

Андрогеновый рецептор (AR) отвечает за транскрипцию генов, сопряженных с развитием мужской половой системы, костей и мышц. Активность данного транскрипционного фактора может быть напрямую связана с некоторыми видами рака простаты. В таком случае это заболевание является гормонально-зависимым и для его терапии используются противоандрогенные препараты. Часто активация рецепторов такого типа (т.е. различных стероидных рецепторов) сопряжена со связыванием ко-регуляторного пептида, которые несут следующие аминокислотные мотивы: LxxLL, FxxLF и FxxLW, а многие из этих пептидов принадлежат к обширному семейству NR-коактиваторов.

Связывание дигидротестостерона AR-рецептором стабилизирует его  $\alpha_{12}$ -спираль, что и позволяет рецептору связать ко-регуляторный пептид. Связывающийся ко-регуляторный пептид принимает короткую  $\alpha$ -спиральную конформацию и вкладывается в бороздку, образованную  $\alpha$ -спиралями 3, 4, 5 и 12. Эффективность связывания пептида напрямую зависит от его аминокислотной последовательности: ко-регуляторные пептиды часто содержат ароматические аминокислотные остатки на некоторых позициях (позиции + 1 и +5) [1].

<p style="margin: 0;">+1      +4 +5</p> <p style="margin: 0;"><b>SSRFESLFAGEKESR</b></p> <p style="margin: 0;"><b>SSKFAALWDPPKLSR</b></p> <p style="margin: 0;"><b>SRWQALFDDGTDTSR</b></p> <p style="margin: 0;"><b>SRWAEVWDDNSKVSR</b></p> <p style="margin: 0;"><b>SSNTPRFKEYFMQSR</b></p> <p style="margin: 0;"><b>SRFADFFRNEGLSGSR</b></p> <p style="margin: 0;"><b>SSRGLLWDLTKDSR</b></p>	<p>Рисунок 1. Белковое выравнивание пептидов, которые связываются с AR-рецептором (из множества пептидов приведены те, которые связываются достаточно эффективно). Желтым цветом отмечены позиции, в которых чаще всего встречаются остатки лизина и/или ароматических аминокислот [1]</p>
--	--

Рассмотрим, как связывается дополнительный пептид связывается с рецептором и почему именно ароматические остатки приводят к повышенной эффективности связывания.

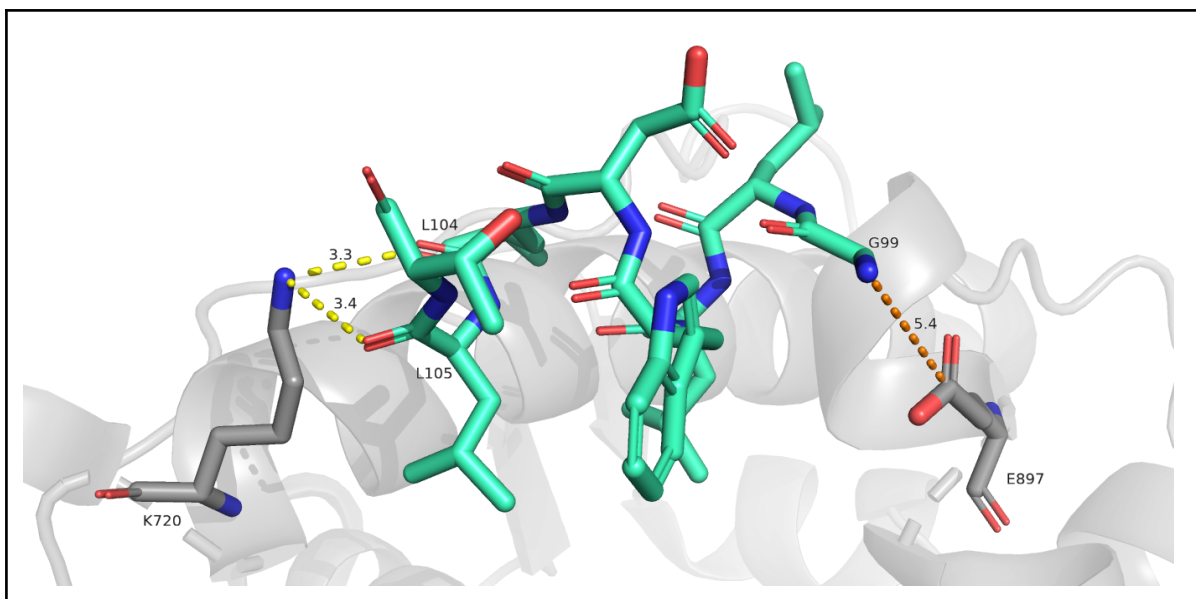


Рисунок 2. Координация пептида с мотивом LxxLL в участке его связывания. Желтым цветом отмечены водородные связи, оранжевым -- солевой мостик.

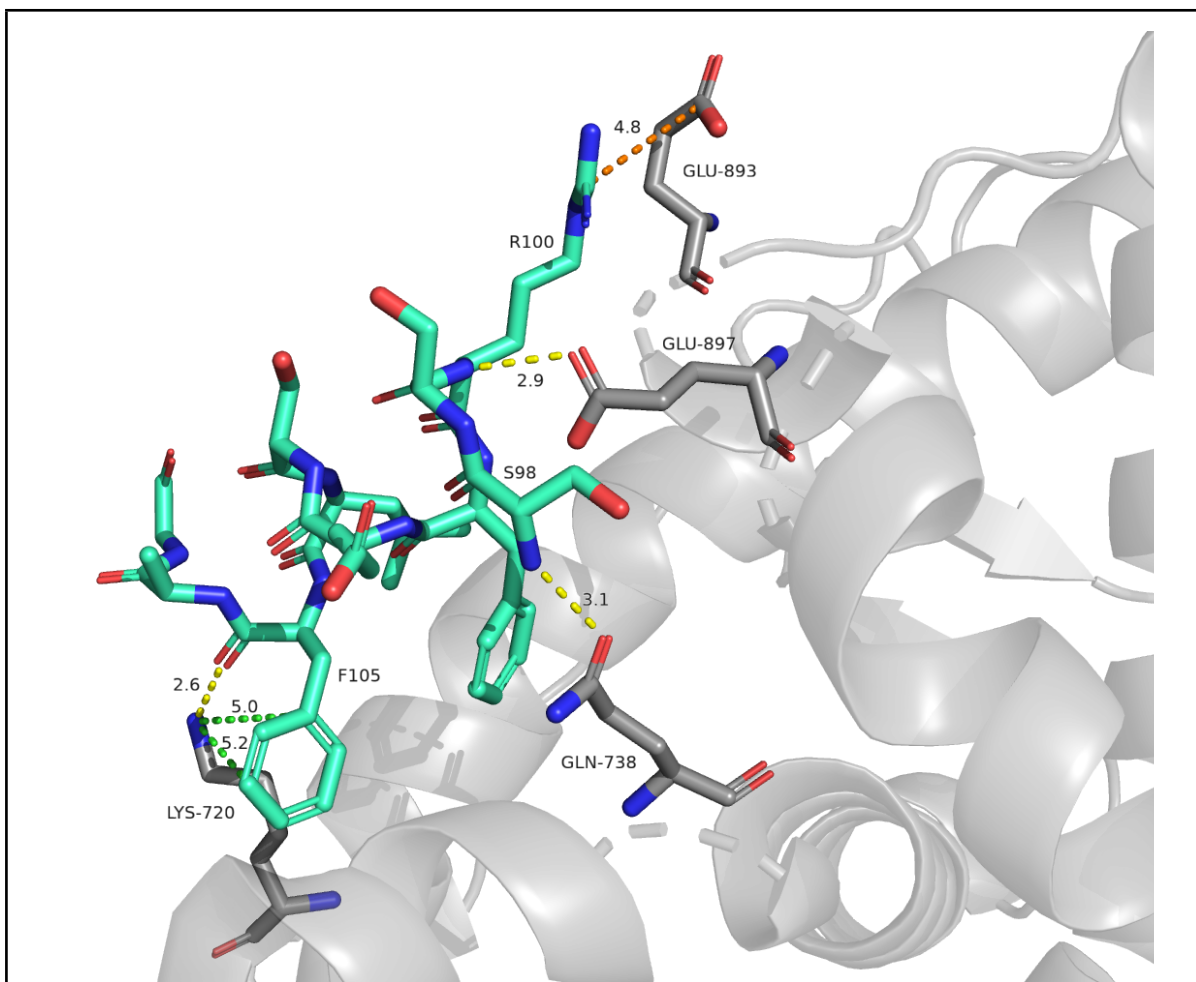


Рисунок 3. Координация пептида с мотивом FxxLF в участке его связывания. Желтым

цветом отмечены водородные связи, оранжевым -- солевой мостик, а травяным цветом показаны ион- $\pi$ -стекинг взаимодействия.

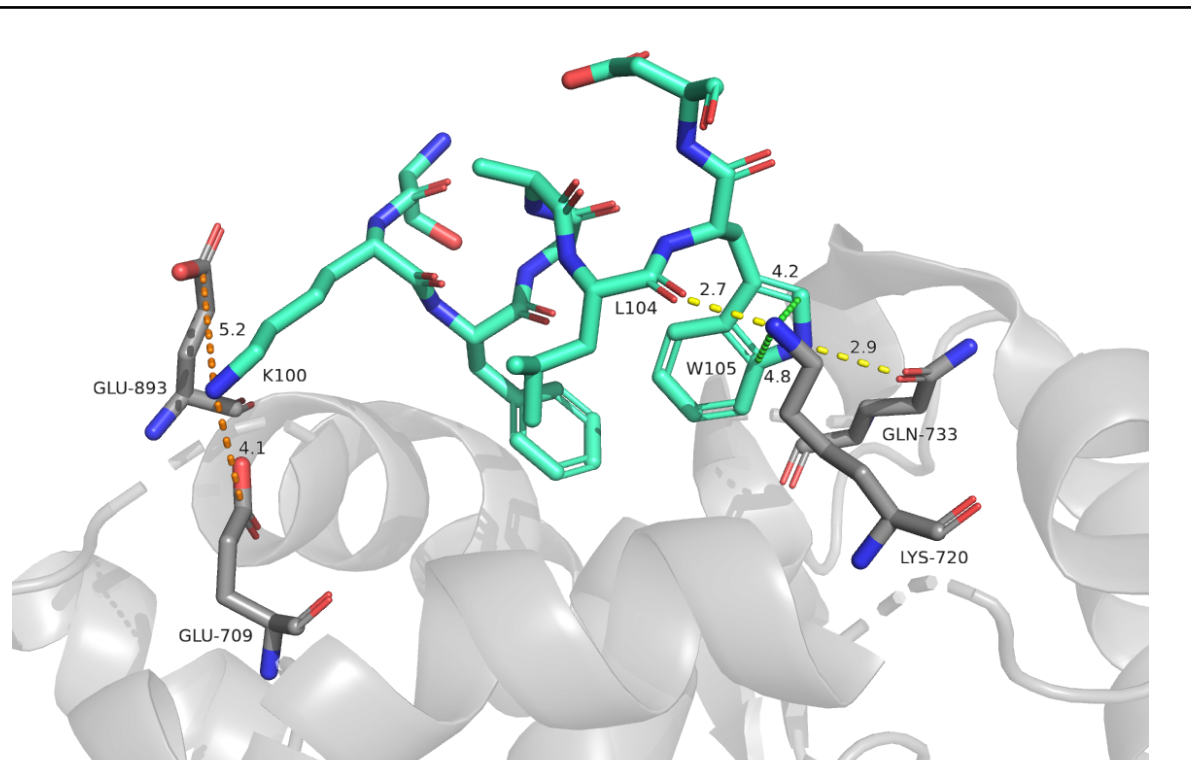


Рисунок 4. Координация пептида с мотивом FxxLW в участке его связывания. Желтым цветом отмечены водородные связи, оранжевым -- солевой мостик, а травяным цветом показаны ион- $\pi$ -стекинг взаимодействия.

Исходя из приведенных данных стоит отметить, что ароматические аминокислоты могут увеличивать эффективность связывания пептида, т.к. они способны вступать в ион- $\pi$ -стекинг взаимодействия с находящимся рядом остатком лизина. Триптофан в позиции +1, помимо таких стекинг-взаимодействий, способен образовывать и водородную связь с остатком GLN-733, что дополнительно упрочняет взаимодействие и связывание.

В целом, стоит отметить, что связывание лиганда напрямую не активирует данный транскрипционный фактор, а лишь способствует его активации путем связывания дополнительного пептида.

При терапии некоторых видов рака простаты может быть эффективна так называемая антиандрогенная терапия, которая приводит к блокировке данного транскрипционного фактора. В рамках данной терапии часто используются такие препараты, как гидроксифлутамид, CPA (ацетат ципротерона) и бикалутамид. Эти препараты являются антагонистами естественных андрогенов.

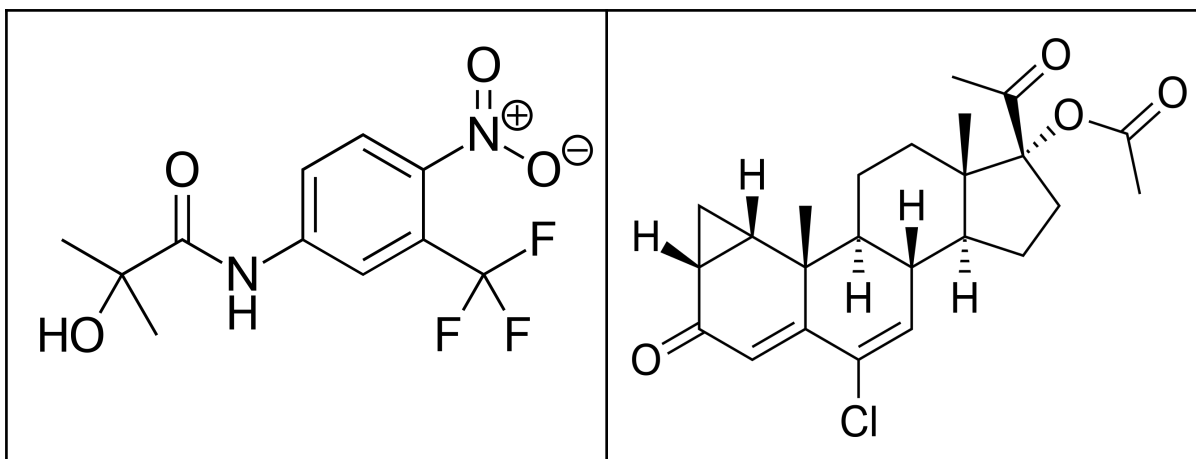


Рисунок 5. Гидроксифлутамид (слева), CPA (справа). Оба препарата являются антиандрогенами и используются в противораковой терапии.

Однако, применение противоандрогенных препаратов может приводить к возникновению AWS-синдрома (синдром отмены андрогенов). Причины возникновения данного синдрома до конца не ясны, однако часто при отмене терапии пациентам становится лучше (на короткий промежуток времени). Причины такого отклика на отмену терапии также не ясны. У пациентов с AWS-синдромом AR-рецептор часто несет мутацию T877A, которая приводит к потере лигандной специфичности рецептора: такой вариант может активироваться как и андрогенами, так и антиандрогенными препаратами [2].

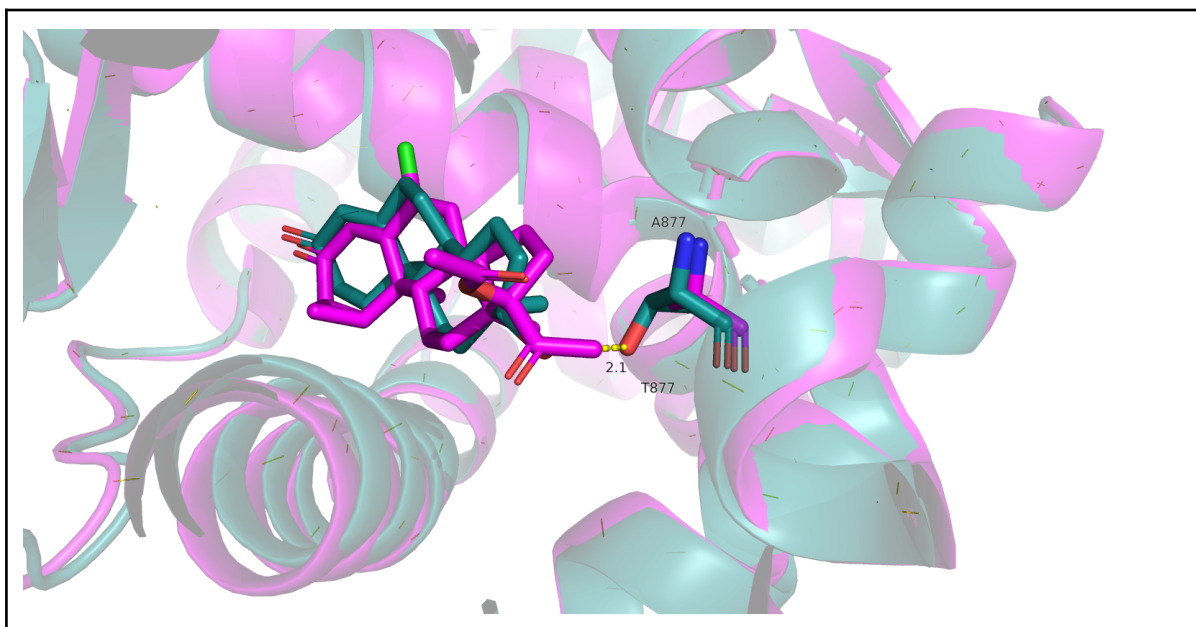


Рисунок 6. Мутация T877A позволяет CPA связываться в кармане связывания дигидротестостерона. CPA и соответствующая ему белковая структура окрашены в пурпурный цвет; структура “дикого” типа со связанным дигидротестостероном -- в цвет морской волны. Видно, что, если в позиции 877 располагается остаток тирозина, CPA не может связаться в том же месте, что и дигидротестостерон, т.к. метильная группа CPA находится на очень небольшом расстоянии от гидроксильной

группы CPA, что не придает стабильности данному положению лиганда.

CPA, по сравнению с нативным субстратом, дигидротестостероном, является более объемным и не дает сформироваться карману для связывания дополнительного пептида. CPA, как и гидроксифлутамид, в случае мутанта T877A приобретает активность как агонист стероидных гормонов. Связывание CPA индуцирует частичное развертывание С-концевого участка  $\alpha_{11}$ -спирали, что приводит к небольшому смещению петли между  $\alpha_{11}$ - и  $\alpha_{12}$ -спиралями, что позволяет сформироваться карману связывания даже при связывании объемного лиганда в случае данного мутанта [3].

Стоит отметить, что сама по себе мутация не приводит к глобальному изменению общей белковой структуры.

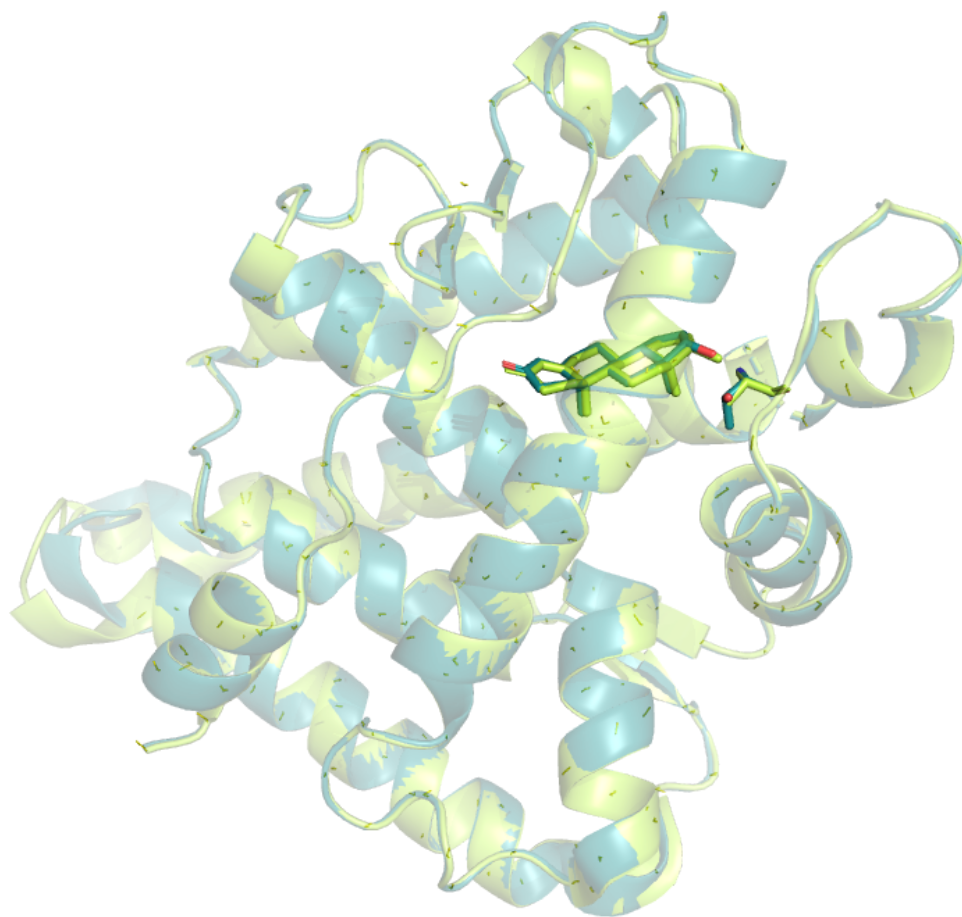


Рисунок 7. Структурное выравнивание моделей “дикого” типа (голубой цвет) и с мутацией T877A (зеленый цвет). Оба белка несут связанный дигидротестостерон.

Видно, что положение спиралей и петель не изменено.

Однако, данная аминокислотная замена стабилизирует связывание СРА в сайте связывания андрогенов и вместе с этим не приводит к нарушению структуры кармана связывания дополнительного ко-регуляторного пептида.

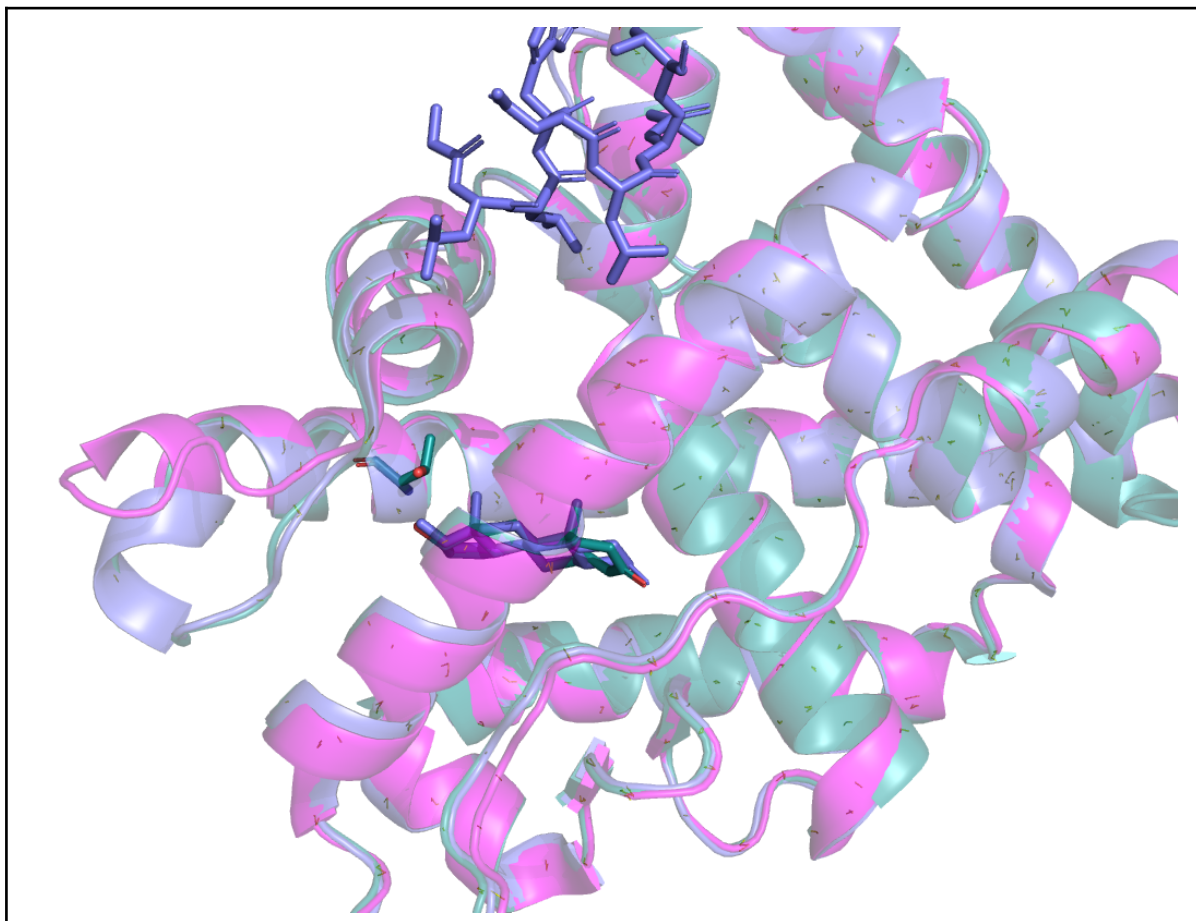


Рисунок 8. Структурное выравнивание AR-рецепторов дикого типа в комплексе с регуляторным пептидом (синяя окраска), без регуляторного пептида со связанным дигидротестостероном (зеленая окраска) и белка с мутацией T877A со связанным СРА. Видно, что у белка с точечной мутацией изменен карман связывания активатора, но не изменился карман связывания ко-регуляторного пептида, что позволяет анти-андрогенам в данном случае выступать в качестве агонистов андрогенов, тем самым “обращая” эффект терапии.

Терапия бикалутамидом также может приводить к возникновению AWS-синдрома, однако в данном случае он сопряжен с другой мутацией -- W741L. Данный аминокислотный остаток находится рядом с участком связывания ко-регуляторного пептида и механизм возникновения данного синдрома в данном случае, вероятно, несколько отличается.

В связи с этим, разработка регуляторного пептида, подавляющего активацию транскрипционного фактора в ответ на андрогены и/или противоандрогенные

препараты, позволит разработать новый, улучшенный вариант терапии для пациентов с AWS-синдромом [2].

Также стоит отметить, что, несмотря на то, что гидроксифлутамид не является стероидоподобным веществом, он способен достаточно эффективно связываться данным рецептором.

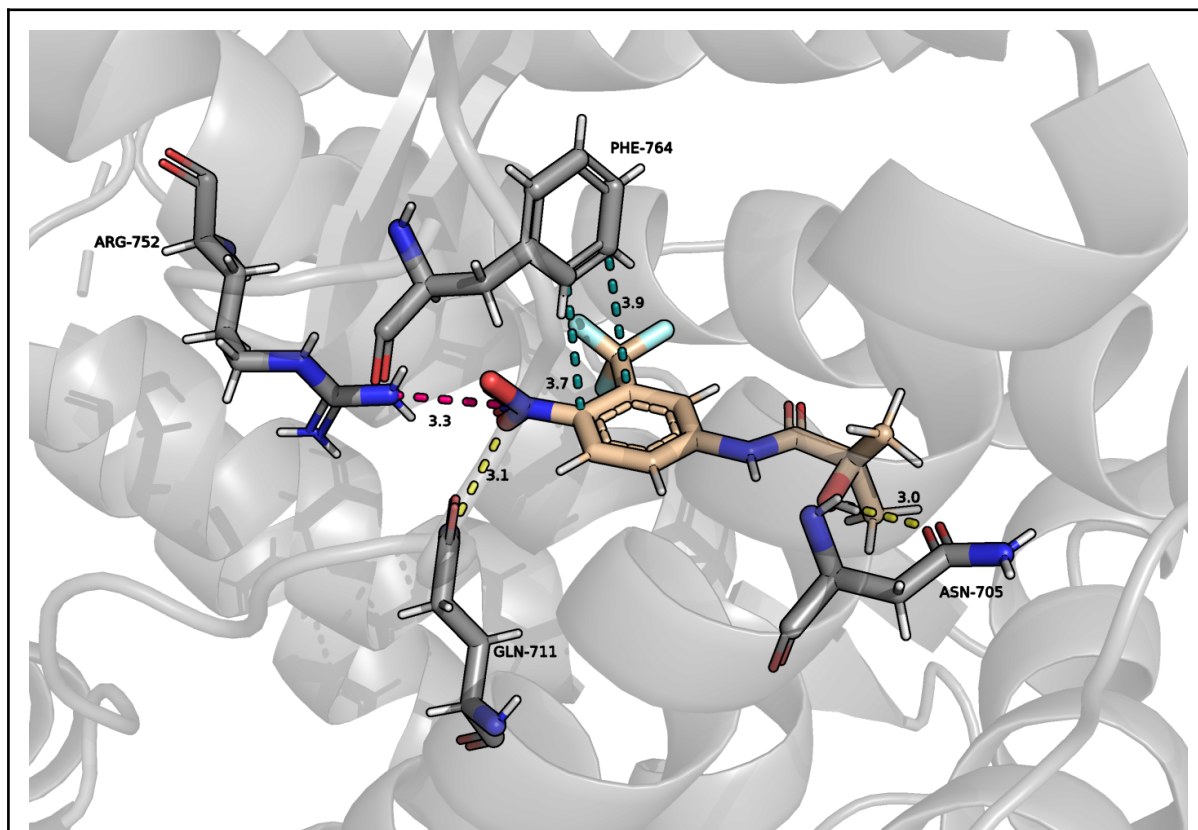


Рисунок 9. Связывание гидроксифлутамида AR-рецептором. Желтым показаны водородные связи, красным -- возможный солевой мостик, бирюзовым -- стеклинг-взаимодействия (в данном случае не очень эффективные).

В целом, стоит отметить, что данный рецептор (транскрипционный фактор) является важной и перспективной мишенью для разработки эффективной противораковой терапии, что, вероятно, повышает интерес исследователей для дальнейшего изучения основных принципов и механизмов его функционирования.

Цитируемая литература:

1. Hur E, Pfaff SJ, Payne ES, Grøn H, Buehrer BM, Fletterick RJ. Recognition and accommodation at the androgen receptor coactivator binding interface. PLoS Biol. 2004;2: E274.
2. Hsu C-L, Liu J-S, Wu P-L, Guan H-H, Chen Y-L, Lin A-C, et al. Identification of a new androgen receptor (AR) co-regulator BUD31 and related peptides to suppress wild-type and mutated AR-mediated prostate cancer growth via peptide screening and X-ray structure analysis. Mol Oncol. 2014;8: 1575–1587.

3. Bohl CE, Wu Z, Miller DD, Bell CE, Dalton JT. Crystal structure of the T877A human androgen receptor ligand-binding domain complexed to cyproterone acetate provides insight for ligand-induced conformational changes and structure-based drug design. *J Biol Chem.* 2007;282: 13648–13655.