

## Μεταγραφικοί παράγοντες και Ορθομοριακή Ιατρική

Η ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης, δηλαδή της μεταγραφής του DNA σε RNA, αποτελεί κομβικό σημείο για τη διατήρηση της κυτταρικής ομοιόστασης και επομένως της φυσιολογικής λειτουργίας του οργανισμού. Η παραγωγή, συνεπώς, των μεταγραφικών παραγόντων (των ειδικών πρωτεϊνών που συμμετέχουν στην ενεργοποίηση ή στην καταστολή της γονιδιακής έκφρασης) πρέπει να είναι ποιοτικά και ποσοτικά σωστή, δηλαδή οι παράγοντες αυτοί να μη φέρουν λειτουργικές ανωμαλίες λόγω μεταλλάξεων και να συντίθενται σε κανονικές ποσότητες μέσα στο κύτταρο, και ταυτόχρονα χωροχρονικά ακριβής, δηλαδή να εκφράζονται στον κατάλληλο τύπο κυττάρου και στο σωστό χρόνο. Εκτροπές από τις παραπάνω συνθήκες μπορούν να οδηγήσουν σε ένα ευρύ φάσμα κλινικών καταστάσεων, από αναπτυξιακές διαταραχές μέχρι την εμφάνιση καρκίνου.

Οι μεταγραφικοί παράγοντες είναι πρωτεΐνες με συγκεκριμένη τρισδιάστατη δομή, οι οποίες μπορούν να αλληλεπιδρούν με το DNA αναγνωρίζοντας ειδικές αλληλουχίες πάνω σε αυτό. Τυπικά, το τμήμα πρόσδεσης στο DNA έχει τη διαμόρφωση α έλικας, ενώ η περιοχή πρόσδεσης περιέχει ή γειτνιάζει με θετικά φορτισμένα κατάλοιπα αμινοξέων, τα οποία αλληλεπιδρούν με τον αρνητικά φορτισμένο φωσφοσκελετό του DNA. Τα κύρια δομικά μοτίβα στο μόριο των μεταγραφικών παραγόντων, μέσω των οποίων αλληλεπιδρούν με το DNA, είναι τέσσερα: (α) έλικαστροφή-έλικας (helix-turn-helix), (β) «δάκτυλα» ψευδαργύρου (zinc fingers), (γ) «φερμουάρ» λευκίνης (leucine zipper) και (δ) έλικα-βρόχος-έλικας (helix-loop-helix). Οι μεταγραφικοί παράγοντες προσδένονται σε ειδικές θέσεις του DNA των γονιδίων, που ονομάζονται υποκινητές και ενισχυτές. Συνήθως ασκούν τη

δράση τους μέσω σχηματισμού συμπλόκων με άλλες πρωτεΐνες της μεταγραφικής μηχανής. Για το σκοπό αυτό χρησιμοποιούν διακριτές επιφάνειες του μορίου τους, γνωστές ως περιοχές ενεργοποίησης ή καταστολής. Οι περισσότεροι μεταγραφικοί παράγοντες λειτουργούν ως ομο- ή ετεροδιμερή.

Η εξαιρετικά ποικιλόμορφη υπερκοκκίωση των μεταγραφικών παραγόντων περιλαμβάνει πρωτεΐνες που παρουσιάζουν ένα ευρύ φάσμα ενεργών και ανενεργών μορφών και των οποίων η αλληλομετατροπή μπορεί να επάγεται τόσο από εξωκυττάρια (μεταβίβαση από ειδικούς μεμβρανικούς υποδοχείς) όσο και από ενδοκυττάρια μηνύματα. Υπάρχουν, π.χ., μεταγραφικοί παράγοντες, οι οποίοι αμέσως μετά τη σύνθεσή τους οδηγούνται στον πυρήνα του κυττάρου, ενώ βρίσκονται ήδη στην ενεργό μορφή τους. Αντίθετα, άλλοι μεταγραφικοί παράγοντες μεταφέρονται και παραμένουν στον πυρήνα σε αδρανή μορφή και ενεργοποιούνται μόνο με τη σύνδεσή τους με τα κατάλληλα προσδέματα (π.χ. οι θυρεοειδικές ορμόνες για τον αντίστοιχο υποδοχέα), που μεταφέρονται στον πυρήνα επίσης από το κυτταρόπλασμα. Άλλοι μεταγραφικοί παράγοντες οδηγούνται στον πυρήνα σε ενεργό ή ανενεργό μορφή και αδρανοποιούνται ή ενεργοποιούνται, αντίστοιχα, εκεί από ειδικά ένζυμα (κινάσες ή φωσφατάσες, οι οποίες οδηγούν σε ρυθμιζόμενη από εξωκυττάρια μηνύματα αντιστρεπτή φωσφορλίωση των μεταγραφικών παραγόντων). Τέλος, υπάρχουν μεταγραφικοί παράγοντες, των οποίων οι ενεργείς μορφές (που προκύπτουν ή όχι από προηγούμενη ενεργοποιητική ομοιοπολική τροποποίηση) μεταφέρονται από το κυτταρόπλασμα στον πυρήνα μόνο ως απόκριση σε εξωκυττάρια ερεθίσματα.

Οι μεταγραφικοί παράγοντες παίζουν κεντρικό ρόλο κατά την ανάπτυξη ενός νέου οργανισμού, που αφορά στη δράση τους κατά τη διάρκεια της κυτταρικής αύξησης και διαφοροποίησης. Οι ορμόνες, οι αυξητικοί παράγοντες και άλλα χημικά μηνύματα επιδρούν στην αύξηση, τη διαφοροποίηση και

τις κυτταρικές λειτουργίες, ενεργοποιώντας τη γονιδιακή έκφραση μέσω της δραστηριοποίησης συγκεκριμένων βιολογικών μονοπατιών και μεταγραφικών παραγόντων. Κατά την εμβρυογένεση, σε συγκεκριμένα χρονικά διαστήματα, ενεργοποιούνται ομάδες μεταγραφικών παραγόντων (π.χ. οικογένεια Pax), οι οποίοι επάγουν τη μεταγραφή γονιδίων, τα προϊόντα των οποίων είναι απαραίτητα για τη διαφοροποίηση και τη δημιουργία των διαφόρων ιστών του σώματος. Μεταλλάξεις ή εκτροπή στην έκφραση αυτών των μεταγραφικών παραγόντων (τόσο στο χώρο όσο και σε ποσότητα) οδηγούν σε σημαντικά προβλήματα, που σχετίζονται κυρίως με μορφολογικές και λειτουργικές ανωμαλίες των διαφόρων οργάνων.

Τα γονίδια της οικογένειας Pax κωδικοποιούν μια ομάδα μεταγραφικών παραγόντων, οι οποίοι εκφράζονται ειδικά κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης σε ένα ευρύ φάσμα οργάνων και συμμετέχουν στη δημιουργία του τελικού φαινοτύπου. Για παράδειγμα, ο μεταγραφικός παράγοντας Pax-1 είναι υπεύθυνος για την ανάπτυξη παραξονικών παραγώγων του μεσοδέρματος, ο μεταγραφικός παράγοντας Pax-2 συμμετέχει σε πολλά στάδια της ανάπτυξης του ουρογεννητικού συστήματος και ο μεταγραφικός παράγοντας Pax-5 είναι καθοριστικός για την ανάπτυξη των Β-λεμφοκυττάρων και του μεσεγκεφάλου. Κατά τη διάρκεια ανάπτυξης του φυσιολογικού νεφρού, η έκφραση του μεταγραφικού παράγοντα Pax-2 καταστέλλεται μετά το σχηματισμό των σωληναρίων. Συνεχής έκφραση του Pax-2 έχει βρεθεί σε όγκο του Wilms και σε νεφρικό καρκίνωμα, ενώ ελάττωση της ποσότητάς του λόγω μετάλλαξης του ενός από τα δύο αλληλόμορφα γονίδια συνδέεται με την εμφάνιση υποπλαστικών νεφρών. Ένας άλλος μεταγραφικός παράγοντας που ανήκει στην ίδια οικογένεια είναι ο Pax-3, μεταλλάξεις του οποίου αποτελούν μία από τις αιτίες του συνδρόμου Waardenburg (μεταβίβαση κατά τον αυτοσωματικό επικρατούντα χαρακτήρα).

Η πιο συχνή φυλοσύνδετη μορφή ακουστικής ανεπάρκειας (κληρονομούμενη παιδική κώφωση λόγω ακινησίας του αναβολέα, συχνότητα 0,1%) συνδέεται με δυσλειτουργία του μεταγραφικού παράγοντα POU3F4 (αλληλεπιδρά με το DNA μέσω της ειδικής δομής POU), που κωδικοποιείται από το γονίδιο *Brain 4*.

Ένα άλλο χαρακτηριστικό παράδειγμα μεταγραφικού παράγοντα που συμμετέχει στην εμβρυογένεση είναι ο Pit-1, ο οποίος εκφράζεται μόνο στην υπόφυση. Ο συγκεκριμένος μεταγραφικός

παράγοντας ενέχεται στη διαφοροποίηση και ωρίμανση των σωματοτρόπων, γαλακτοτρόπων και θυρεοειδοτρόπων κυττάρων της υπόφυσης και ελέγχει σε σημαντικό βαθμό την παραγωγή της αυξητικής ορμόνης, της προλακτίνης και της θυροτροπίνης. Μεταλλάξεις του Pit-1 οδηγούν σε ανεπάρκεια των ορμονών αυτών (χωρίς υποφυσιακή υποπλασία), που συνοδεύεται από μια μεγάλη ποικιλία συμπτωμάτων, όπως υπολειπόμενη σωματική ανάπτυξη, διανοητική καθυστέρηση και υποθυρεοειδισμός. Είναι ενδιαφέρον ότι ακόμα και μετάλλαξη του ενός από τα δύο αλληλόμορφα γονίδια έχει σημαντικές επιπτώσεις, γιατί ο μεταλλαγμένος μεταγραφικός παράγοντας δρα ως αναστολέας και όχι ως ελλειμματικός ενεργοποιητής της μεταγραφικής διαδικασίας.

Μια πληθώρα από άλλες αναπτυξιακές ανωμαλίες έχουν συνδεθεί με μεταλλάξεις σε μέλη της οικογένειας των υποδοχέων στεροειδών-θυρεοειδών-ρετινοειδών ορμονών. Οι μεταλλάξεις αυτών των μεταγραφικών παραγόντων συνοδεύονται συνήθως από ένα ευρύ φάσμα ενδοκρινικών συνδρόμων με ιδιαίτερο ενδιαφέρον στην κλινική πράξη.

Ο καρκίνος είναι συχνά αποτέλεσμα ενεργοποίησης πρωτο-ογκογονιδίων, τα προϊόντα των οποίων επάγουν την κυτταρική διαίρεση. Πολλά πρωτο-ογκογονίδια κωδικοποιούν μεταγραφικούς παράγοντες, οι οποίοι ρυθμίζουν τη μεταγραφή γονιδίων που ενέχονται στον προγραμματισμό του πολλαπλασιασμού του κυττάρου (έλεγχος κυτταρικού κύκλου). Η εκτροπή της φυσιολογικής έκφρασης αυτών των γονιδίων προκαλεί αρκετά είδη λευχαιμίας, η πλειονότητα των οποίων χαρακτηρίζεται από ειδικές χρωμοσωμικές μετατοπίσεις. Οι μετατοπίσεις αυτές μπορεί να έχουν δύο κύρια αποτελέσματα: (α) Τοποθέτηση του πρωτο-ογκογονιδίου δίπλα σε έναν ισχυρό υποκινητή, όπως, για παράδειγμα, οι υποκινητές των γονιδίων που κωδικοποιούν τις ανοσοσφαιρίνες ή τους υποδοχείς των T-κυττάρων. Στην κατηγορία αυτή ανήκει η περίπτωση του λεμφώματος του Burkitt, όπου παρατηρείται μετατόπιση του πρωτο-ογκογονιδίου *myc* (κωδικοποιεί τον ομώνυμο μεταγραφικό παράγοντα, που ενεργοποιεί γονίδια απαραίτητα για τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό) από το χρωμόσωμα 8 στο χρωμόσωμα 14 (90% των περιπτώσεων), με αποτέλεσμα την τοποθέτησή του δίπλα στον υποκινητή του γονιδίου που κωδικοποιεί τη βαριά αλυσίδα (H) των ανοσοσφαιρινών. Η παραγωγή μεγάλων ποσοτήτων της πρωτεΐνης c-Myc επάγει την κυτταρική διαίρεση πέραν των φυσιολογικών ορίων (καρκινογένεση). (β) Σύντηξη δύο πρωτο-ογκογονιδίων (ή τμημάτων

τους), το ένα από τα οποία (ή ακόμα και τα δύο) κωδικοποιεί κάποιο μεταγραφικό παράγοντα, με αποτέλεσμα τη δημιουργία ενός νέου γονιδίου που κωδικοποιεί μια χιμαιρική πρωτεΐνη με ιδιότητες μεταγραφικού παράγοντα. Στην κατηγορία αυτή υπάγονται πολλές περιπτώσεις λευχαιμίας, με χαρακτηριστικότερες αυτές της οξείας προμυελοκυτταρικής λευχαιμίας (APL) και της οξείας προλεμφοκυτταρικής λευχαιμίας (ALL). Η πρώτη περίπτωση μετατόπισης αφορά στον υποδοχέα του ρετινοϊκού οξέος (RARα, αλληλεπιδρά με το DNA μέσω μιας δομής «δακτύλων ψευδαργύρου») και στο μεταγραφικό παράγοντα PML (έχει την ικανότητα πρόσδεσης στο DNA μέσω «δακτύλων ψευδαργύρου», ενώ περιέχει και το δομικό μοτίβο «φερμουάρ» λευκίνης). Ο λειτουργικός χιμαιρικός μεταγραφικός παράγοντας που σχηματίζεται είναι ο PML-RARα. Στη δεύτερη περίπτωση έχουμε σύντηξη του αμινοτελικού άκρου του μεταγραφικού παράγοντα E2A (το οποίο μεταφέρει μία περιοχή ενεργοποίησης) με το τμήμα, μέσω του οποίου ο μεταγραφικός παράγοντας PBX προσδένεται στο DNA αντικαθιστώντας την αντίστοιχη περιοχή του E2A. Η χιμαιρική πρωτεΐνη είναι ένας ισχυρός ενεργοποιητής της μεταγραφής, ενώ ο PBX όχι.

Παθολογικές καταστάσεις όπου ενέχονται μετατοπίσεις πρωτο-ογκογονιδίων που κωδικοποιούν μεταγραφικούς παράγοντες δεν απαντώνται μόνο στο αιμοποιητικό σύστημα, αλλά και σε άλλες περιπτώσεις καρκίνων (συμπαγείς όγκοι). Έτσι, σχηματισμός μεταγραφικών παραγόντων-υβριδίων και εκτροπή από τη φυσιολογική τους λειτουργία παρατηρείται στο σάρκωμα του Ewing, στο λιποσάρκωμα και στο ραβδομυοσάρκωμα.

Τα ογκοκατασταλτικά γονίδια δρουν ως αρνητικοί ρυθμιστές του κυτταρικού πολλαπλασιασμού, έχουν δηλαδή λειτουργία αντίθετη από αυτή των πρωτο-ογκογονιδίων. Άτομα που κληρονομικά φέρουν μεταλλάξεις σε τέτοιου είδους γονίδια, παρουσιάζουν μεγάλη προδιάθεση για ανάπτυξη διαφόρων μορφών νεοπλασιών. Μέχρι σήμερα έχουν ταυτοποιηθεί αρκετά ογκοκατασταλτικά γονίδια, η μετάλλαξη ή απάλειψη των οποίων οδηγεί σε καρκίνο. Τα περισσότερο μελετημένα είναι το γονίδιο του ρετινοβλαστώματος (*RB1*, κωδικοποιεί την πρωτεΐνη Rb, που ενέχεται στη ρύθμιση της μεταγραφής γονιδίων του κυτταρικού κύκλου), το γονίδιο *p53* (κωδικοποιεί τον ομώνυμο μεταγραφικό παράγοντα, ο οποίος εμπλέκεται στον έλεγχο του κυτταρικού κύκλου, συμμετέχει στην επιδιόρθωση του DNA και παίζει κεντρικό ρόλο στο φαινόμενο της απόπτωσης) και το γονίδιο *WT1* (κωδικοποιεί ένα μεταγραφικό

παράγοντα, μετάλλαξη του οποίου οδηγεί σε όγκο του Wilms και ανωμαλίες στην κατασκευή του ουρογεννητικού συστήματος).

Οι τρέχουσες ερευνητικές προσπάθειες εστιάζονται στην κατανόηση σε βάθος των μηχανισμών ενδοκυττάριας μεταγωγής μοριακών μηνυμάτων που οδηγούν σε ενεργοποίηση (ή καταστολή) μεταγραφικών παραγόντων και της «παθολογίας» των τελευταίων στις διαδικασίες κυτταρικής ανάπτυξης, διαφοροποίησης και καρκινικού μετασχηματισμού. Πόσοι και ποιοι μεταγραφικοί παράγοντες υπάρχουν και πώς μπορούμε να αφαιρέσουμε, να αντικαταστήσουμε ή να «επισκευάσουμε» έναν από αυτούς χωρίς να επηρεάσουμε τη λειτουργία κάποιων άλλων; Αντιδράσεις-«καταρράκτες», που δραστηριοποιούνται ως αποτέλεσμα ειδικής ιστικής ή ειδικής χρονικής γονιδιακής έκφρασης, αναλύονται διεξοδικά, σε μια προσπάθεια να προσδιοριστούν με ακρίβεια σημεία ελέγχου ή σημεία ουδοί (κόμβοι απαρτίωσης), όπου θα μπορεί να πραγματοποιηθεί παρέμβαση (ανασταλτική ή διεγερτική) με ελάχιστη επίδραση σε διασταυρούμενα σηματοδοτικά μονοπάτια. Η διαρκής ανάπτυξη των τεχνικών «μοριακής μικροχειρουργικής» του ανθρώπινου γονιδιώματος και η δυνατότητα ορθολογικού σχεδιασμού εξαιρετικά ειδικών φαρμακευτικών ουσιών με τη βοήθεια των τρισδιάστατων δομών μεταγραφικών παραγόντων-στόχων σε ατομικό επίπεδο (structure-based/*de novo* drug design) ανοίγουν καινούργιους ορίζοντες στη θεραπευτική προσέγγιση ασθενειών που δεν έχουν αντιμετωπιστεί επιτυχώς με άλλα μέσα μέχρι σήμερα. Επιπλέον, η δυνατότητα προγεννητικού ελέγχου της ποιότητας και της ποσότητας των μεταγραφικών παραγόντων και η παροχή της ανάλογης γενετικής συμβουλής είναι πλέον πολύ κοντά μας.

**Α.Γ. Παπαβασιλείου**

*Εργαστήριο Βιολογικής Χημείας  
Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Πατρών*

1. PAPAVALIIOU AG. Transcription factors. *N Engl J Med* 1995, 332: 45-47
2. PAPAVALIIOU AG. Transcription factors: structure, function, and implication in malignant growth. *Anticancer Res* 1995, 15:891-894
3. PAPAVALIIOU AG. *Transcription Factors in Eukaryotes*. Springer, Heidelberg, 1997
4. CHEN L. Combinatorial gene regulation by eukaryotic transcription factors. *Curr Opin Struct Biol* 1999, 9:48-55
5. LATCHMAN DS. Transcription-factor mutations and disease. *N Engl J Med* 1996, 334:28-33
6. SEMENZA GL. *Transcription Factors and Human Disease*. Oxford University Press, New York, 1999

7. ΠΑΠΑΒΑΣΙΛΕΙΟΥ ΑΓ. Μεταγραφικοί παράγοντες και νοσήματα. *Γενετ Ανθρ* 1999, 1:10–20
  8. ΠΑΠΑΒΑΣΙΛΙΟΥ ΑΓ. Transcription factor-based drug design in anticancer drug development. *Mol Med* 1997, 3:799–810
  9. ΠΑΠΑΒΑΣΙΛΙΟΥ ΑΓ. Transcription-factor-modulating agents: precision and selectivity in drug design. *Mol Med Today* 1998, 4: 358–366
  10. ΚΛΕΤΣΑΣ Δ, ΠΑΠΑΒΑΣΙΛΙΟΥ ΑΓ. The therapeutic potential of targeting drugs at transcription factors. *Expert Opin Inv Drugs* 1999, 8:737–746
  11. ΤΖΑΤΣΟΣ Α, ΠΑΠΑΒΑΣΙΛΙΟΥ ΑΓ. Molecular “rehabilitation” by rational drug targeting: the challenge of p53 in cancer treatment. *Anti-cancer Res* 1999, 19:4353–4356
  12. ΠΑΠΑΒΑΣΙΛΙΟΥ ΑΓ. P53-targeted drugs: intelligent weapons in the tumor-suppressing arsenal. *J Cancer Res Clin Oncol* 2000, 126:117–118
-