

dr Karolina Dobrzyń,

dr hab. Magdalena K.
Kowalik✉

Zakład Fizjologii i Toksykologii Rozrodu, Instytut Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności Polskiej Akademii Nauk w Olsztynie

https://doi.org/10.18388/pb.2021_458

✉autor korespondujący: m.kowalik@pan.olsztyn.pl

Słowa kluczowe: progesteron, żeński układ rozrodczy, genomowe działanie, pozagenomowe działanie, jądrowy receptor, błonowy receptor

Wykaz stosowanych skrótów: mPR – błonowy receptor progestagenów (ang. *membrane progesterin receptor*); PGR – jądrowy receptor progesteronu (ang. *nuclear progesterone receptor*); PGRMC – błonowy receptor progesteronu (ang. *progesterone receptor membrane component*); SERBP1 – białko SERBP1 (ang. *serpine 1 mRNA binding protein*)

Podziękowanie: Praca powstała podczas realizacji projektu promotorskiego Konsorcjum Naukowego KNOW „Zdrowe zwierzę – bezpieczna żywność” (05-1/KNOW2/2015) finansowanego przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego oraz projektu badawczego OPUS 14 (2017/27/B/NZ4/02973) finansowanego przez Narodowe Centrum Nauki.

STRESZCZENIE

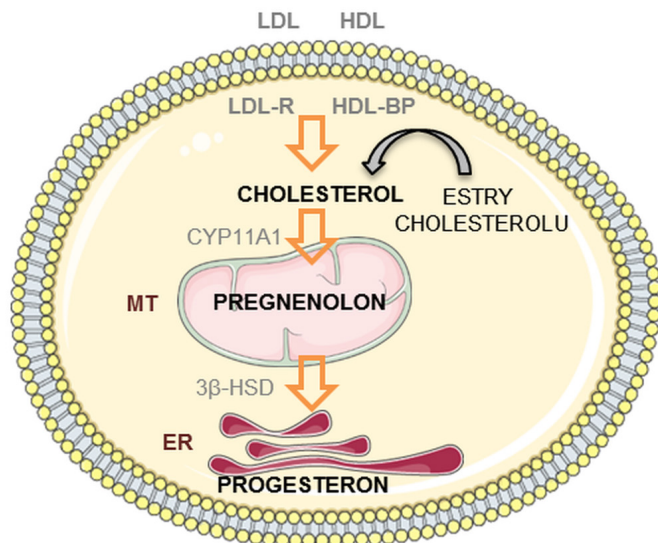
Progesteron (P4) jest hormonem steroidowym, biorącym udział w licznych procesach zachodzących w obrębie żeńskiego układu rozrodczego. Hormon ten produkowany jest głównie przez ciało żółte (CL), jednak jego źródłem jest również pęcherzyk jajnikowy i macica, a w trakcie ciąży także łożysko. Dzięki swojemu wielokierunkowemu działaniu uczestniczy on zarówno w regulacji cyklu płciowego, jak również w zapoczątkowaniu oraz utrzymaniu ciąży. Progesteron działa na komórki docelowe na drodze klasycznej, genomowej przez jądrowe receptory P4 (PGR) oraz na drodze nieklasycznej, pozagenomowej przez błonowe receptory P4: PGRMC (ang. *progesterone membrane receptor component*) 1 i 2 oraz mPR (ang. *membrane progesterin receptor*) α , β i γ . Mechanizm genomowy doprowadza do ekspresji genów docelowych i syntezy nowych białek, natomiast mechanizm pozagenomowy oddziałuje na różne ścieżki przekazywania sygnału wewnątrzkomórkowego, wpływając na białka już istniejące. Integracja tych dwóch mechanizmów działania P4 prowadzi do właściwej regulacji odpowiedzi komórki, tkanki, a w konsekwencji całego organizmu na hormon.

SYNTEZA PROGESTERONU

Progesteron (P4) należy do grupy hormonów steroidowych, którego głównym źródłem w układzie rozrodczym jest ciało żółte (CL). Hormon ten produkowany jest również przez pęcherzyk jajnikowy i macicę, a w trakcie ciąży przez łożysko. Jego synteza zachodzi w mitochondrium, a prekursorem jest cholesterol, który pochodzi głównie z lipoprotein o niskiej (ang. *low density lipoproteins*, LDL) lub wysokiej gęstości (ang. *high density lipoproteins*, HDL). W komórce występuje również dodatkowe źródło cholesterolu w postaci jego estrów oraz może być syntetyzowany *de novo* z octanów. Cholesterol do zewnętrznej błony mitochondrium transportowany jest z udziałem cytoszkieletu oraz białek nośnikowych SCP (ang. *sterol carrier proteins*), natomiast do wewnętrznej błony za pomocą białka StAR (ang. *steroidogenic acute regulatory protein*). W tym miejscu dochodzi do usunięcia bocznego łańcucha cholesterolu, w wyniku czego powstaje nieaktywny biologicznie pregnenolon (P5). Reakcja ta katalizowana jest przez obecną w wewnętrznej błonie mitochondrium desmolazę cholesterolową (CY-P11A1; EC 1.14.15.6), należącą do rodziny cytochromu P450. Pregnenolon transportowany jest następnie do siateczki śródplazmatycznej gładkiej, gdzie pod wpływem dehydrogenazy 3 β -hydroksysteroidowej (3 β -HSD; EC 1.1.1.145) dochodzi do utlenienia 3-hydroksylowej grupy do grupy 3-ketonowej. W wyniku tej reakcji powstaje P4, który jest pierwszym aktywnym biologicznie produktem w szlaku syntezy hormonów steroidowych. W komórkach jajnika P4 może być również przekształcony w 17 α -hydroksyprogesteron (17OHP), będący prekursorem syntezy androgenów. Reakcja ta zachodzi za pośrednictwem enzymu o aktywności 17 α -hydroksylazy i 17,20-liazy (CYP17; EC 1.14.14.19), który następnie katalizuje reakcję prowadzącą do powstania androstendionu (A4). Hormon ten przekształcany jest przy udziale dehydrogenazy 17 β -hydroksysteroidowej (17 β -HSD; EC 1.1.1.51) w testosteron (T4), będący prekursorem w syntezie estrogenów [1-4]. Ogólny schemat syntezy P4 prezentuje rycina 1, natomiast schemat steroidogenezy jajnikowej przedstawiono na rycinie 2.

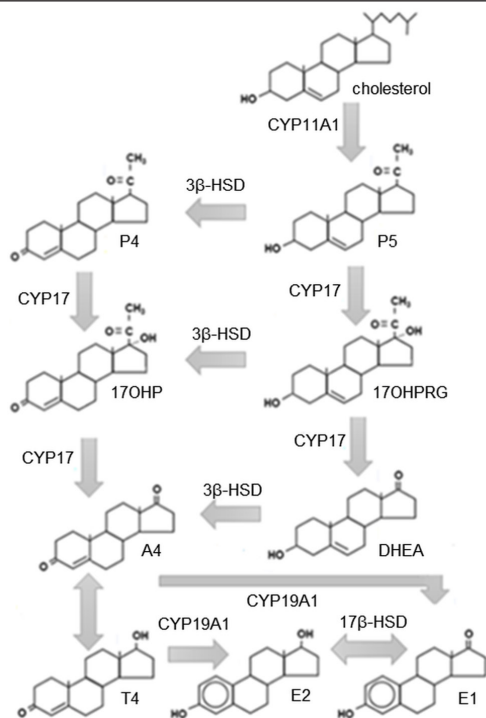
FUNKCJE PROGESTERONU

Progesteron bierze udział w licznych procesach zachodzących w obrębie żeńskiego układu rozrodczego. Działanie tego hormonu jest wielokierunkowe i obejmuje zarówno udział w regulacji cyklu płciowego, jak również zapewnienie odpowiednich warunków dla zapoczątkowania oraz utrzymania ciąży. Progesteron, nazywany hormonem ciąży, odgrywa kluczową rolę w jej przebiegu poprzez mechanizmy takie jak modulacja matczynej odpowiedzi immunologicznej, ograniczenie kurczliwości macicy, czy też wspomaganie fazy lutealnej [5,6].



Rycina 1. Schemat syntezy progesteronu w jajniku (zmodyfikowane wg Niswender 2002). LDL - lipoproteiny o małej gęstości, HDL - lipoproteiny o dużej gęstości, LDL-R - receptor dla lipoprotein, HDL-BP - białko wiążące lipoproteinę HDL, CYP11A1 - desmolaza cholesterolowa, 3β-HSD - dehydrogenaza 3β-hydroksysteroidowa, MT - mitochondrium, ER - siateczka śródplazmatyczna

Cykl płciowy regulowany jest poprzez wielopoziomowy system sprzężeń zwrotnych opartych o regulację neurohormonalną. Podstawową pętlą sygnalizacyjną jest oś podwzgórze-przysadka-jajnik. Wydzielana przez podwzgórze gonadoliberyna (GnRH), będąca nadrzędnym neurohormonem biorącym udział w regulacji procesów rozrodczych,



Rycina 2. Schemat syntezy hormonów steroidowych w jajniku (zmodyfikowane wg Schuler i wsp. 2018). P4 - progesteron, P5 - pregnenolon, 17OHP - 17-hydroksyprogesteron, 17OHPRG - 17α-hydroksypregnenolon, A4 - androstendion, DHEA - dehydroandrostendion, T4 - testosteron, E2 - 17β-estradiol, E1 - estron, CYP11A1 - desmolaza cholesterolowa, 3β-HSD - 3β-dehydrogenaza hydroksysteroidowa, CYP17 - enzym o aktywności 17α-hydroksylazy i 17,20-liazy, 17β-HSD - 17β-dehydrogenaza hydroksysteroidowa, CYP19A1 - P450 aromataza

wpływa na uwalnianie przysadkowych hormonów gonadotropowych: folikulotropowego (FSH) oraz luteinizującego (LH). Hormony te regulują funkcje wydzielnicze jajników. W trakcie fazy pęcherzykowej FSH zapoczątkowuje wzrost i dojrzewanie pęcherzyka jajnikowego oraz stymuluje produkcję estradiolu (E2) w komórkach ziarnistych. Hormon luteinizujący odpowiada natomiast za owulację oraz kontroluje formowanie CL [7,8]. Okres aktywności CL, określanej jako faza lutealna jest okresem najwyższego wydzielania P4 w trakcie cyklu. Progesteron w tym czasie przygotowuje błonę śluzową macicy do implantacji potencjalnie zapłodnionej komórki jajowej. Ponadto hormon ten hamuje wydzielanie GnRH z podwzgórza, a tym samym FSH oraz LH, w wyniku czego dochodzi do zahamowania wzrostu i rozwoju pęcherzyków jajnikowych. Progesteron działa również jako czynnik luteotropowy, promując własną syntezę w komórkach lutealnych [5,9,10]. W sytuacji gdy dochodzi do zapłodnienia komórki jajowej, konieczne jest utrzymanie wysokiego poziomu P4, który umożliwia zagnieżdżenie się zarodka w macicy oraz prawidłowe utrzymanie ciąży. Progesteron wspomaga proces implantacji blastocysty poprzez stymulację produkcji enzymów prowadzących do lizy osłonki przejrzystej. Ponadto wpływa hamująco na proliferacyjne działanie E2 na komórki nabłonka macicy oraz reguluje ekspresję cząsteczek adhezyjnych (integryna $\alpha_4\beta_1$, integryna $\alpha_v\beta_3$, mucyna-1). Nie bez znaczenia jest także tłumienie odpowiedzi immunologicznej matki [11]. W tym celu, P4 stymuluje limfocyty do wydzielania czynnika blokującego, określanego jako PIBF (ang. *progesterone-induced blocking factor*). Czynniki te powoduje wzrost produkcji interleukin (IL) o działaniu przeciwzapalnym (IL-3, IL-4 i IL-10) oraz ograniczenie produkcji cytokin prozapalnych, takich jak interferon (INF) δ , czy też czynnik martwicy nowotworu (TNF) α [12]. Działanie P4 jest również konieczne dla dalszego utrzymania ciąży. Hormon ten bierze udział w ograniczaniu kurczliwości macicy oraz obniżaniu jej wrażliwości na bodźce inicjujące jej skurcze, co jest określane jako blok progesteronowy. Utrzymanie tego bloku możliwe jest dzięki obniżeniu ekspresji receptora dla oksycytyny (ROT) i prostaglandyn oraz hamowaniu syntezy koneksyny 43, która jest ważnym elementem połączeń międzykomórkowych w macicy. Ponadto, P4 łączy się z receptorem GABA_A i prawdopodobnie w ten sposób również blokuje kurczliwość macicy [13,14]. W końcowym etapie ciąży P4 wraz z E2 pobudzają rozwój gruczołu mlekowego. Rozwój pęcherzyków wywołany jest przez P4, natomiast przewodów mlekowych przez E2. Hormony te wykazują działanie synergistyczne z LH oraz pobudzają przysadkę do wydzielania prolaktyny odpowiedzialnej za laktację [1].

WPLYW PROGESTERONU NA KOMÓRKI

Progesteron wykazuje zróżnicowany wpływ na tkanki rozrodcze, jak również na różne typy komórek w obrębie tej samej tkanki. Odpowiedź komórkowa na P4 jest też odmienna w zdrowych i chorych komórkach/tkankach. Z tego względu P4 oprócz swoich funkcji fizjologicznych, bierze również udział w zapoczątkowaniu oraz rozwoju tzw. nowotworów hormonozależnych. U kobiet do tej grupy zalicza się nowotwory endometrium, jajnika i gruczołu piersiowego. Wykazano, że P4 sprzyja rozwojowi i wzrostowi raka piersi oraz mięśniaków macicy, natomiast chroni

przed rozwojem raka endometrium wywołanego przez estrogeny. Mechanizmy odpowiedzialne za różnice w działaniu P4 mogą być wynikiem charakterystycznego dla danej tkanki środowiska, na które składają się lokalnie wydzielane czynniki, ekspresja poszczególnych receptorów czy też komunikacja parakrylna i autokrylna. Czynniki te mogą determinować ogólny wpływ P4 na daną komórkę, a tym samym na tkankę czy narząd [15,16].

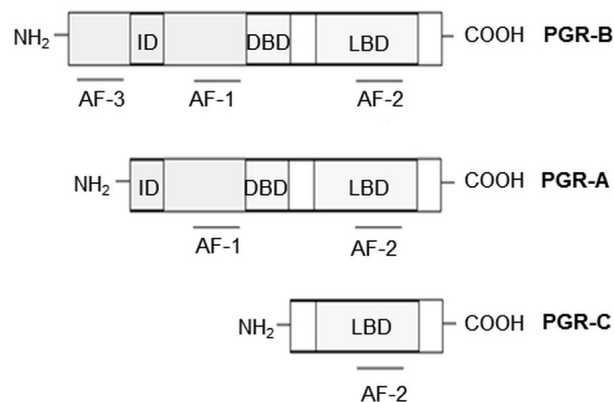
Progesteron może oddziaływać na komórki na drodze genomowej poprzez jądrowe receptory P4, co prowadzi do pobudzenia lub zahamowania ekspresji genów docelowych. W tym przypadku odpowiedź komórkowa następuje po kilku lub kilkunastu godzinach od podania hormonu [17,18]. Poza drogą klasyczną P4 może działać również poprzez mechanizm pozagenomowy, a odpowiedź komórkowa pojawia się w bardzo krótkim czasie (kilka sekund lub minut) od momentu podania hormonu. Sugeruje to, że P4 może wywoływać szybką odpowiedź komórkową na drodze pozagenomowej, między innymi poprzez wiązanie ze swoimi specyficznymi błonowymi receptorami [5,19-21].

GENOMOWE DZIAŁANIE PROGESTERONU

Według genomowego mechanizmu działania hormonów steroidowych, P4 reguluje ekspresję docelowych genów poprzez wiązanie ze swoistym jądrowym receptorem, który jest jednocześnie czynnikiem transkrypcyjnym. Hormon ten, jako cząsteczka lipofilna, przenika przez ściany naczyń krwionośnych i wnika do komórek na zasadzie dyfuzji. Komórki docelowe steroidowych hormonów płciowych, poza układem rozrodczym, znajdują się również m. in. w obrębie układu krążenia, układu nerwowego, układu odpornościowego, czy też przewodu pokarmowego. Jądrowe receptory P4 są umiejscowione w komórkach zarówno w jądrze komórkowym, jak i cytoplazmie, a ich lokalizacja jest procesem dynamicznym, zależnym od ich translokacji pomiędzy cytoplazmą a jądrem komórkowym. Niezwiązane z ligandem jądrowe receptory P4 tworzą kompleksy z białkami opiekuńczymi, co umożliwia utrzymanie ich w aktywnej, gotowej do związania ligandu konformacji [22]. Do białek tych zalicza się głównie białka szoku cieplnego (Hsp70, Hsp90), immunofiliny (FKBP51, FKBP52) oraz białko p23 [23]. Przyłączenie cząsteczki hormonu do receptora zmienia jego przestrzenną konformację, co w konsekwencji prowadzi do oddysocjowania białek opiekuńczych, dimeryzacji receptorów i ich translokacji do jądra komórkowego. W jądrze kompleks receptor-steroid wiąże się ze specyficznymi miejscami odpowiedzi na hormon, znajdującymi się w regionach promotorowych genów docelowych, doprowadzając do regulacji ekspresji tych genów. Proces ten stanowi początek licznych złożonych procesów komórkowych zaangażowanych w odpowiedź fizjologiczną organizmu [22,24].

JĄDROWY RECEPTOR PROGESTERONU

Znane są dwie główne izoformy jądrowego receptora P4: izoforma A (PGR-A) oraz izoforma B (PGR-B), które są kodowane przez ten sam gen, ale ich transkrypcja odbywa się z dwóch różnych promotorów. Ludzka izoforma PGR-A ma masę równą 94 kDa, natomiast PGR-B – 116 kDa. Ponadto



Rycina 3. Schemat budowy izoform jądrowego receptora progesteronu: PGR-A, PGR-B i PGR-C u człowieka (Mulac-Jericevic i Conneely 2004). AF1-AF3 – domeny aktywujące proces transkrypcji, ID – domena inhibitorowa, DBD – domena wiążąca DNA, LBD – domena wiążąca ligand

wykazano obecność trzeciej izoformy jądrowego receptora P4 – izoformy C (PGR-C) o masie 60 kDa [17,25]. Jądrowe receptory P4 są białkami posiadającymi wyraźną modułową budowę, co jest charakterystyczne dla jądrowych receptorów hormonów steroidowych (Ryc. 3). Wyodrębnione regiony receptora różnią się zarówno pod względem strukturalnym, jak i funkcjonalnym. Wyróżnia się trzy główne domeny funkcjonalne: domena N-końcowa, domena wiążąca DNA (ang. *DNA binding domain*, DBD) oraz domena odpowiadająca za przyłączanie ligandu (ang. *ligand binding domain*, LBD). Domena N-końcowa jądrowego receptora P4 zawiera sekwencje AF1 oraz AF3 (ang. *activation function*), które są odpowiedzialne za wiązanie kompleksów koaktywacyjnych. Domena AF1 występuje zarówno w obrębie izoformy PGR-A i PGR-B, natomiast domena AF3 jedynie w obrębie izoformy PGR-B. Ponadto, domena N-końcowa posiada domenę inhibitorową (ang. *inhibitory domain*, ID), która po przyłączeniu antagonisty receptora ma zdolność do hamowania jego aktywności. Kolejna wyróżniona domena funkcjonalna, domena DBD, posiada wysoce konserwatywną sekwencję w obrębie jądrowych receptorów P4. Jej strukturę przestrzenną tworzą dwa palce cynkowe, w których dwa jony cynku są związane przez osiem reszt cysteinowych. Domena ta odpowiada za przyłączanie kompleksu ligand-receptor do specyficznej sekwencji regulatorowej DNA, określanej jako elementy odpowiedzi na hormon (ang. *hormone response elements*, HRE). Ostatnią domeną jądrowego receptora P4, zlokalizowaną na C-końcu białka, jest domena LBD, która zawiera dodatkową sekwencję AF2. Sekwencja ta odpowiada za oddziaływanie z białkami szoku cieplnego (ang. *heat-shock protein*, Hsp) oraz bierze udział w dimeryzacji receptorów. Najkrótsza izoforma jądrowego receptora P4, izoforma PGR-C, posiada tylko jeden palec cynkowy w domenie DBD oraz domenę LBD z elementem aktywującym transkrypcję AF-2. Izoforma ta nie wykazuje aktywności transkrypcyjnej, ale może tworzyć heterodimery z PGR-A lub PGR-B i w ten sposób wpływać na ich aktywność transkrypcyjną [22,25,26].

POZAGENOMOWE DZIAŁANIE PROGESTERONU

Klasyczny mechanizm działania P4 nie wyjaśnia wszystkich efektów wywołanych przez ten hormon. Wykaza-

Tabela 1. Ekspresja błonowych receptorów progesteronu w obrębie układu rozrodczego samic różnych gatunków.

	Macica	Jajowód	Jajnik/Pęcherzyk	Łożysko
PGRMC1	człowiek [36] mysz [36] krowa [37,38]	krowa [45]	człowiek [49] mysz [50] szczur [51] świnia [48] krowa [37, 54]	człowiek [36] mysz [36] krowa [57]
PGRMC2	małpa [39] krowa [40]	krowa [46]	szczur [59] krowa [54]	człowiek [53] krowa [57]
mPR α	człowiek [41] owca [42, 47] krowa [43]	krowa [45]	owca [47]	człowiek [41] owca [58]
mPR β	człowiek [41] mysz [44] krowa [43]	człowiek [44] mysz [44] krowa [45]	mysz [44] świnia [52]	człowiek [41] owca [58]
mPR γ	człowiek [41] krowa [43]	człowiek [44, 56] mysz [44, 56] krowa [45]	mysz [56]	człowiek [41] owca [58]

no, że hormony steroidowe mogą wywoływać efekty, które następują już po kilku sekundach lub minutach od ekspozycji. Mechanizm ten, określany jako pozagenomowy, jest niezależny od procesu transkrypcji genów i syntezy nowych białek. Pozagenomowe działanie hormonów steroidowych opiera się na pobudzeniu różnych wewnątrzkomórkowych szlaków przekazywania sygnału, związanych z powstawaniem wtórnych przekaźników sygnału, modulowaniem kanałów jonowych czy aktywacją lub dezaktywacją kinaz białkowych [5,27-29].

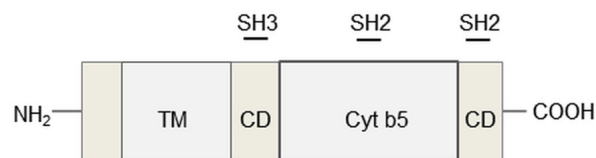
Wykazano kilka możliwych dróg pozagenomowego działania P4 na komórkę docelową. Progesteron, jako cząsteczka lipofilna, posiada zdolność przechodzenia przez błonę komórkową, powodując zmiany w jej strukturze i płynności. W konsekwencji dochodzi do zmian powinowactwa błonowych receptorów do ich ligandów oraz modyfikacji białek czynnościowych, związanych z błoną komórkową, na przykład kanałów jonowych [28,30]. W pozagenomowym mechanizmie działania P4 na komórki mogą uczestniczyć również jądrowe receptory P4, które są zlokalizowane w pobliżu błony komórkowej [5]. Receptory te działają jako czynniki transkrypcyjne, ale mogą również modyfikować wewnątrzkomórkowe szlaki kinaz białkowych [24,31,32]. Ponadto steroidy mogą wywierać wpływ na czynniki wzrostu takie jak: czynnik wzrostu nerwów (NGF), czynnik wzrostu naskórka (EGF) oraz insulinopodobny czynnik wzrostu (IGF-1). Istnieje możliwość bezpośredniego wiązania steroidów z receptorami dla tych czynników i modyfikacji ich funkcji, co prowadzi do uruchomienia kaskady wtórnych przekaźników informacji w komórce [33, 34]. Badania Ramirez i wsp. (2001) sugerują natomiast, że steroidy mogą łączyć się z niespecyficznymi dla siebie białkami receptorowymi, enzymatycznymi lub strukturalnymi obecnymi w błonie, indukując w ten sposób liczne procesy wewnątrzkomórkowe. Przykładem tego typu białek może być podjednostka Ca²⁺ ATP-azy, czy też dehydrogenaza gliceraldehydo-3-fosforanowa [35]. Wykazano również, że w pozagenomowy mechanizm działania P4 zaangażowane są błonowe receptory tego hormonu. Dotychczas opisano dwa typy tych receptorów: PGRMC (ang. *progesterone receptor membrane component*) i mPR (ang. *membrane progesterin*

receptor), których ekspresję wykazano w różnych tkankach układu rozrodczego samicy (Tab. 1).

BŁONOWE RECEPTORY PROGESTERONU (PGRMC)

Błonowy receptor PGRMC1 oraz jego homolog PGRMC2 należą do rodziny białek MAPR (ang. *membrane associated progesteron receptor*). Białko PGRMC1 zbudowane jest ze 194 aminokwasów, a jego masa cząsteczkowa, w zależności od gatunku, waha się od 25 do 28 kDa. W obrębie tego receptora można wyróżnić trzy domeny: N-końcowa domena zewnątrzkomórkowa, domena transbłonowa (ang. *transmembrane domain*, TM) oraz najdłuższa domena cytoplazmatyczna (ang. *cytoplasmic domain*, CD). W cytoplazmatycznej części receptora znajdują się trzy homologiczne domeny Src (ang. *Src homology domains*), które biorą udział w przekazywaniu sygnału po aktywacji receptora przez ligand [5,26]. Za wiązanie steroidów odpowiada natomiast domena o budowie zbliżonej do cytochromu b-5 (ang. *cytochrome b-5-like/steroid binding domain*). Schemat budowy białka PGRMC1 przedstawiono na rycinie 4.

Ekspresję genu i/lub białka PGRMC1 wykazano w różnych tkankach żeńskiego układu rozrodczego (Tab. 1), jednak jego rola nie została w pełni wyjaśniona. Dotychczasowe badania wykazały, że receptor ten może pośredniczyć w regulacji wewnątrzkomórkowego metabolizmu cholesterolu, steroidogenezie, hamowaniu kurczliwości błony mięśniowej macicy, czy też dojrzewaniu oocytów [60-63]. Sugeruje się również, że PGRMC1 bierze udział w regulacji funkcji lutealnych poprzez wpływ na połączenia między-

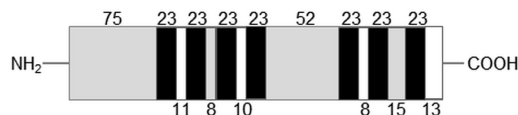


Rycina 4. Schemat budowy białka błonowego receptora progesteronu - PGRMC1 (zmodyfikowane wg Gellersen i wsp. 2009). TM - domena transbłonowa, CD - domena cytoplazmatyczna, Cyt b5 - motyw wiążący cytochrom b5, SH2, SH3 - domeny Src

komórkowe (ang. *gap junctions*) oraz transkrypcję genów związanych z procesami anty-apoptotycznymi [64]. Ekspresję genu PGRMC1 wykazano również w ludzkiej tkance nowotworowej piersi, co wskazuje, że odgrywa on znaczącą rolę w regulacji wzrostu komórek nowotworowych [65].

Białko PGRMC1 może tworzyć kompleks wiążący P4 z innym białkiem – SERBP1 (ang. *serpine 1 mRNA binding protein*) określanym również jako PAIRBP1 (ang. *plasminogen activator inhibitor RNA binding protein*) [51]. Białko to zlokalizowane jest w błonie komórkowej, jednak nie posiada domeny transbłonowej, przez co jego działanie jest uzależnione od związania z PGRMC1 [64,66,67]. Sugeruje się, że kompleks PGRMC1 z SERBP1 może pośredniczyć w anty-apoptotycznym działaniu P4. Związanie P4 z tym kompleksem prowadzi do aktywacji kinazy białkowej G (PKG) oraz wzrostu poziomu cyklicznego guanozynomonofosforanu (cGMP), co w konsekwencji skutkuje obniżeniem wewnątrzkomórkowego poziomu jonów wapnia w komórce [5,68].

Białko PGRMC2 poznane jest w mniejszym stopniu niż PGRMC1. Sekwencje aminokwasowe tych dwóch białek są wysoce homologiczne a główne różnice występują w obrębie domeny transbłonowej [19,69]. Receptor PGRMC2, podobnie jak PGRMC1, pełni ważną rolę w obrębie żeńskiego układu rozrodczego. Wykazano jego zwiększoną ekspresję w łożysku kobiet w trakcie przedwczesnych i terminowych skurczów, co wskazuje na możliwy udział tego białka w inicjacji porodu [53,69]. Przypuszcza się również, że PGRMC2 bierze udział w funkcji wydzielniczej i motorycznej jajowodu [46,55]. Ponadto, badania wskazują na związek białka PGRMC2 ze zmianami patologicznymi występującymi w obrębie układu rozrodczego. Wykazano zmniejszoną ekspresję białka PGRMC2 u kobiet w zaawansowanym stadium endometriozy, co wskazuje, że może mieć to związek z charakterystyczną dla tego stanu patologicznego osłabioną reakcją na P4 [70].

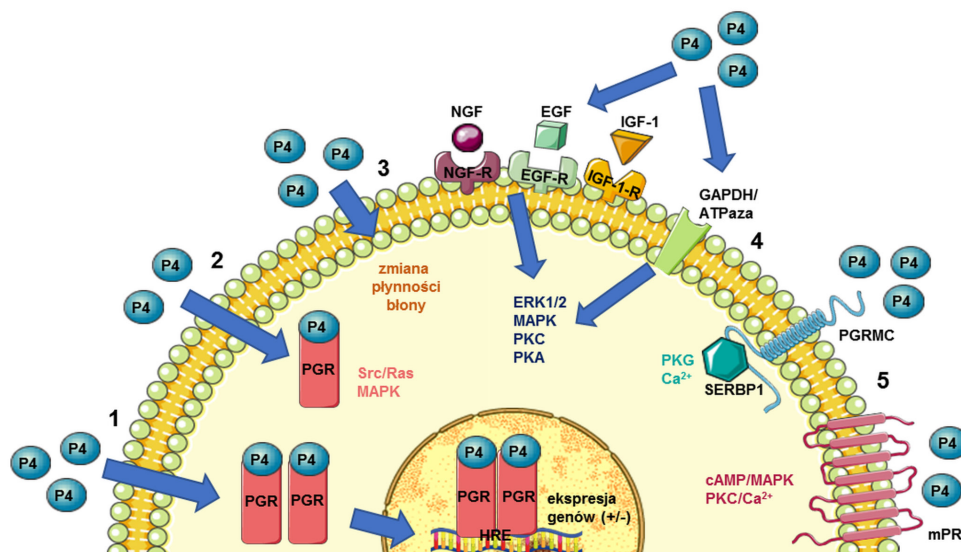


Rycina 5. Schemat budowy białka błonowego receptora progesteronu - mPR (zmodyfikowane wg Zhu i wsp. 2003). Na czarno zaznaczono siedem domen transbłonowych, na szaro domeny zewnątrzkomórkowe, natomiast na biało domeny cytoplazmatyczne. Numery oznaczają ilości aminokwasów w poszczególnych domenach.

BŁONOWE RECEPTORY PROGESTAGENÓW (MPR)

Druga grupa błonowych receptorów P4 to błonowe receptory progestagenów, które należą do rodziny białek PAQR (ang. *progesterin and adipoQreceptors*) [71]. Wyróżnia się trzy główne izoformy tego receptora: mPR α (PAQR7), mPR β (PAQR8) oraz mPR γ (PAQR5), kodowane przez różne geny [5,41,72]. Badania wskazują również na obecność dwóch dodatkowych izoform: mPR δ (PAQR6) oraz mPR ϵ (PAQR9) w tkankach układu nerwowego człowieka [73]. Ludzkie białko mPR α składa się z 352 aminokwasów i jego masa cząsteczkowa wynosi około 40 kDa [72]. Błonowe receptory progestagenów posiadają budowę charakterystyczną dla receptorów związanych z białkami G. Zbudowane są z N-końcowej domeny zewnątrzkomórkowej, siedmiu domen transbłonowych oraz krótkiej domeny cytoplazmatycznej. Schemat budowy białka mPR przedstawiono na rycinie 5. Obecność błonowych receptorów mPR α , mPR β i mPR γ wykazano w obrębie układu rozrodczego samic różnych gatunków (Tab. 1).

Wiązanie P4 z błonowym receptorem mPR aktywuje różne wewnątrzkomórkowe szlaki sygnałowe, co prowadzi do specyficznej odpowiedzi komórki na ten hormon. Wykazano, że aktywacja receptorów mPR przez P4 może hamować aktywność cykazy adenylanowej (CA) oraz obniżać poziom wewnątrzkomórkowego stężenia cyklicznego adenylo-



Rycina 6. Molekularne mechanizmy działania progesteronu (P4). 1. Genomowe działanie progesteronu poprzez jądrowe receptory (PGR). 2. Pozagenomowy mechanizm działania progesteronu poprzez jądrowe receptory (PGR). 3. Pozagenomowy mechanizm działania progesteronu poprzez zmianę płynności błony komórkowej. 4. Pozagenomowe działanie progesteronu poprzez wiązanie z receptorami dla czynników wzrostu (NGF, EGF, IGF-1) oraz innymi niespecyficznymi dla siebie białkami (GAPDH, ATPaza). 5. Pozagenomowe działanie progesteronu poprzez błonowe receptory (PGRMC, mPR).

nofosforanu (cAMP) w komórkach. W konsekwencji dochodzi do pobudzenia ścieżki sygnałowej zależnej od kinazy MAP (MAPK), która uczestniczy w regulacji licznych procesów komórkowych takich jak migracja, apoptoza oraz proliferacja komórek [20,74]. Funkcja białek mPR nie jest jednak w pełni wyjaśniona. Należy zaznaczyć, że zmniejszenie poziomu cAMP w komórce prowadzi do hamowania procesu steroidogenezy, natomiast aktywacja MAPK jest częścią apoptozy w wielu typach komórek. Ostatnie badania, sugerują potencjalny udział receptorów mPR w promowaniu apoptozy komórek lutealnych i w konsekwencji regresji CL [5,75]. Stwierdzono również, że białka te mogą brać udział w zapłodnieniu [52], transporcie oocytów [44] oraz przygotowaniu macicy do implantacji blastocysty, ciąży oraz porodu [21,41,42].

Najnowsze badania wskazują na możliwy udział receptorów mPR w powstawaniu zmian nowotworowych. Wykazano wzrost poziomu ekspresji tych białek w guzach jajnika oraz piersi u kobiet [76,77]. Natomiast w endometrium stwierdzono udział receptorów mPR α i mPR β w hamowaniu proliferacji i inwazyjności komórek nowotworowych. Ponadto analiza ekspresji mRNA i białka mPR γ wykazała, że wyższy poziom tego receptora wiąże się z większymi szansami na wyzdrowienie [78]. Różnice te mogą być konsekwencją odmiennego działania P4 w poszczególnych tkankach układu rozrodczego [79].

PODSUMOWANIE

Podsumowując, P4 może oddziaływać na komórki docelowe żeńskiego układu rozrodczego zarówno na drodze genomowej, jak i pozagenomowej (Ryc. 6). Mechanizm genomowy, w którym pośredniczą jądrowe receptory P4, doprowadza do ekspresji genów docelowych i syntezy nowych białek. W przypadku mechanizmu pozagenomowego, P4 oddziałuje na różne ścieżki transdukcji sygnału, wpływając na białka już istniejące. Obie drogi działania steroidu równolegle biorą udział w regulacji procesów komórkowych. Możliwe jest zatem, że P4 docierając do komórki aktywuje równocześnie syntezę nowych białek oraz powoduje szereg zmian na poziomie błony komórkowej. Może to mieć znaczenie w przygotowaniu odpowiednich warunków do działania nowopowstałego białka. Integracja dwóch mechanizmów działania P4 prowadzi do prawidłowej regulacji odpowiedzi komórki, tkanki, a w konsekwencji całego organizmu.

PIŚMIENNICTWO

- Niswender GD, Juengel JL, Silva PJ, Rollyson MK, McIntush EW (2000) Mechanisms Controlling the Function and Life Span of the Corpus Luteum. *Physiol Rev* 80 (1): 1-29
- Niswender GD (2002) Molecular control of luteal secretion of progesterone. *Reproduction* 123: 333-339
- Mitan A, Grzesiak M (2015) Ciało żółte – mały gruczoł o wielkim znaczeniu. *Kosmos* 307: 247-259
- Schuler G, Furbass R, Klisch K (2018) Placental contribution of the endocrinology of gestation and parturition. *Anim Reprod* 15 (Suppl. 1): 822-842
- Peluso JJ (2006) Multiplicity of progesterone's actions and receptors in the mammalian ovary. *Biol Reprod* 75: 2-8
- Renzo GC, Giardina I, Clerici G, Brillo E, Gerli S (2016) Progesterone in normal and pathological pregnancy. *Horm Mol Biol Clin Invest* 27(1): 35-48
- Howles CM (2000) Role of LH and FSH in ovarian function. *Mol Cell Endocrinol* 161: 25-30

- Messinis IE (2006) From menarche to regular menstruation: endocrinological background. *Ann N Y Acad Sci* 1092: 49-56
- Mesen TB, Young SL (2015) Progesterone and the luteal phase: a requisite to reproduction. *Obstet Gynecol Clin North Am* 42(1): 135-151
- Rękawiecki R, Dobrzyń K, Kotwica J, Kowalik MK (2020) Progesterone receptor coregulators as factors supporting the function of the corpus luteum in cows. *Genes* 11(8): 923
- Halasz M, Szekeres-Bartho J (2013) The role of progesterone in implantation and trophoblast invasion. *J Reprod Immunol* 97: 43-50
- Druckmann R, Druckmann MA (2005) Progesterone and the immunology of pregnancy. *J Steroid Biochem Mol Biol* 97(5): 389-396
- Bujok J, Zawadzki W (2010) Aktywność spontaniczna macicy podczas cyklu jajnikowego u samic zwierząt domowych i metody jej badania. *Medicina Veterinaria* 9(2): 33-44
- Parizek A, Koucky M, Duskova M (2014) Progesterone, inflammation and preterm labor. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* 139: 159-165
- Kim JJ, Chapman-Davis E (2010) Role of progesterone in endometrial cancer. *Semin Reprod Med* 28(1): 81-90
- Kim JJ, Kurita T, Bulin SE (2013) Progesterone action in endometrial cancer, endometriosis, uterine fibroids, and breast cancer. *Endocr Rev* 34(1): 130-162
- Mulac-Jericevic B, Conneely OM (2004) Reproductive tissue selective actions of progesterone receptors. *Reproduction* 128: 139-146
- Thijssen JH (2005) Progesterone receptors in the human uterus and their possible role in parturition. *J Steroid Biochem Mol Biol* 97: 397-400
- Cahill MA (2007) Progesterone receptor membrane component 1: An integrative review. *J Steroid Biochem Mol Biol* 150: 16-36
- Gellersen B, Fernandes MS, Brosens JJ (2009) Non-genomic progesterone actions in female reproduction. *Human Reprod Update* 15 (1): 119-138
- Dressing GE, Goldberg JE, Charles NJ, Schwertfeger KL, Lange CA (2011) Membrane progesterone receptor expression in mammalian tissues; a review of regulation and physiological implications. *Steroids* 76(1-2): 11-17
- Zielniok K, Gajewska M, Motyl T (2014) Molekularne aspekty 17 β -estradiolu i progesteronu w komórkowych szlakach sygnałowych. *Postępy Higieny Medycyny Doświadczalnej* 68: 777-792
- Smith F (2000) Chaperones in progesterone receptor complexes. *Semin Cell Dev Biol* 11: 45-52
- Leonhardt SA, Boonyaratankornkit V, Edwards DP (2003) Progesterone receptor transcription and non-transcription signaling mechanism. *Steroids* 68: 761-770
- Rękawiecki R, Kowalik MK, Kotwica J (2011) Nuclear progesterone receptor isoforms and their functions in the female reproductive tract. *Polish Journal of Veterinary Sciences* 14(1): 149-158
- Kowalik MK, Rękawiecki R, Kotwica J (2013) The putative roles of nuclear and membrane-bound progesterone receptors in the female reproductive tract. *Reprod Biol* 13(4): 279-289
- Simoncini T, Genazzani AR (2003) Non-genomic actions of sex steroid hormones. *Eur J Endocrinol* 148: 281-292
- Lachowicz-Ochędalska A (2005) Membrane receptors for estradiol – new way of biological action. *End Pol* 3: 322-326
- Wehling M, Schultz A, Lösel RM (2007) To be or not to be (a receptor). *Steroids* 72: 107-110
- Gimpl G, Fahrenholz F (2002) Cholesterol as stabilizer of the oxytocin receptor. *Bioch Biophys Acta* 1564: 384-392
- Conneely OM (2001) Perspective: female steroid hormone action. *Endocrinology* 142: 2194-2199
- Wehling M, Lösel RM (2006) Non-genomic steroid hormone effects: membrane or intracellular receptors? *J Steroid Biochem Mol Biol* 102: 180-183
- Falkenstein E, Tillmann HC, Christ M, Feuring M, Wehling M (2000) Multiple actions of steroid hormones – a focus on rapid, nongenomic effects. *Pharmacological Rev* 52: 513-555

34. Cato ACB, Nesti A, Mink S (2000) Rapid actions of steroid receptors in cellular signaling pathways. *Science's STKE* 138: 9-20
35. Ramirez VD, Kipp JL, Joe I (2001) Estradiol, in the CNS, targets several physiologically relevant membrane-associated proteins. *Brain Res Rev* 37: 141-152
36. Zhang L, Kanda Y, Roberts DJ, Ecker JL, Losel R, Wehling M, Peluso JJ, Pru JK (2008) Expression of progesterone receptor membrane component 1 and its partner serpine 1 mRNA binding protein in uterine and placental tissues of the mouse and human. *Mol Cell Endocrinol* 287: 81-89
37. Luciano AM, Corbani D, Lodde V, Tessaro L, Franciosi F, Peluso JJ, Modena S (2011) Expression of progesterone receptor membrane component-1 in bovine reproductive system during estrous cycle. *Eur J Histochem* 55 (3): e27
38. Slonina D, Kowalik MK, Kotwica J (2012) Expression of progesterone receptor membrane component 1, serpine mRNA binding protein 1 and nuclear progesterone receptor isoforms A and B in the bovine myometrium during the estrous cycle and early pregnancy. *J Reprod. Dev* 58 (3): 288-294
39. Keator CS, Mah K, Slayden OD (2012) Alterations in progesterone receptor membrane component 2 (PGRMC2) in the endometrium of macaques afflicted with advanced endometriosis. *Mol Hum Reprod* 18: 308-319
40. Kowalik MK, Slonina D, Rękawiecki R, Kotwica J (2013) Expression of progesterone receptor membrane component (PGRMC) 1 and 2, serpine mRNA binding protein 1 (SERBP1) and nuclear progesterone receptor (PGR) in the bovine endometrium during the estrus cycle and first trimester of pregnancy. *Reprod Biol* 13: 15-23
41. Fernandes MS, Pierron V, Michalovich D, Astle S, Thornton S, Pelto-keto H, Lam E, Gellersen B, Huhtaniemi I, Allen J, Brosens JJ (2005) Regulated expression of putative membrane progesterin homologues in human endometrium and gestational tissues. *J Endocrinol* 187: 89-101
42. Ashley RL, Clay CM, Farmerie TA, Niswender GD, Nett TM (2006) Cloning and characterization of an ovine intracellular seven transmembrane receptor for progesterone that mediates calcium mobilization. *Endocrinology* 147: 4151-4159
43. Kowalik MK, Dobrzyn K, Rękawiecki R, Kotwica J (2019) Expression of membrane progesterin receptors (mPRs) α , β and γ in the bovine uterus during the oestrous cycle and pregnancy. *Theriogenology* 140: 171-179
44. Nutu M, Weijdega B, Thomas P, Thurin-Kjellberg A, Billig H, Larsson DGJ (2009) Distribution and hormonal regulation of membrane progesterone receptors β and γ in ciliated epithelial cells of mouse and human fallopian tubes. *Reprod Biol Endocrinol* 7: 89
45. Kowalik MK, Martyniak M, Rękawiecki R, Kotwica J (2016) Expression and immunolocalization of membrane progesterone receptors in the bovine oviduct. *Domest Anim Endocrinol* 55: 83-96
46. Saint-Dizier M, Sandra O, Ployart S, Chebrouit M, Constant F (2012) Expression of nuclear progesterone receptor and progesterone receptor membrane components 1 and 2 in the oviduct of cycling and pregnant cows during the postovulation period. *Reprod Biol Endocrinol* 10: 76
47. Ashley RL, Arreguin-Arevalo JA, Nett TM (2009) Binding characteristics of the ovine membrane progesterone receptor alpha and expression of the receptor during the estrous cycle. *Reprod Biol Endocrinol* 7: 42
48. Jiang H, Whitworth KM, Bivens NJ, Ries JE, Woods RJ, Forrester L., Springer GK, Mathialagan N, Agca C, Prather RS, Lucy MC (2004) Large-scale generation and analysis of expressed sequence tags from porcine ovary. *Biol Reprod* 71: 1991-2002
49. Sasson R, Rimón E, Dantes A (2004) Gonadotrophin-induced gene regulation in human granulosa cells obtained from IVF patients. Modulation of steroidogenic genes, cytoskeletal genes and genes coding for apoptotic signaling and protein kinases. *Mol Hum Reprod* 10: 299-311
50. McRae RS, Johnson HM, Mim M, O'Shaughnessy PJ (2005) Changes in mouse granulosa cell gene expression during early luteinization. *Endocrinology* 146: 309-317
51. Peluso JJ, Pappalardo A, Losel R, Wehling M (2006) Progesterone membrane receptor component 1 expression in the immature rat ovary and its role in mediating progesterone's antiapoptotic action. *Endocrinology* 147: 3133-3140
52. Qiu HB, Lu SS, Ji KL, Song XM, Lu YQ, Zhang M, Lu KH (2008) Membrane progesterin receptor beta (mPR-beta): a protein related to cumulus expansion that is involved in in vitro maturation of pig cumulus-oocyte complexes. *Steroids* 73 (14): 1416-1423
53. Pru JK, Clark NC (2013) PGRMC1 and PGRMC2 in uterine physiology and disease. *Front Neurosci* 7:168
54. Kowalik MK, Rękawiecki R, Kotwica J (2014) Expression and localization of progesterone receptor membrane component (PGRMC) 1 and 2 and serpine mRNA binding protein 1 (SERBP1) in the bovine corpus luteum during the estrous cycle and the first trimester of pregnancy. *Theriogenology* 82: 1086-1093
55. Kowalik MK, Rękawiecki R, Kotwica J (2015) Messenger RNA expression and protein localization of membrane progesterin receptors α , β and γ in the bovine endometrium and myometrium during the estrous cycle. *Reprod Dom Anim* 50 (Suppl. 1): 1-77
56. Nutu M, Weijdegaard B, Thomas P, Bergh C, Thurin-Kjellberg A, Pang Y, Billig H, Larsson DGJ (2007) Membrane progesterone receptor gamma: tissue distribution and expression in ciliated cells in the fallopian tube. *Mol Reprod Dev* 74(7): 843-850
57. Beyer NM, Kowalik MK, Kowalewski MP, Boos A (2017) Membrane bound progesterone receptors in the bovine uterine wall and placenta. *Reprod Dom Anim* 52(1): 10
58. Reynolds LP, Haring JS, Johnson ML, Ashley RL, Redmer DA, Borowicz PP, Grazul-Bilska AT (2015) Placental development during early pregnancy in sheep: estrogen and progesterone receptor messenger RNA expression in pregnancies derived from in vivo-produced and in vitro-produced embryos. *Domest Anim Endocrinol* 53: 60-69
59. Griffin D, Liu X, Pru C, Pru JK, Peluso JJ (2014) Expression of progesterone receptor membrane component-2 within the immature rat ovary and its role in regulating mitosis and apoptosis of spontaneously immortalized granulosa cells. *Biol Reprod* 91 (2): 36
60. Suchanek M, Radzikowska A, Thiele C (2005) Photo-leucine and photo-methionine allow identification of protein-protein interactions in living cells. *Nat methods* 2: 261-267
61. Hughes AL, Powell DW, Bard M, Eckstein J, Barbuch R, Link AJ, Espenshade PJ (2007) DAP1/PGRMC1 binds and regulates cytochrome P450 enzymes. *Cell Metab* 5 (2): 143-149
62. Wu W, Shi SQ, Huang HJ, Balducci J, Garfield RE (2011) Changes in PGRMC1, a potential progesterone receptor, in human myometrium during pregnancy and labour at term and preterm. *Mol Hum Reprod* 17: 233-242
63. Aparicio IM, Garcia-Herreros M, O'Shea LC, Hensey C, Lonergan P, Fair T (2011) Expression, regulation, and function of progesterone receptors in bovine cumulus oocyte complexes during in vitro maturation. *Biol Reprod* 84: 910-921
64. Cai Z, Stocco C (2005) Expression and regulation of progesterin membrane receptors in the rat corpus luteum. *Endocrinology* 146: 5522-5532
65. Pedroza DA, Rajamanickam V, Subramani R, Bencomo A, Galvez A, Lakshmanaswamy R (2020) Progesterone receptor membrane component 1 promotes the growth of breast cancer by altering the phosphoproteome and augmenting EGFR/PI3K/AKT signalling. *Br J Cancer* 123: 1326-1335
66. Peluso JJ, Pappalardo A, Fernandez G, Wu CA (2004) Involvement of an unnamed protein, RDA288, in the mechanism through which progesterone mediates its antiapoptotic action in spontaneously immortalized granulosa cells. *Endocrinology* 145: 3014-3022
67. Peluso JJ, Pappalardo A, Losel R, Wehling M (2005) Expression and function of PAIRBP1 within gonadotropin-primed immature rat ovaries: PAIRBP1 regulation of granulosa and luteal cell viability. *Biol Reprod* 73: 261-270
68. Engmann L, Losel R, Wehling M, Peluso JJ (2006) Progesterone regulation of human granulosa/luteal cell viability by an RU486-independent mechanism. *J Clin Endocrinol Metab* 91: 4962-4968

69. Wendler A, Wehling M (2013) PGRMC2, a yet uncharacterized protein with potential as tumor suppressor, migration inhibitor, and regulator of cytochrome P450 enzyme activity. *Steroids* 78 (6): 555-558
70. Bunch K, Tinnemore D, Huff S, Hoffer ZS, Burney RO, Stallings JD (2014) Expression patterns of progesterone receptor membrane components 1 and 2 in endometria from women with and without endometriosis. *Reprod Sci* 21(2): 190-197
71. Nathan JC, Thomas P, Lange CA (2010) Expression of membrane progesterone receptors (mPR/PAQR) in ovarian cancer cells: implications for progesterone-induced signaling events. *Horm Cancer* 1(4): 167-176
72. Zhu Y, Rice CD, Pang Y, Pace M, Thomas P (2003) Cloning, expression, and characterization of a membrane progesterin receptor and evidence it is an intermediary in meiotic maturation of fish oocytes. *Proc Natl Acad Sci USA* 100 (5): 2231-2236
73. Pang Y, Dong J, Thomas P (2013) Characterization, neurosteroid binding and brain distribution of human membrane progesterone receptors δ and (epsilon) (mPR δ and mPR (epsilon)) and mPR δ involvement in neurosteroid inhibition of apoptosis. *Endocrinology* 154(1): 283-295
74. Karteris E, Zervou S, Pang Y, Dong J, Hillhouse EW, Randeva HS, Thomas P (2006) Progesterone signaling in human myometrium through two novel membrane G protein-coupled receptors: potential role in functional progesterone withdrawal at term. *Mol Endocrinol* 20: 1519-1534
75. Amsterdam A, Keren-Tal I, Aharoni D, Dantes A, Land-Bracha A, Rimmon E, Sasson R, Hirsh L (2003) Steroidogenesis and apoptosis in the mammalian ovary. *Steroids* 68: 861-867
76. Charles NJ, Thomas P, Lange CA (2010) Expression of membrane progesterone receptors (mPR/PAQR) in ovarian cancer cells: implications for progesterone - induced signaling events. *Horm Cancer* 1(4): 167-176
77. Dressing GE, Alyea R, Pang Y, Thomas P (2012) Membrane progesterone receptors (mPRs) mediate progesterin induced antimorbidity in breast cancer cells and are expressed in human breast tumors. *Horm Cancer* 3(3): 101-112
78. Sinreih M, Knific T, Thomas P, Grazio SF, Rizner TL (2018) Membrane progesterone receptors β and γ have potential as prognostic biomarkers of endometrial cancer. *J Steroid Biochem Mol Biol* 178: 303-311
79. Kim JJ, Kurita T, Bulin SE (2013) Progesterone action in endometrial cancer, endometriosis, uterine fibroids, and breast cancer. *Endocr Rev* 34(1): 130-162

Molecular mechanism of progesterone action in the female reproductive system

Karolina Dobrzyń, Magdalena K. Kowalik✉

Department of Physiology and Toxicology of Reproduction, Institute of Animal Reproduction and Food Research Polish Academy of Sciences in Olsztyn

✉corresponding author: m.kowalik@pan.olsztyn.pl

Key words: progesterone, female reproductive system, genomic effect, nongenomic effect, nuclear receptor, membrane receptor

SUMMARY

Progesterone (P4) is a steroid hormone which participate in many processes in the female reproductive system. The hormone is produced mainly by the corpus luteum (CL), however, also the ovarian follicles, uterine tissues and placenta are able to produce P4. Progesterone is involved in the regulation of the sexual cycle, as well as in the initiation and maintenance of pregnancy. The hormone may affect cell function by genomic mechanism, through nuclear P4 receptors (PGR), and *via* nongenomic mechanism, through the membrane P4 receptors, such as progesterone receptor membrane component (PGRMC) 1 and 2, and membrane progesterin receptors (mPR) α , β and γ . The genomic mechanism of P4 action leads to the expression of target genes and the synthesis of new proteins, while the nongenomic mechanism modifies various intracellular signaling pathways. The integration of these two mechanisms of P4 activity leads to the suitable regulation of the cell, tissue and, consequently, the response of organism to the hormone.

