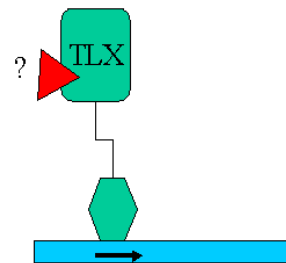
Orphan Receptors

Homodimeric Orphan Receptors

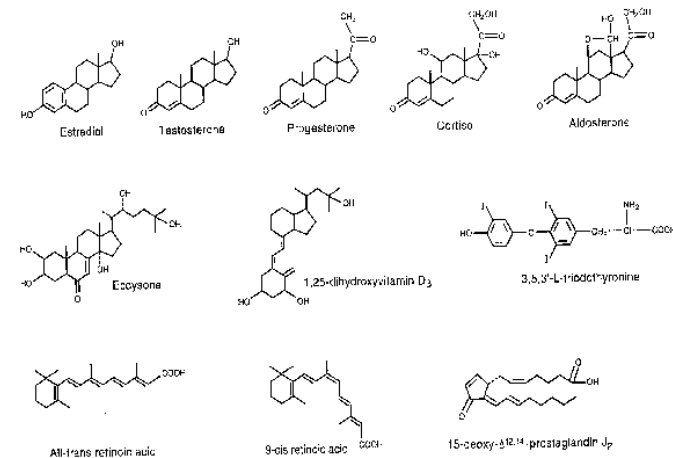


LXR-liver X-receptor
FXR-farnesoid X receptor

Monomeric Orphan Receptor



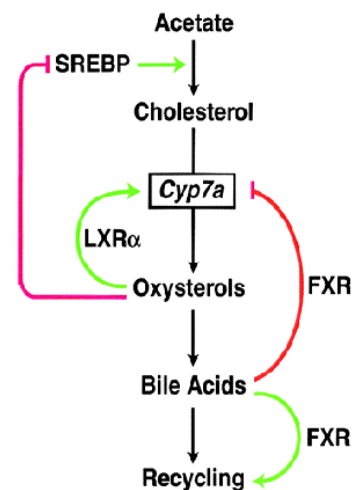
Structure of Known Ligands for Nuclear Hormone Receptors



Signální transdukce

- Ligandy jsou **hydrofilní** nebo **hydrofobní**
- Receptor: **povrchový** nebo **intracelulární**
- **lipofilní hormon**-váže se na intracelulární receptor-jádro-DNA a reguluje expresi
- **hydrofilní liganda**-povrchový receptor
- 1.kinázová signální cesta-kináza vstupuje do jádra (MAPK)
- 2.kinázová cesta-uvolnění inhibičního proteinu-transkripční faktor vstupuje do jádra (NF- κB)
- 3.kináza-transkripční nebo regulační faktor vstupuje do jádra (JAK-STAT a Smad).

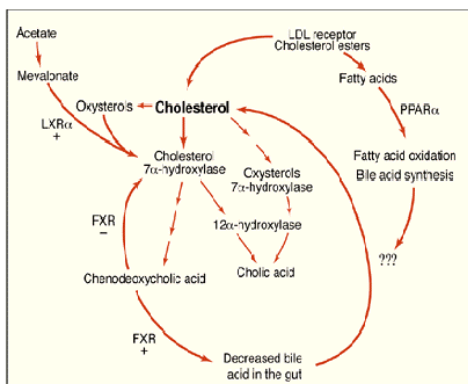
Regulatory Loops in Cholesterol Metabolism



Black arrows indicate metabolic pathways involving cholesterol and bile acids. The cholesterol 7 α -hydroxylase target gene (Cyp7a) is boxed. Green arrows indicate positive regulation. Red brakes indicate negative regulation.

Bilious Biochemical Pathways

A number of nuclear receptors are involved in the biochemical pathways that regulate cholesterol homeostasis.



For example, FXR binds bile acids that are important in the disposal of cholesterol. When bound to bile acids, FXR switches off (-) production of cholesterol 7 α -hydroxylase (which is the rate-limiting step in bile acid synthesis) and switches on (+) synthesis of bile acid transporter proteins, leading to a decrease in bile acid in the gut and an increase in cholesterol levels in the blood. Another nuclear receptor, LXR α , which binds oxysterols, induces the synthesis of bile acids by up-regulating (+) cholesterol 7 α -hydroxylase. In addition to the classical pathway of bile acid synthesis, there is an alternative pathway in which oxysterol 7 α -hydroxylase is the rate-limiting enzyme.

Kontrola cholesterolového katabolismu nukleárními receptory typu „orphan“

- **Chenodeoxycholát**, žlučová kyselina derivovaná z cholesterolu, vstupuje do interakce s FXR a suprimuje transkripci genu pro Cyp7a, jehož produkt katalyzuje rychlost limitující krok v syntéze žlučových kyselin z cholesterolu.
- FXR aktivovaný ligandem také indukuje transkripci IBABP, genu kódujícího transportní protein, který podporuje zpětné vychytávání žlučových kyselin v tenkém střevě. Metabolity cholesterolu regulují syntézu ŽK v játrech prostřednictvím zpětnovazebné suprese Cyp 7a a jejich transport přes střevo indukci IBABP.

Vitamin A

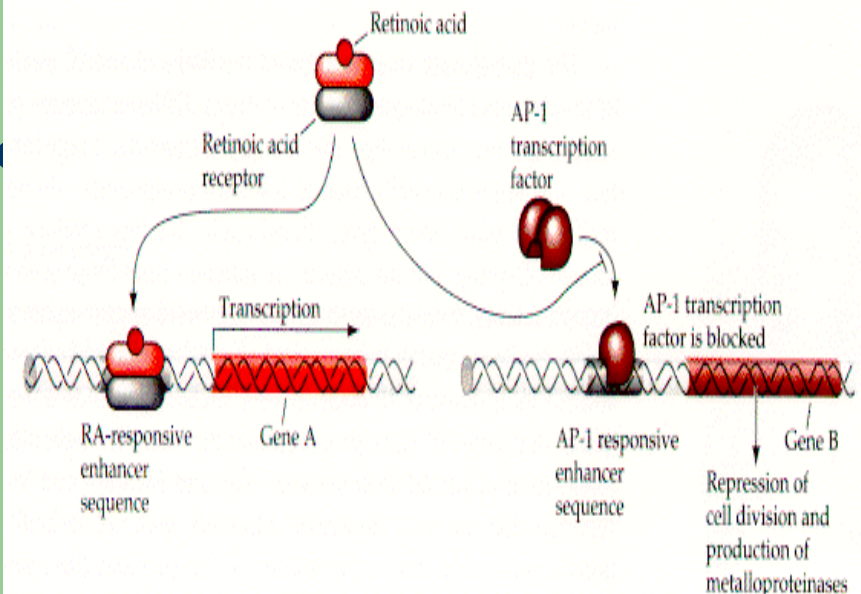
- Absorbce vyžaduje přítomnost solí žlučových kyselin
- Teratogenní vlastnosti- Isotretinoin
- Antikancerogenní efekty- snad jako antioxidant snižuje tvorbu volných radikálů a může tak omezovat ničivý vliv kancerogenů na DNA.
- Skvamózní metaplazie v respiračním traktu při deficitu vitaminu A
- Ovlivňuje senzitivitu na světlo

Vitamin A

- Vitamin A (retinol) a jeho biologicky aktivní deriváty (retinoidy), především kyselina retinová (RA) mají pleiotropní účinky na:
 - vývoj
 - buněčnou proliferaci, diferenciaci a apoptózu
 - homeostázu
 - vidění
 - reprodukci

Kyselina retinová (RA)

- *Kyselina retinová (RA)* i jiné retinoidní analogy jsou schopny inhibovat produkci IL-6, vyvolanou IL-1.
- Tento efekt je alespoň částečně modulován transkripčně.



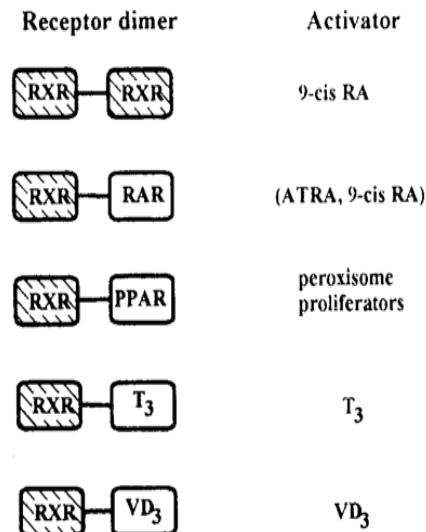
Ligandy pro RA

- RA působí prostřednictvím:
- RAR (izoformy α , β a γ)
- RXR (izoformy α , β a γ)
- RAR:RXR heterodimery

Mechanismy akce RXR

- Mechanismy:
- 1. Ligandy jsou různé, ne nutně endokrinní, mohou být intracelulární
- 2. Mohou existovat i některé cesty nezávislé na ligandě (fosforylační kontrola)
- 3. Spolupráce s jinými faktory, jako je AP-1
- Model aktivace: neligovaný receptor se váže na DNA a vytváří komplex s korepresorem-ligand se váže na DNA a uvolňuje korepresor-interakce s koaktivátory

RXR a jeho promiskuitní partneři v nukleární receptorové funkci

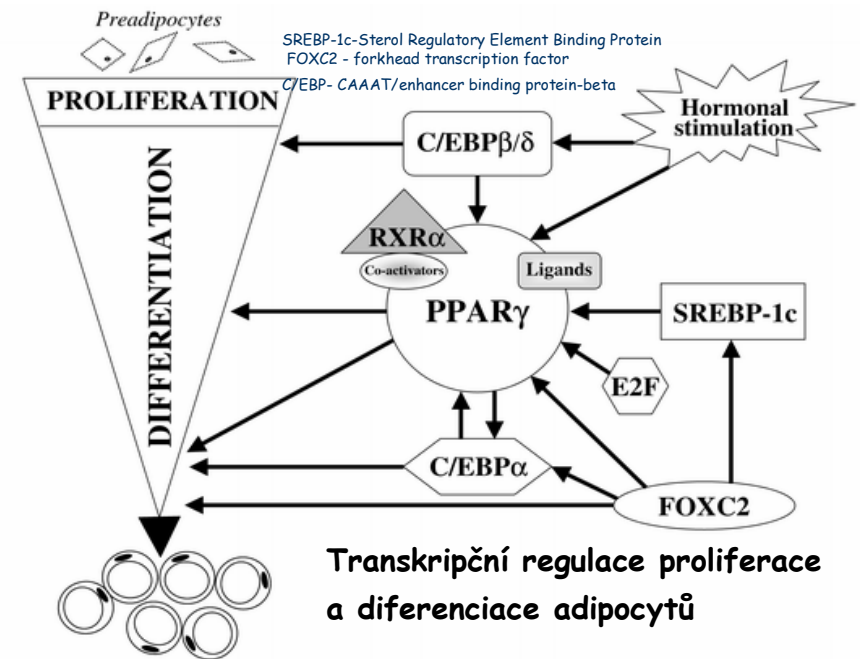


Extracelulární vazné proteiny

- **RBP**- retinol binding protein- retinol je ve vazbě sekretován játry. RBP produkován játry a tukovou tkání.
- **retinol-RBP-TTR complex** (transthyretin) : cirkulace v krvi (úzké rozmezí)

Intracelulární vazné proteiny

- **CRBPs**- cellular retinol binding proteins-
CRBPI- cytoplasma mnohých typů buněk
- **CRBPII**- cytoplasma střevních buněk
- **CRABPs**- cellular retinoic acid binding proteins- semenné vajíčky, vas deferens, kůže, oko
- **CRABPII**-kůže



ADIPOCYTE-SPECIFIC GENE EXPRESSION

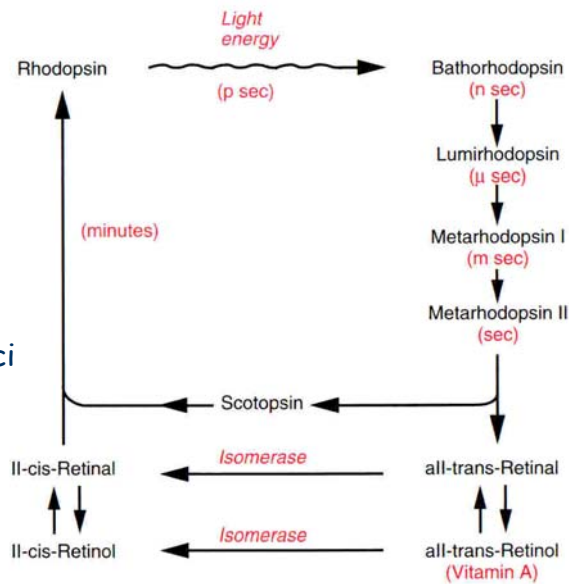
Deficit vitamínu A:

- akne
- zastavení růstu mlád'at včetně skeletálního
- selhání reprodukce, spjaté zejména s atrofií germinálního epitelu varlat a někdy s přerušením ženského sexuálního cyklu
- keratinizace rohovky s následnou slepotou

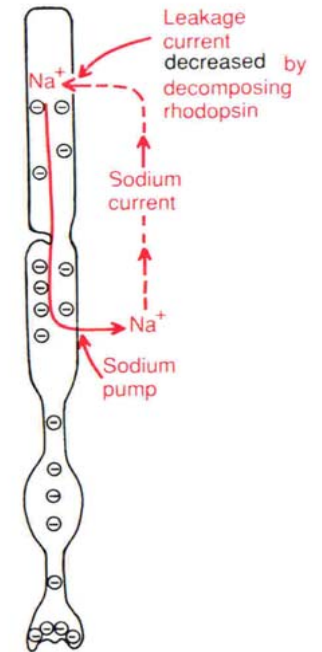
Deficit vitamínu A

- primární defekt ve funkci Th buněk. Podkladem tohoto defektu je zřejmě nadprodukce IFN- γ . Retinoidy zřejmě působí až na efektorové stadium aktivace T-buněk.
- modulace syntézy imunoglobulinů prostřednictvím RA se zřejmě uskutečňuje také přímým efektem na B-buněk. Tento efekt zvyšující syntézu Ig je zřejmě modulován, alespoň částečně, autokrinními nebo parakrinními efekty IL-6 na diferenciaci B-buněk.

Rhodopsinový sítnicový vizuální cyklus v tyčince, který ukazuje dekompozici rhodopsinu během světelné expozice a následnou pomalou novotvorbu rhodopsinu chemickými procesy



Tvorba hyperpolarizačního receptorového potenciálu způsobeného dekompozicí rhodopsinu



Účinky vitaminu A a E

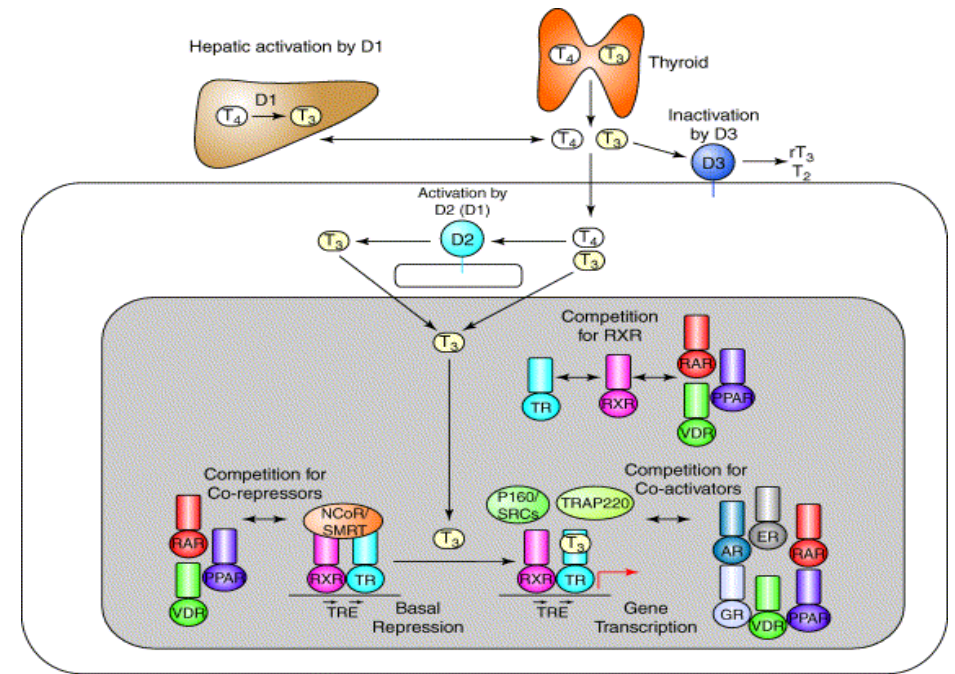
- β - karoten, vitamin A a vitamin E zřejmě redukuje vznik/rozvoj:
- ústní prekancerózy
- prekancerózy děložního čípku, kůže a plic

Cílové geny pro vitamin D

Gen	Transkripce
Receptor pro vitamin D (VDR)	zvýšená
Proteiny vázící Ca (kalbindiny)	zvýšená
Kalciová pumpa	zvýšená
Osteokalcin	zvýšená
Alkalická fosfatáza	zvýšená
24-hydroxyláza	zvýšená
PTH	snížena
1-hydroxyláza	snížena
Kolagen	snížena
Interleukin-2	snížena
Interferon γ	snížena

RAR a VDR

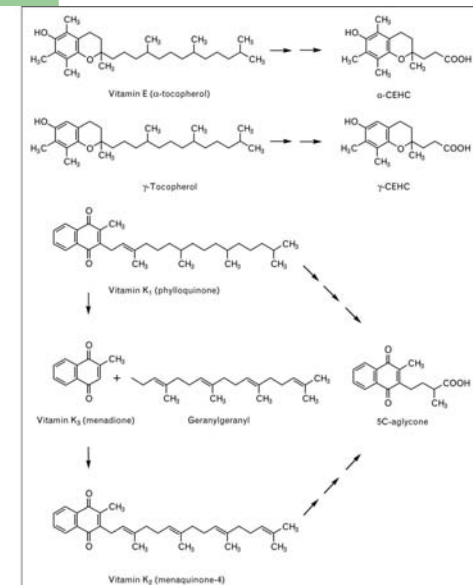
- vážou se preferenčně s nukleárním faktorem pro 9-cis RA, který se označuje jako RXR -retinoidní X receptor
- RAR-VDR heterodimery.
- Oba typy vstupují do interakce se členy stejných tříd koaktivátorů, korepresorů a kointegrátorů (proteiny). Tyto podobné molekulární mechanismy umožňují interakce RAR a VDR, založené na alosterických interakcích protein-protein.



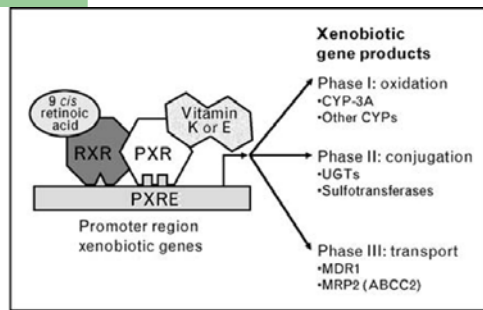
TRENDS in Endocrinology & Metabolism

Vitamin E

- je schopen efektivně inhibovat cytokiny indukovaný NFκB. Ten hraje klíčovou roli např. při indukci iNOS prostřednictvím lipopolysacharidů.
- **Familial vitamin E deficiency (AVED)** způsobuje ataxii a periferní neuropatii, která se podobá Friedreichově ataxii. Byly u ní objeveny 3 mutace v alfa-tokoferol transfer protein (TTP) genu (2 závažnější byly typu frame-shift).



Vitamin E metabolites [α-CEHC (2,8,7,8-tetramethyl-2'-[2'-carboxyethyl]-6-hydroxychroman) and γ-CEHC (2,7,8-trimethyl-2'-[2'-carboxyethyl]-6-hydroxychroman)] are derived from α-tocopherol and γ-tocotrienol and from γ-tocopherol and γ-tocotrienol, respectively. Vitamin E side chains first undergo ω-hydroxylation and then multiple rounds of β-oxidation. Vitamin K metabolites common to both phyloquinone and the menaquinone series are 2-methyl-3-[β'-carboxy-β'-methyl-2'-geranyl]-1,4-naphthoquinone (7C-acylquinone; not shown) and 2-methyl-9-[β'-β'-carboxymethylgeranyl]-1,4-naphthoquinone (5C-acylquinone). The vitamin K side chains first undergo ω-hydroxylation then multiple rounds of β-oxidation to yield the metabolites. Importantly, this hepatic metabolic process may produce menaquinone from phyloquinone. Menaquinone can then be converted to menaquinone-4 (vitamin K₂) by the addition of geranylgeranyl by the esterase hepatic tissues.



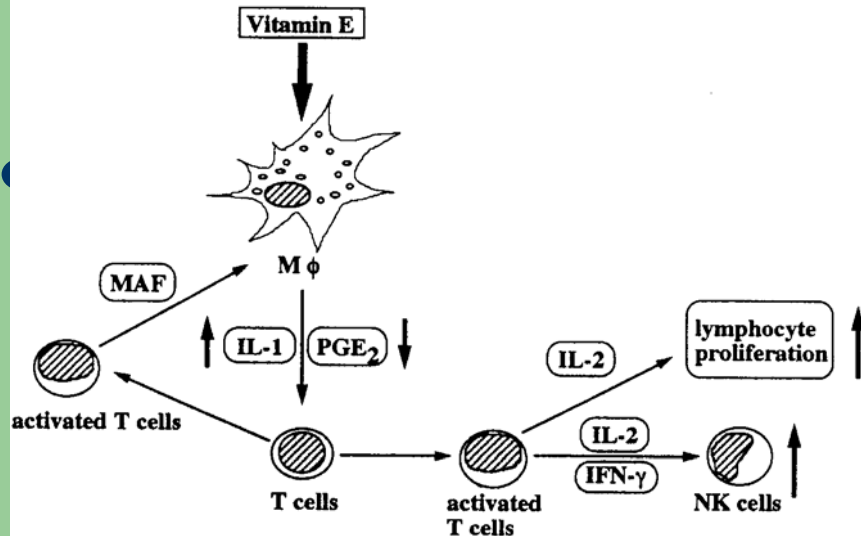
Hypothetically, vitamins E and K could bind to the same ligand-binding site of pregnane xenobiotic receptor (PXR). When PXR dimerizes with retinoid X receptor (RXR) with bound retinoic acid, the dimer can then bind to the PXR response element (PXRE) in the promoter region of various xenobiotic metabolism-related proteins (phase I, II, or III). In this manner, excess vitamins E and K can regulate their own metabolism. We postulate that vitamin E supplements may increase hepatic α -tocopherol to sufficiently high levels as to interfere not only with phyloquinone binding to PXR but also with the conversion of phyloquinone to menaquinone-4 by preventing the phyloquinone tail shortening (see Fig. 1 for structures). Presumably, α -tocopherol would competitively prevent the ω -hydroxylation of the tail and its subsequent β -oxidation. The net result would be a decrease in the active vitamin K_2 form (menaquinone-4). ABCC2, ATP-binding cassette, subfamily C, member 2; MDR1, multidrug resistance; MRP2, multidrug resistance protein 2; UGT, UDP-glucuronosyltransferase.

Vitamin E a K

- U ostatních vitaminů rozpustných v tucích (K a E) nejsou interakce s nukleárními receptory známy, ale jejich struktura tuto možnost nevyklučuje.
- Vitamin E působí přes transkripční faktory, jako je AP-1.

Deficit vitaminu E a kvalita imunitní odpovědi u člověka

Imunitní odpověď	Výsledek
Mitogeneza T buněk	Snížená
Produkce IL-2	Snížená
Fagocytóza PMN	Snížená
Chemotaxe PMN	Snížená



Aktivace makrofágů a buněk typu NK vitaminem E

Oxidační stres

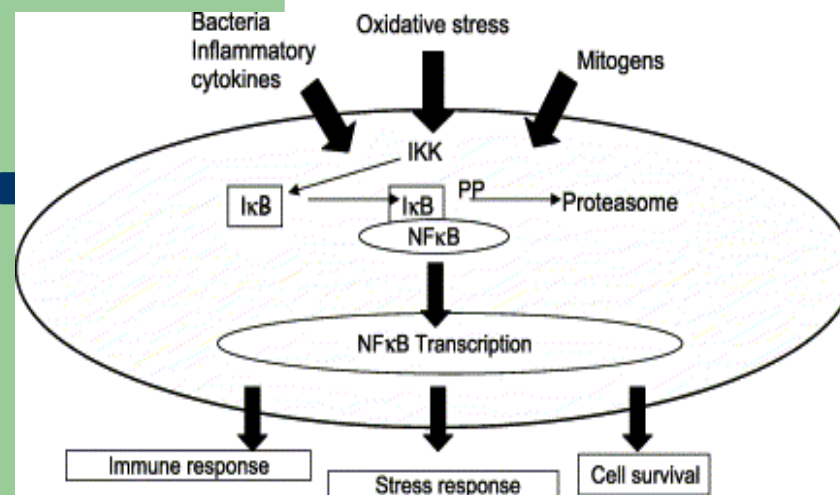
- Je definován jako nerovnováha mezi oxidanty a antioxidanty ve prospěch oxidantů, která potenciálně vede k poškození buňky nebo jejích struktur.

Oxidační stres

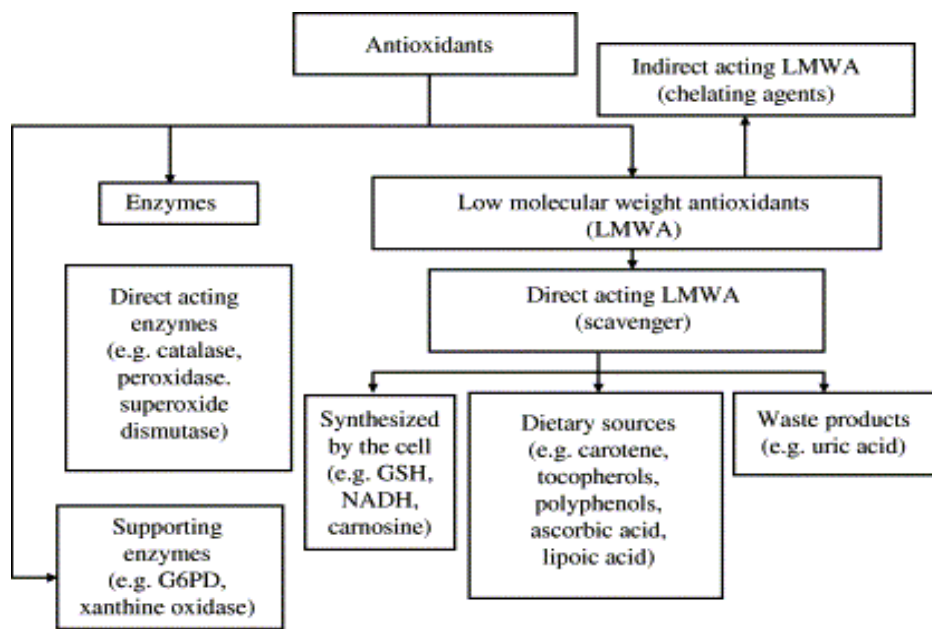
- je spjat se zmenšením počtu antioxidantních molekul, jako alfa-tokoferol.
- Alfa-tokoferol specificky snižuje proliferaci buněk hladké svaloviny cév v závislosti na koncentraci. Snižuje přitom aktivitu proteinkinázy C zvýšením aktivity protein fosfatázy 2A1, který defosforyluje PKC-alfa, což vede ke změnám složení a vazby transkripčního faktoru pro AP-1 na DNA.
- několik genů v buňkách hladké svaloviny cév mění svou transkripci pod vlivem alfa-tokoferolu. Zvyšuje se transkripce i translace alfa-tropomyosinu, ale jen pod vlivem alfa-tokoferolu, nikoliv beta-tokoferolu
- PKC-alfa se v průběhu života zvyšuje 8x, podobně jako MMP-1, která degraduje kolagen. Alfa-tokoferol snižuje expresi MMP, aniž ovlivňuje aktivitu TIMP-1.

Oxidační stres

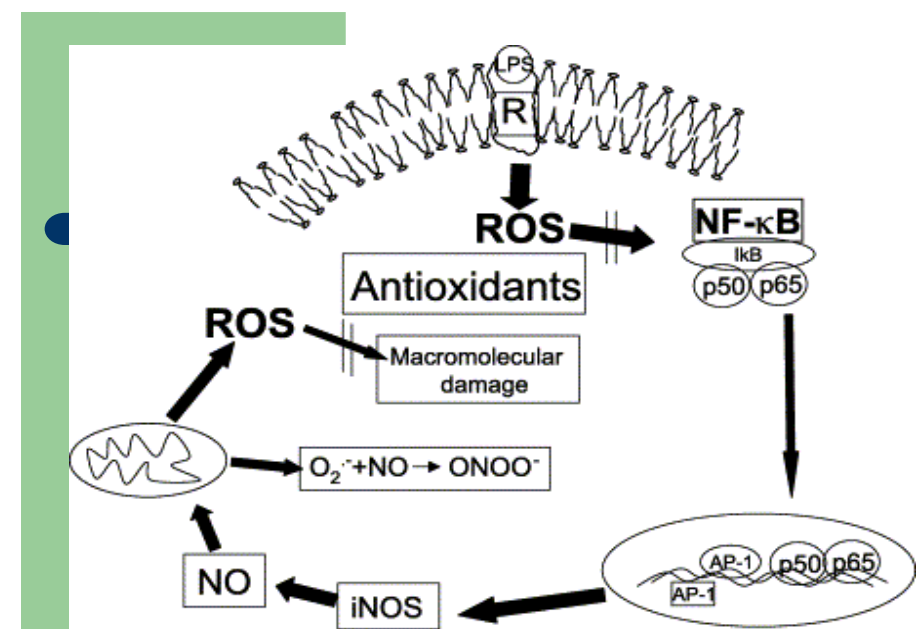
- nezávisle na doprovodných proměnných, jako je tkáňová reakce, moduluje expresi genů pro kolagen *in vivo*.
- Rovnováha v oxidačním-antioxidačním stavu je důležitou determinantou pro funkci imunitních buněk.
- Zajišťuje:
 - udržování integrity a funkčního stavu membránových lipidů, celulózních proteinů a NK
 - kontrolu signální transdukce buněk imunitního systému
 - kontrolu genové exprese buněk imunitního systému



Signalizace oxidačního stresu. Cytokiny a ROS indukují aktivaci NF-κB. Tato aktivace zabraňuje apoptóze buněk navozované TNF upregulací antiapoptotických genů



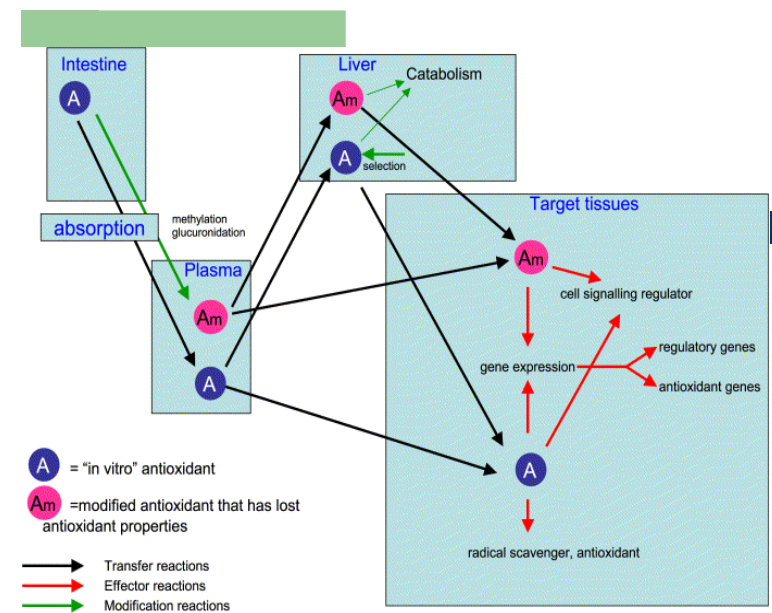
Antioxidační obranný systém



Možná místa působení antioxidant.

Rovnováha oxidant a antioxidant

- K udržení imunitních funkcí v průběhu celého života je potřeba optimálního množství antioxidant.
- S věkem stoupá:
 - produkce volných kyslíkových radikálů
 - peroxidace lipidů
- Přirozenými antioxidanty jsou
 - vitamin E
 - β-karoten
 - glutathion.



Absorbce, modifikace, distribuce a účinky molekul s antioxidačními účinky *in vitro*

Kouření a antioxidační potenciál

- Kuřáci mají obvykle nízký příjem nutričních antioxidantů.
- U kuřáků byly nalezeny:
 - vyšší plasmatické hladiny TNF a IL-6
 - nezměněné hladiny vitamínu A a E
 - nižší hladina vitamínu C, ačkoliv příjem vitamínu C se od nekuřáků neliší
 - zvýšená je produkce proteinů akutní fáze (alfa-1 kyselý glykoprotein, ceruloplasmin, alfa-2 makroglobulin).