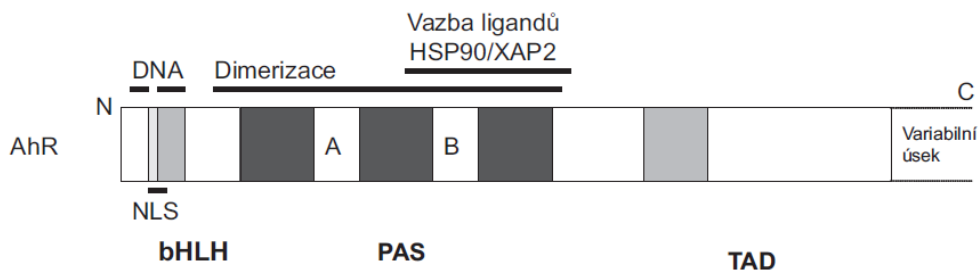


X.X Ah receptor, regulace metabolismu cizorodých látek a základních buněčných funkcí

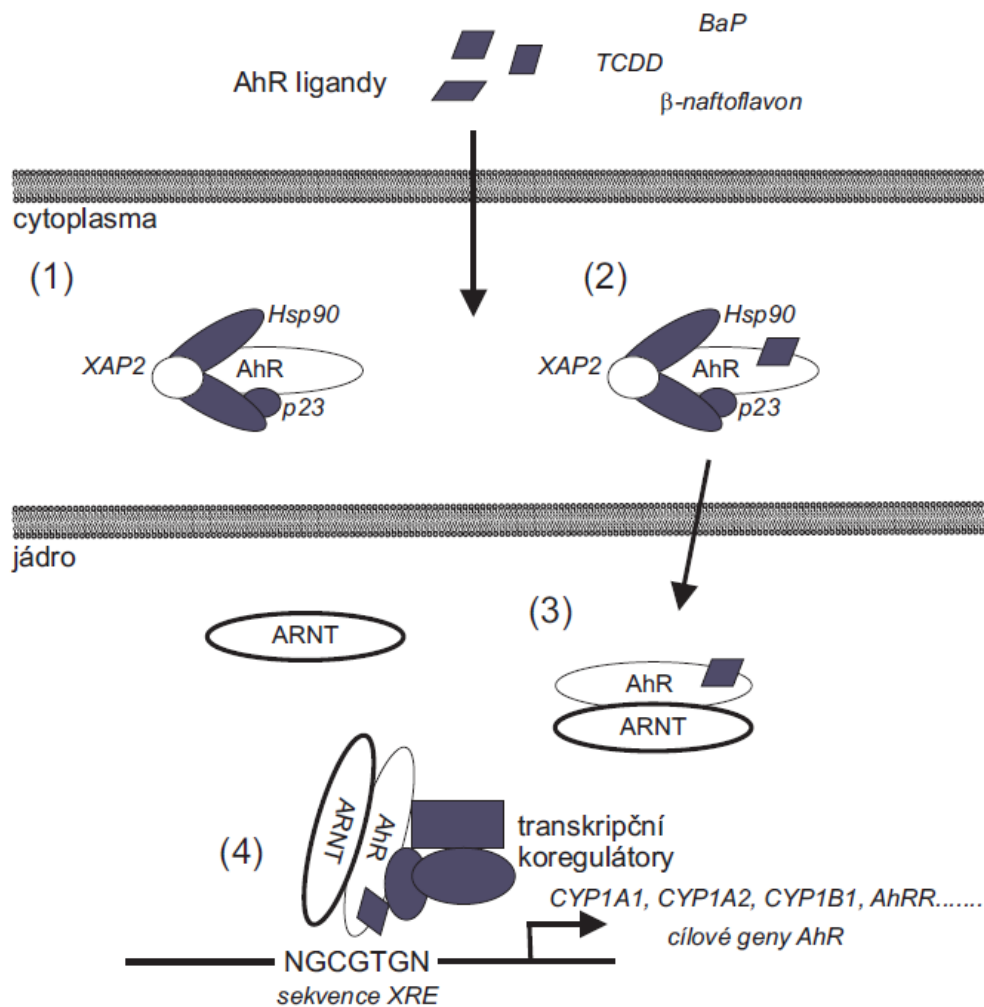
Existence receptoru pro aromatické uhlovodíky (angl. *aryl hydrocarbon receptor*), zkráceně Ah receptoru, byla předpokládána již od 60. let, na základě genetických studií využívajících inbrední kmeny myši, které se významně lišily v inducibilitě enzymových aktivit asociovaných s rodinou 1 cytochromů P450. Teprve v 80. letech se však podařilo částečně purifikovat AhR protein, jehož cDNA sekvence byla posléze popsána počátkem 90. let. Jedním z překvapivých zjištění bylo, že se nejedná o jaderný receptor, ale o člena rodiny proteinů souhrnně označovaných jako PAS proteiny, jejichž společným rysem je to, že obsahují tzv. PAS (Per-Arn timer-Sim) doménu. PAS proteiny představují evolučně velmi starou skupinu proteinů. PAS doména, nebo struktury jí příbuzné, byly identifikovány u řady proteinů, nalezených jak u živočichů, tak u rostlin a prokaryotických organismů. Obecně jsou považovány za proteiny, které se podílejí na regulaci odpovědi organismu na rychlé změny v okolním prostředí – především na změny hladiny kyslíku, světla apod. Jedním z nejvýznamnějších zástupců této skupiny proteinů je, vedle samotného AhR, také faktor indukovaný hypoxií- α (HIF-1 α), který hraje významnou roli v buněčné odpovědi na snížený parciální tlak kyslíku. AhR (Obr. 1) se skládá ze tří hlavní domén.



Obr. 1 Struktura AhR

V N-koncové oblasti leží doména zodpovědná za vazbu na specifické sekvence DNA – bazická šroubovice-smyčka-šroubovice (angl. *basic helix-loop-helix*). Za ní následuje PAS doména, která zprostředkovává vazbu ligandů AhR a jeho další interakce s proteiny v cytoplazmě i v jádře. V C-koncové oblasti proteinu se nachází transaktivační doména, typicky obsahující velké množství glutaminových reziduí, která je nezbytná pro transkripční aktivitu AhR.

AhR tedy představuje transkripční faktor, který je aktivován specifickými ligandy a reguluje expresi cílových genů. V inaktivní formě je lokalizován v cytoplazmě, kde je součástí komplexu se dvěma proteiny Hsp90 (angl. *heat shock protein 90*), proteinem XAP2 a p23 (Obr.2, část (1)). Tyto proteiny vytvářejí v nepřítomnosti AhR ligandu tzv. inaktivní komplex. Po navázání ligandu na AhR dochází ke změně konformace AhR (2), uvolnění Hsp90 a XAP2 a přechodu AhR do buněčného jádra. Na regulaci lokalizace AhR v cytoplazmě či v jádře se podílejí pravděpodobně i proteiny, které s ním vytvářejí cytoplazmický komplex. Otázkou zůstává, zda do buněčného jádra přechází celý komplex nebo pouze AhR. V buněčném jádře vytváří aktivovaný AhR, na který je navázaný ligand, dimer (3) s proteinem ARNT (angl. *AhR nuclear translocator*) a spolu se vážou do cílových regulačních oblastí genů, jejichž transkripce je aktivována AhR (4).

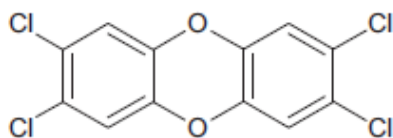


Obr. 2 Schéma aktivace AhR

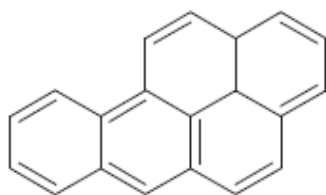
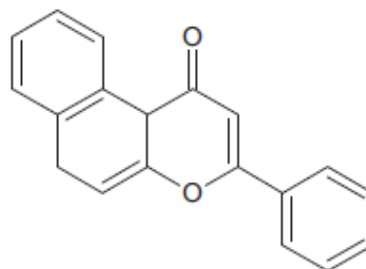
Jejich cílovou sekvencí jsou tzv. xenobiotické (nebo také dioxinové) responzivní elementy (XRE/DRE), které obsahují typickou sekvenci 5'-GCGTG-3'. ARNT (známý také jako faktor indukovaný hypoxií- β) představuje vazebného partnera jak pro AhR, tak pro HIF-1 α , a hraje tak významnou roli nejen v regulaci odpovědi organismu na toxické sloučeniny aktivující AhR, ale také v regulaci odpovědi buněk na snížený parciální tlak kyslíku v okolním prostředí.

Xenobiotik, která jsou ligandy AhR, je známo velké množství a můžeme je rozdělit do tří hlavních skupin. V první řadě se jedná o toxické látky převážně antropogenního původu, jako jsou polycyklické aromatické uhlovodíky (PAH), polychlorované bifenyly (PCB) či polychlorované dibenzo-*p*-dioxiny a dibenzofurany (Obr. 3). Dále jsou to látky přírodního původu (především produkty sekundárního metabolismu rostlin), jako jsou flavony a příbuzné sloučeniny. Poslední skupinou jsou látky, které vznikají přímo v organismu obratlovců, jako jsou např. deriváty aminokyselin (tryptofanu), mastných kyselin (kyseliny arachidonové), žlučová barviva (bilirubin) apod. Těmto sloučeninám je věnována značná pozornost s cílem identifikovat případné přirozené, fyziologické ligandy AhR, které by mohly regulovat jeho aktivitu v organismu.

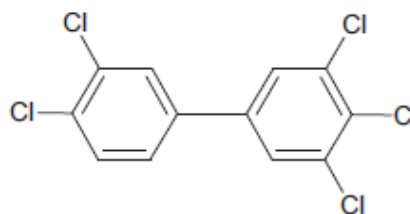
2,3,7,8-tetrachlórdibenzo-*p*-dioxin



β -naftoflavin



benzo[*a*]pyren



3,4,3',4',5-pentachlórbifenylyl

Obr. 3: Modelové ligandy AhR

Přestože geny homologní AhR byly identifikovány i u bezobratlých (např. *Spineless* u *Drosophila melanogaster*, nebo *ahr-1* u *Caenorhabditis elegans*), nebylo zatím prokázáno, že by byly aktivovány toxickými ligandy AhR. Zdá se, že tyto proteiny příbuzné AhR hrají úlohu např. v regulaci vývoje nervové soustavy nebo chování bezobratlých živočichů. Aktivace AhR toxickými ligandy byla tedy zatím pozorována pouze u obratlovců. S výjimkou savců se u obratlovců se mohou vyskytnout dvě formy tohoto receptoru, které jsou kódovány dvěma různými geny.

Dnes je známa celá řada genů jejichž exprese je regulována prostřednictvím aktivovaného AhR. Jedná se především o geny kódující enzymy 1. a 2. fáze biotransformace, jako jsou cytochromy P450 (CYP), UDP-glukuronosyl transferázy, glutathion-S-transferázy, chinonreduktáza apod. V posledních letech se však ukazuje, že AhR hraje významnou roli také v regulaci exprese celé řady genů, které se podílejí na zásadních buněčných procesech, jako je buněčná proliferace, diferenciace, apoptóza či mezibuněčná komunikace. Mezi nejvýznamnější cílové geny AhR patří především rodina CYP1, která v současnosti u savců zahrnuje proteiny CYP 1A1, 1A2 a 1B1. Především v případě prvního z nich hraje AhR zcela zásadní roli v regulaci jeho exprese, na základě čehož je často využíván jako biomarker odrážející kontaminaci životního prostředí AhR ligandy. Za doklad toho, že příslušný studovaný organismus se pohyboval v prostředí znečištěném vysokým množstvím toxických ligandů AhR, se považuje zvýšená hladina CYP 1A1 mRNA, CYP 1A1 proteinu či jeho aktivita. Tato skupina proteinů se v různé míře podílí na metabolizaci velkého množství látek, z nichž mnohé jsou zároveň účinnými ligandy AhR, jako jsou např. PAH, polyhalogenované uhlovodíky, nitrosomočovina, heterocyklické aminy vznikající při tepelném zpracování potravin, aminoazobarviva, některá léčiva apod. Vedle detoxifikace těchto látek však v řadě případů dochází působením CYP1 enzymů i ke vzniku významného množství vysoce aktivních elektrofilních sloučenin, které mohou poškozovat DNA a jsou účinnými mutageny. Typickým příkladem těchto sloučenin je benzo[*a*]pyren (Obr. 3), který je účinným ligandem AhR a po metabolizaci CYP1 enzymy vytváří stabilní adukty na DNA. Jedná se o velmi silný mutagen a karcinogen, který se ve vysokých hladinách nachází např. v cigaretovém kouři či ve znečištěném ovzduší. Vedle exogenních substrátů jsou CYP1 enzymy schopné podílet se na metabolismu také řady endogenních látek, jako jsou např. steroidní hormony (17 β -estradiol) nebo eikosanoidy (produkty metabolismu kyseliny arachidonové). Mohou tedy ovlivňovat i hladiny těchto významných fyziologických regulátorů v organismu. V neposlední řadě se CYP1 enzymy podílejí i na odbourávání řady přírodních látek, jako jsou např.

nejrůznější flavonoidy. Syntetické a přírodní flavonoidy se mohou chovat v závislosti na své struktuře jako agonisté i antagonisté AhR. Některé z těchto látek jsou také účinnými inhibitory aktivit CYP1A1 a 1A2. Spolu s dalšími jadernými receptory (především CAR a PXR) a transkripčním faktorem NRF2 se pak AhR podílí také na koordinované regulaci enzymů 2. fáze biotransformace a ABC transportérových proteinů, která je klíčová pro konjugační reakce produktů reakcí katalyzovaných CYP enzymy a jejich exkreci.

Dlouhodobá aktivace AhR prostřednictvím perzistentních AhR ligandů jako jsou PCB, polychlorované dibenzo-*p*-dioxiny a dibenzofurany je základní příčinou tzv. dioxinové toxicity. Řada toxických účinků těchto látek se v závislosti na dávce a době působení těchto látek může projevit v různých tkáních a v různých fázích vývoje organismu. Nejznámější a nejtoxičtější sloučeninou tohoto typu je 2,3,7,8-tetrachlórdibenzo-*p*-dioxin (TCDD), látka, která získala proslulost zejména díky jejímu toxickému působení při výrobě a aplikaci herbicidních přípravků (kyselina dichlórfenoxyoctová, kyselina trichlórfenoxyoctová) a při průmyslové havárii v severoitalském Sevesu v roce 1976. TCDD je Světovou zdravotnickou organizací (WHO) považován za prokázaný lidský karcinogen a při akutní nebo chronické expozici může vykazují široké spektrum toxických účinků. Má hepatotoxické, imunosupresivní, teratogenní i kardiotoxické účinky a jedná se o vysoce účinný nádorový promotor. Způsobuje epiteliální hyperplazii, porfyrii, narušuje lipidní metabolismus, metabolismus retinoidů, ovlivňuje hladinu a účinky steroidních i tyroidních hormonů. Je zřejmé, že široké spektrum toxických účinků nesouvisí pouze s indukcí metabolických enzymů jako jsou CYP1, ale že mechanismy účinku TCDD a příbuzných látek zahrnují celou řadu dalších procesů na buněčné úrovni. AhR může regulovat celou řadu buněčných dějů (proliferace, diferenciaci a apoptóza) a navíc je zřejmé, že některé toxické účinky AhR mohou souviset také s interakcemi mezi signálními drahami aktivovanými AhR a dalšími proteiny, jako jsou např. jaderné receptory (PXR, CAR, receptory steroidních hormonů), PAS proteiny (HIF-1 α nebo proteiny podílejícími se na regulaci cirkadiálních rytmů) nebo proteiny podílejícími se na regulaci buněčného cyklu (retinoblastoma protein, transkripční faktory E2F rodiny). Je zřejmé, že studium toxických účinků AhR ligandů nám může poskytnout neocenitelné informace o fyziologické úloze tohoto významného transkripčního faktoru v organismu.

Použitá literatura: