

Struktura i uloga rodopsina

Facković, Matea

Undergraduate thesis / Završni rad

2017

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:217:138119>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-12-23**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb](#)





Sveučilište u Zagrebu
PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET
Kemijski odsjek

Matea Facković

Studentica 3. godine Preddiplomskog sveučilišnog studija KEMIJA

STRUKTURA I ULOGA RODOPSINA

Završni rad

Rad je izrađen u Zavodu za biokemiju

Mentor rada: Doc. dr. sc. J. Rokov Plavec

Zagreb, 2017.

Datum predaje prve verzije Završnog rada:

14. srpnja 2017.

Datum ocjenjivanja Završnog rada i polaganja Završnog ispita:

22. rujna 2017.

Mentor rada: Doc. dr. sc. J. Rokov Plavec

Potpis:

Sadržaj

§ SAŽETAK.....	VII
§ 1. UVOD.....	1
1.1. Osjetilo vida.....	1
1.1.1. Nastanak slike.....	2
1.1.2. Vid u boji.....	3
§ 2. PRIKAZ ODABRANE TEME	4
2.1. Transmembranski proteini	4
2.1.1. Građa rodopsina.....	4
2.2. Fotoreceptorske molekule	5
2.2.1. Apsorpcija svjetla.....	5
2.2.2. Izomerizacija 11-cis-retinala	6
2.2.3. Provođenje signala putem G-proteina	7
2.3. Mutacije	8
2.3.1. Retinitis pigmentosa.....	8
2.3.2. Leber kongenitalna amauroza.....	14
2.3.3. Kongenitalna noćna sljepoća.....	15
§ 3. LITERATURNI IZVORI.....	XVII

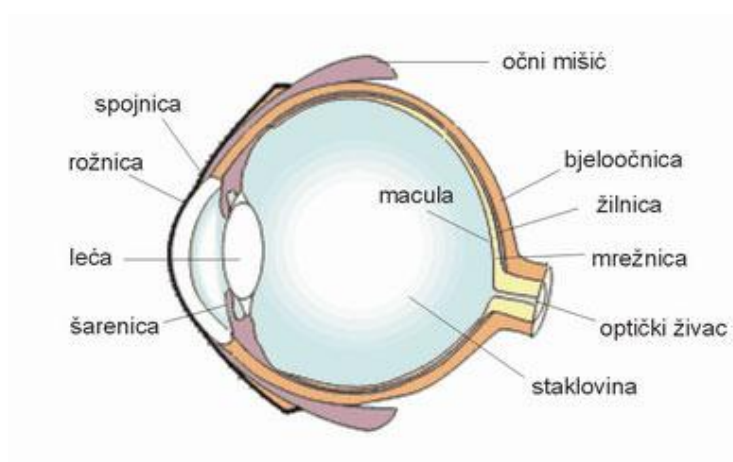
§ Sažetak

Mrežnica je funkcionalno najvažniji dio oka čija je uloga pretvaranje svjetlosnog signala u električni impuls koji se vidnim živcem prenosi do mozga gdje nastaje slika predmeta. Sastavni dio mrežnice su fotoreceptorske stanice štapići i čunjići. Rodopsin je fotoreceptorska molekula štapića i pripada porodici transmembranskih proteina. Građen je od proteinskog dijela opsina i prostetičke skupine 11-cis retinala. Prilikom osvjetljavanja dolazi do izomerizacije 11-cis-retinala u sve-trans retinal. Prijenos signala odvija se putem G-proteina odnosno pomoću transducina. U normalnim uvjetima rodopsin je kovalentno vezan na 11-cis retinal i inaktivan je u mraku, a dolaskom fotona svjetlosti se aktivira. Zbog mutacija ili odsustva 11-cis retinala dolazi do stalne aktivnosti rodopsina koja izaziva desenzitaciju fotoreceptorskih ćelija i može dovesti do degeneracije mrežnice. Neke od bolesti koje nastaju zbog degeneracije mrežnice su retinitis pigmentosa, Leber kognitivna amauroza i kognitivna noćna sljepoća.

§ 1. UVOD

1.1. Osjetilo vida

Organ oka sastoji se od unutarnjeg i vanjskog dijela. Vanjski dio čine: bjeloočnica, šarenica i zjenica, a unutarnji dio čine: rožnica, leća, spojnica, žilnica, vidni živac, žuta pjega i mrežnica.^{1,2}



Slika 1. Anatomija oka. Preuzeto s (1)

Bjeloočnica ili sclera je najdeblja očna ovojnica i služi za zaštitu unutrašnjosti oka od mehaničkih utjecaja. Prekriva 85% ukupnog oplošja oka i ne sadrži krvne žile i živce.

Šarenica ili iris je prednji dio ovojnice oka. Sadrži pigment koji određuje boju oka te sprječava ulazak prevelike količine svjetla.

Zjenica ili pupila je centralni otvor šarenice. Služi za propuštanje svjetla u oko.

Rožnica ili cornea je dio vanjske očne ovojnice i smještena je u prednjem dijelu oka. Sastoji se od prednje ispupčene strane i stražnje udubljene strane. Zbog toga je rožnica zapravo optička leća. Ona čini glavni refrakcijski sustav oka na kojem se prelama svjetlo na ulasku u oko.

Očna leća ili lenis cristallina je bikonveksna struktura smještena iza šarenice. Prozirna je i nema krvnih žila kao ni rožnica. Debljina leće se mijenja ovisno o akomodaciji. Starenjem leća postaje manje elastična čime se smanjuje mogućnost akomodacije i javlja se staračka dalekovidnost. Ukoliko leća gubi prozirnost javlja se očna mrena koja može nastati zbog bolesti kao što je dijabetes, ozljede oka ili biti prirođena.

Žilnica ili choroidea zauzima najveći dio srednje očne ovojnice. Nalazi se između mrežnice i bjeloočnice. Sadržava pigment i zbog toga je tamna te na taj način održava unutrašnjost oka u tami čime sprječava refleksiju svjetlosnih zraka u unutrašnjosti oka. Također sadrži i brojne krvne žile i živce.

Vidni živac ili nervus opticus čine ovojnicom ovijeni aksoni ganglijskih stanica koje se skupljaju na jednom mjestu na mrežnici, izlaze iz nje i prolaze kroz bjeloočnicu. Mjesto skupljanja vidnih aksona je žuta ili slijepa pjega u kojoj nema vidnih fotoreceptorskih stanica.

Mrežnica je funkcionalno najvažniji dio oka čija je uloga primati svjetlosne podražaje i kemijskim postupcima prevoditi ih u električne impulse koji se dalje prevode do mozga.^{1,2}

1.1.1. Nastanak slike

Mrežnica je smještena u stražnjem dijelu očne jabučice i uloga joj je pretvaranje svjetlosnog signala u električni impuls koji se pomoću vidnog živca prenosi do mozga. Podijeljena je na perifernu i centralnu zonu. Podjela omogućuje različite vidne funkcije kao što su detaljan centralni vid, percepciju boja, vid u slabijem osvjetljenju i periferni vid. Fotoreceptorske stanice u mrežnici omogućuju hvatanje svjetlosnih podražaja. Živčani podražaji stvaraju živčane impulse koji se preko optičkog živca prenose do mozga. U mozgu nastaje realna i obrnuta slika te se oko mora akomodirati i prilagoditi konvergenciju položaju predmeta. Udaljenost mrežnice od ulazne plohe rožnice je stalna pa se oko mora akomodirati tj. povećavati konvergenciju što je predmet bliže. Na mjestu ulaska ocnog živca u oko nema fotoreceptorskih stanica, štapića i čunjića i tu se slika ne vidi pa se naziva slijepom pjegom oka.

Adaptacijom na tamu, oči imaju mogućnost zamjećivanja slabog svjetla, do razine manje od 10 fotona. U području jače svjetlosti postoji mogućnost razlikovanja milijuna različitih boja. Fotoreceptor rodopsin apsorbira svjetlo u vidnom procesu. Boju svjetla koja će se apsorbirati određuju aminokiseline koje okružuju retinal-derivat vitamina A. Retinal zajedno s proteinom opsinom dio je strukture rodopsina.¹⁻³

1.1.2. Vid u boji

Vid u boji posredovan je trima receptorima koji su homologni rodopsinu i nalaze se u čunjićima. Članovi su porodice 7TM-receptora i kao kromofor koriste 11-cis retinal. Apsorpcijski maksimumi odgovaraju plavom ($\lambda=426$ nm), zelenom ($\lambda=530$ nm) i crvenom ($\lambda=560$ nm) dijelu spektra dok je apsorpcijski maksimum rodopsina 500 nm. Sisavci kao npr. psi i miševi, posjeduju dvije vrste čunjića, za plavo i zeleno dok čovjek posjeduje osjetljivost na svjetlo prema infracrvenom području. Dakle, sisavci kao psi i miševi nemaju mogućnost razlikovanja boja. Ptice, za razliku od njih, imaju vrlo izraženu sposobnost razlikovanja boja jer posjeduju ukupno šest pigmenata: rodopsin, četiri pigmenta čunjića i epifizni pigment pinopsin.

Geni za crvene i zelene pigmente nalaze se jedan pokraj drugoga na X-kromosomu te pokazuju više od 98% podudarnosti u slijedu nukleotida zbog čega su podložni homolognoj rekombinaciji. Preslagivanjem gena tijekom replikacije DNA može doći do gubitka gena za vidne pigmente ili nastanka hibridnih gena za pigmente koji kodiraju fotoreceptore s nepravilnim apsorpcijskim spektrima. Osoba koja ima takav hibridni gen kojemu također nedostaje funkcionalan gen za crveno ili zeleno ne može dobro razlikovati boje.⁴

§ 2. PRIKAZ ODABRANE TEME

2.1. Transmembranski proteini

Receptori sa sedam transmembranskih uzvojnica najveći su razred receptora na staničnoj površini. Također se nazivaju i zmijolikim receptorima (eng. *serpentine*) zbog polipeptidnog lanca koji vijugavo prolazi kroz lipidni dvosloj.

Rodopsin je prvi protein te porodice čija je prostorna građa utvrđena. Također je i prvi protein te porodice čiji gen je kloniran i određen mu je nukleotidni slijed. Danas je na temelju građe rodopsina opisana građa nekoliko tisuća takvih receptora.^{4,5}

2.1.1. Građa rodopsina

Rodopsin se sastoji od bjelančevine opsin i prostetičke skupine 11-cis retinal. Prostetička skupina vezana je na opsin preko Lys-296 u sedmoj transmembranskoj zavojnici u obliku protonirane Schiffove baze. Proteinski dio, opsin, pripada porodici 7TM receptora. Transmembranske regije povezane su s tri petlje koje se nalaze na citoplazmatskoj strani i u izvanstaničnom prostoru. N-terminalni krajevi smješteni su u izvanstaničnom prostoru i sadrže dvije β -ploče povezane omčama od 24 aminokiselinska slijeda. β -ploče služe za zatvaranje liganda u vezni džep kako bi spriječili brzi izlazak liganda. Aminokiselinski ostatci Asn2 i Asn15 su glikozilacijska mjesta za receptor, a zamjena ostataka s Ala smanjuje osjetljivost receptora na svjetlosne podražaje. Ostatci Thr4, Asn5, Thr17, Pro23 i Asn28 ključni su za ispravno sklapanje receptora. Mutacije na tim ostacima mogu dovesti do autosomno dominantne bolesti retinitis pigmentosa.^{4,5}



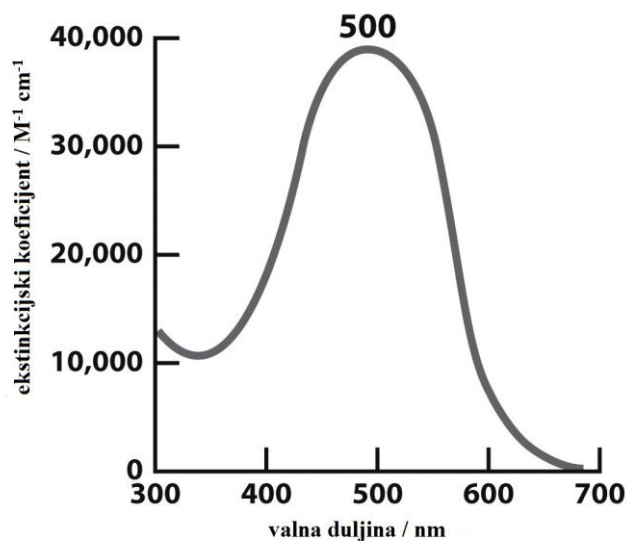
Slika 2. Struktura rodopsina. Preuzeto s (6)

2.2. Fotoreceptorske molekule

Kod kralježnjaka postoje dvije vrste fotoreceptorskih stanica koje su osjetljive na svjetlo u rasponu elektromagnetskog spektra između 300 i 850 nm. Zbog svog specifičnog oblika zovu se štapići i čunjići. Uloga čunjića je raspoznavanje boja i pri slabom osvjetljenju gotovo su neaktivni. Za razliku od njih, štapići su aktivni i u slabom osvjetljenju, a dovoljan im je jedan foton kako bi izazvao odgovor, ali nemaju mogućnost prepoznavanja boja. Izduženog su oblika i sastoje se od 1 000 membranskih vrećica ispunjenih fotoreceptorskim molekulama. Vanjski odsječak specijaliziran je za primanje svjetlosnih podražaja, fotorecepciju.⁴

2.2.1. Apsorpcija svjetla

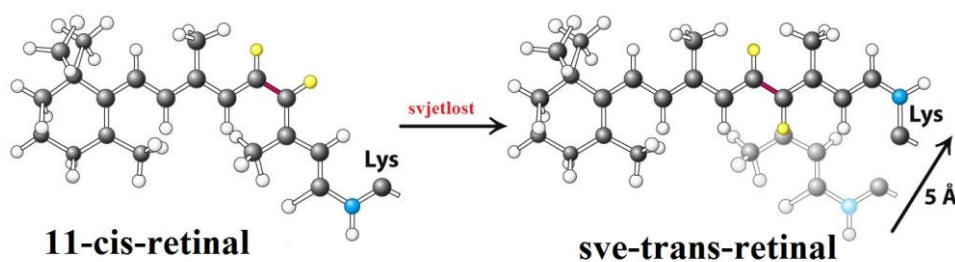
Fotoreceptorska molekula u štapićima je rodopsin. 11-cis retinal rodopsina sadrži aldehidnu skupinu koja tvori Schiffovu bazu s ϵ -amino-skupinom Lys296. Apsorpcijski maksimum slobodnog retinala iznosi 370 nm, neprotonirane Schiffove baze 380 nm, a protonirane 440 nm i više. Rodopsin postiže apsorpcijski maksimum pri 500 nm što upućuje na protoniranost Schiffove baze. Ekstinkcijski faktor pri 500 nm je $40\,000\text{ M}^{-1}\text{ cm}^{-1}$ što je više od faktora za triptofan, najučinkovitiji proteinski apsorbens koji ne sadrži prostetičku skupinu.⁴



Slika 3. Apsorpcijski spektar rodopsina. Preuzeto i prilagođeno prema referenci (7)

2.2.2. Izomerizacija 11-cis-retinala

Dolazak fotona svjetlosti na rodopsin izaziva izomerizaciju 11-cis-retinala u njegove sve-trans-oblike. Prilikom izomerizacije dolazi do pomaka dušikovih atoma u Schiffovoj bazi za oko 5 Å. Pomak atoma izaziva niz reakcija koje dovode do zatvaranja ionskih kanala i na kraju do stvaranja živčanog impulsa. Prvotni produkt nakon izomerizacije je batorodopsin koji prelazi u metarodopsin II. U tom obliku dušik u Schiffovoj bazi je deprotoniran i analogan je receptorima u stanju kada je vezan ligand kao što je β -adrenergični receptor i receptori za odoranse i gustanse. Metarodopsin II aktivira heterotrimerne G-proteine.^{4,8}

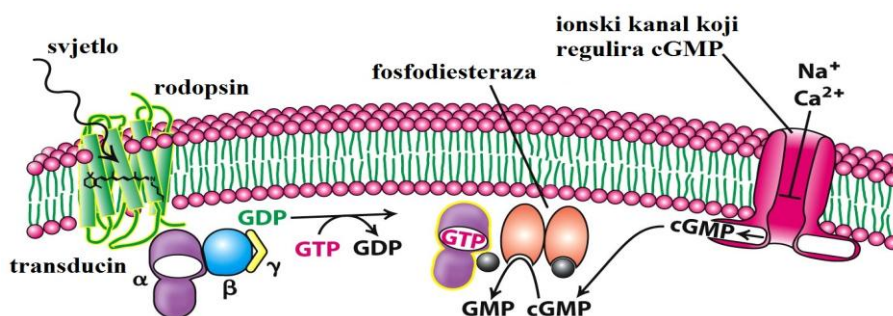


Slika 4. Izomerizacija 11-cis retinala u sve-trans retinal. Preuzeto i prilagođeno prema referenci (7)

2.2.3. Provođenje signala putem G-proteina

Kada je G-protein u neaktivnom stanju na njega je vezan gvanozinski nukleotid GDP. G-protein je tada u obliku heterotrimerički koji se sastoji od α , β i γ -podjedinica. Nukleotid je vezan na α -podjedinicu i zajedno s γ -podjedinicom obično je usidren u membranu.

Transducin je oblik G-proteina povezanog s rodopsinom. Metarodopsin II potiče zamjenu GDP-a s GTP-om na α -podjedinici nakon čega dolazi do otpuštanja $\beta\gamma$ -podjedinice transducina. α -podjedinica aktivira cGMP-fosfodiesterazu koja brzo hidrolizira cGMP u GMP. cGMP regulira ionski kanal, a smanjenje koncentracije cGMP-a zatvara ionski kanal. Posljedično dolazi do hiperpolarizacije membrane što izaziva odašiljanje signala.



Slika 5. Prijenos signala putem G-proteina i kontrola prijenosa Ca^{2+} i Na^{+} kroz kanale.

Preuzeto i prilagođeno prema referenci (7)

Prestanak prijenosa signala kreće od fosforilacije karboksilnog kraja serinskih i treoninskih ostataka pomoću rodopsin-kinaze. Fosforilacijom se onemogućuje daljnja aktivacija transducina. Inhibicijski protein arestin zatim se veže na fosforilirani kraj sprječavajući daljnja međudjelovanja s transducinom. Kako bi se prekinula signalizacija, α -podjedinica se mora vratiti u neaktivno stanje. Ona posjeduje inherentnu GTP-aznu aktivnost kojom hidrolizira GTP u GDP. Potom α -podjedinica napušta fosfodiesterazu i spaja se s $\beta\gamma$ -podjedinicom. Gvanilat-ciklaza prevodi GTP u cGMP i na taj način povisuje koncentraciju cGMP-a čime dolazi do otvaranja ionskih kanala.

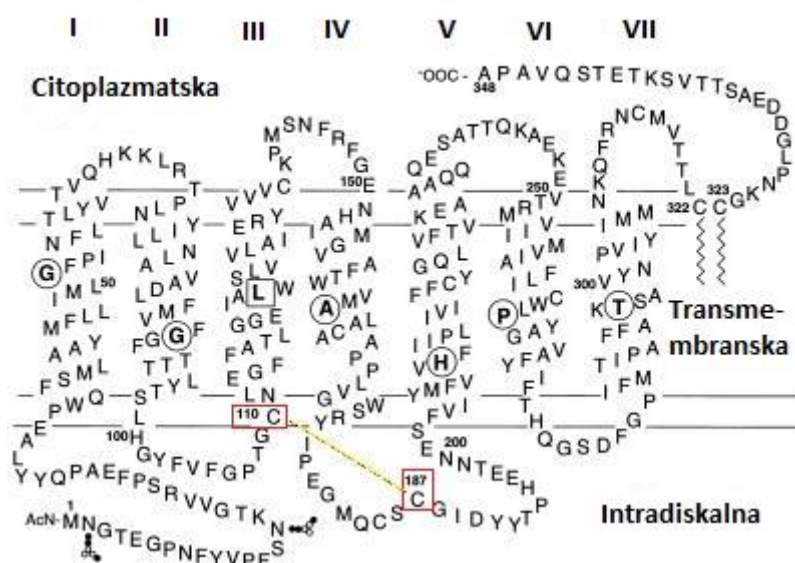
Ca^{2+} i Na^{+} ioni u mraku kroz kanale regulirane cGMP-om ulaze u vanjski odjeljak štapića. Nakon izlaganja svjetlu prestaje ulazak Ca^{2+} iona kroz kanale i dolazi do pada razine iona Ca^{2+} . Taj pad aktivira gvanilat-ciklazu koja povećava koncentraciju cGMP i time otvara ionske kanale.^{4,8-10}

2.3. Mutacije

Rodopsin je u normalnim uvjetima kovalentno vezan na 11-cis retinal i inaktivan je u mraku. Dolaskom fotona svjetlosti dolazi do njegove aktivacije. Održavanje inaktivnog stanja čini fotoreceptorske stanice visokoosjetljivima. Zbog mutacija ili odsutnosti 11-cis retinala dolazi do stalne aktivnosti rodopsina. Stalna aktivnost izaziva desenzitaciju fotoreceptorskih stanica i može dovesti do degeneracije mrežnice. Više od sto mutacija može izazvati bolesti mrežnice kao što su retinitis pigmentosa, Leber kongenitalna amauroza i kongenitalna noćna sljepoća.^{8,10}

2.3.1. Retinitis pigmentosa

Retinitis pigmentosa (RP) je grupa nasljednih poremećaja karakterizirana abnormalnošću fotoreceptora, štapića i čunjića, ili retinalnog pigmenta koji dovode do gubitka vida. Degeneracija započinje u središnjem perifernom dijelu vida i napreduje prema maculi i fovei. Bolest započinje noćnom sljepoćom, često u adolescenciji, potom dolazi gubitak perifernog vida i na kraju centralnog vida. Može se naslijediti na autosomno dominantan, autosomno recesivan ili X-vezan način. Moguće je da je bolest povezana sa sindromima kao Userov sindrom i Bardet-Biedl sindrom, ali najčešće je ograničena na gubitak vida. Za sada je otkriveno više od 40 mutacija povezanih s nastankom retinitis pigmentose. Prva otkrivena mutacija je Pro23His mutacija pronađena u opsinskom genu. Većina pronađenih mutacija povezana je s autosomnim oblikom bolesti, a geni zaslužni za njih pronađeni su na više različitih lokacija u opsinskom genu. Lokacije na opsinskom genu podijeljene su u tri područja koja odgovaraju domenama u opsinu: intradiskalnu, citoplazmatsku i transmembransku. Mutacije izazvane krivim smatanjem proteina narušavaju kompaktnost tercijarne strukture u intradiskalnoj domeni. Javlja se mogućnost stvaranja disulfidne veze između Cys-185 i Cys-187 umjesto između Cys-110 i Cys-187. Ako dođe do stvaranja takve disulfidne veze, protein je u krivo smotanom stanju. Jedna od posljedica krivog smatanja je da ispravan vezni džep unutar proteina nije formiran pa je veza s 11-cis retinalom prekinuta ili teško oštećena. Ostale posljedice su promjene na zavojnici i citoplazmatskim petljama te na C-terminalnom kraju. Mutacije na C-terminalnom kraju mogu utjecati na post-Golgijevo praćenje rodopsina pa može doći do pogrešnog lokaliziranja rodopsina (eng. *mislocalised rhodopsin*) u stanici.^{8,10-13}



Slika 6. Domene u opsinu, crveno je označena disulfidna veza između Cys-110 i Cys-187, a zaokružene su neke od aminokiselina na kojima dolazi do mutacije koja izaziva RP. Preuzeto i prilagođeno prema referenci (11).

1. Nesindromna retinitis pigmentosa

a. Autosomno dominantna retinitis pigmentosa

Rodopsin je prvi u vizualnom transdukcijском putu i više od 100 mutacija na rodopsinskom genu čini 30-40% autosomno dominantne RP. Mutacija Pro23His pronađena je u približno 10% Amerikanaca oboljelih od autosomno dominantne RP. Analize su pokazale da mutacije mogu smanjiti mogućnost pravilnog smatanja proteina, vezanja 11-cis retinala, vezanja i aktivacije G-proteina. Također može doći do nastanka autosomne dominantne bolesti kogenitalne noćne sljepoće i autosomne recesivne RP.¹³

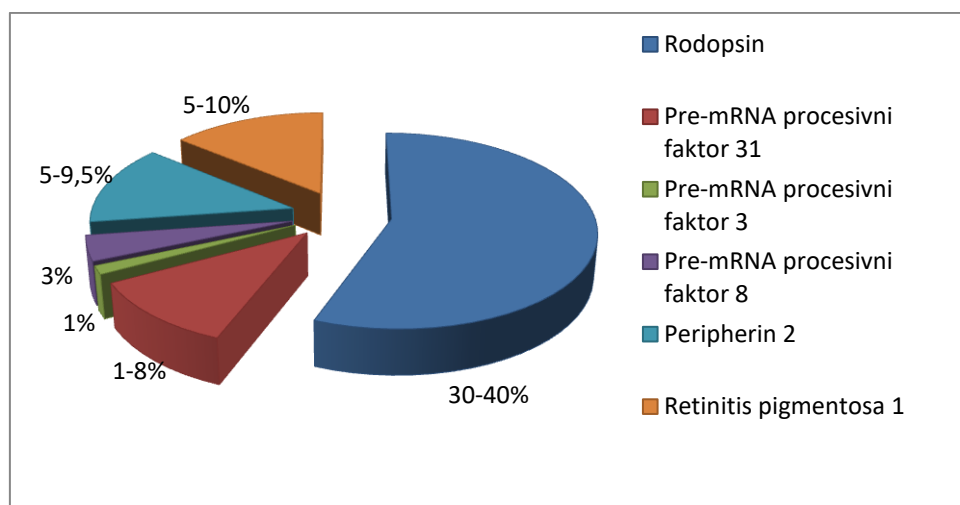
Pre-mRNA procesivni faktor 31 je jedan od tri pre-mRNA faktora prekrajanja (eng. *splicing*) koji su identificirani kao uzročnici autosomno dominantne RP. Prisutan je od 1% do 8% dok su druga dva pre-mRNA procesivni faktor 3 i pre-mRNA procesivni faktor 8 prisutni u 1% i 3% slučajeva. Proteini koji su kodirani tim genima neophodni su za prekrajanje u svim tipovima stanica, ali su samo u fotoreceptorskim stanicama štapića prisutni učinci mutacija sva tri gena. Nije istraženo koji ciljani geni utječu na mutacije kao niti mehanizmi koji utječu na opstanak i funkciju fotoreceptora.

Gen periferin 2 se sastoji od 3 eksona i kodira integralni membranski glikoprotein s 346 aminokiselina. Protein se sastoji od 4 transmembranske domene i intradiskalne domene te se nalazi na vanjskom segmentu štapića i ćunjića. Mutacije na periferinu 2 zauzimaju 5-9,5% slučajeva autosomno dominantne RP.

Retinitis pigmentosa 1 je posljednja mutacija koja utječe na nastanak dominantne RP, a ujedno utječe i na nastanak recesivne RP. Mutacije zauzimaju oko 5-10% slučajeva autosomno dominantne RP od čega $\frac{1}{2}$ čini mutacija Arg677X.¹³

Tablica 1. Postotak mutacija autosomno dominantne nesindromne retinitis pigmentose

MUTACIJA	%
Rodopsin	30-40
Pre-mRNA procesivni faktor 31	1-8
Pre-mRNA procesivni faktor 3	1
Pre-mRNA procesivni faktor 8	3
Peripherin 2	5-9,5
Retinitis pigmentosa 1	5-10



Slika 7. Postotak mutacija autosomno dominantne ne sindromne retinitis pigmentose prema Tablici 1.

b. Autosomna recesivna retinitis pigmentosa

Više od 30 gena je sadržano u autosomno recesivnoj RP. Većina njih je rijetka i prisutna je u 1% slučajeva, ali neki kao što su Retinal Pigment Epithelium 65, PDE6A, PDE6B i RP 25 prisutni su u većem postotku, 2-5%.¹³

Retinal Pigment Epithelium 65 je izomerohidrolaza važna za regeneraciju vizualnog pigmenta. Kao što je već spomenuto derivat vitamina A, 11-cis-retinal apsorpcijom svjetla izomerizira u sve-trans-retinal. Izomerizacija sve-trans-retinala u 11-cis retinal odvija se u pigmentu epitela mrežnice i katalizirana je proteinom Retinal Pigment Epithelium 65. Pronađeno je više od 60 različitih mutacija gena i to približno 2% slučajeva povezanih sa recesivnom RP i 16% povezano sa Leber kognitivnom amaurozom (LCA).

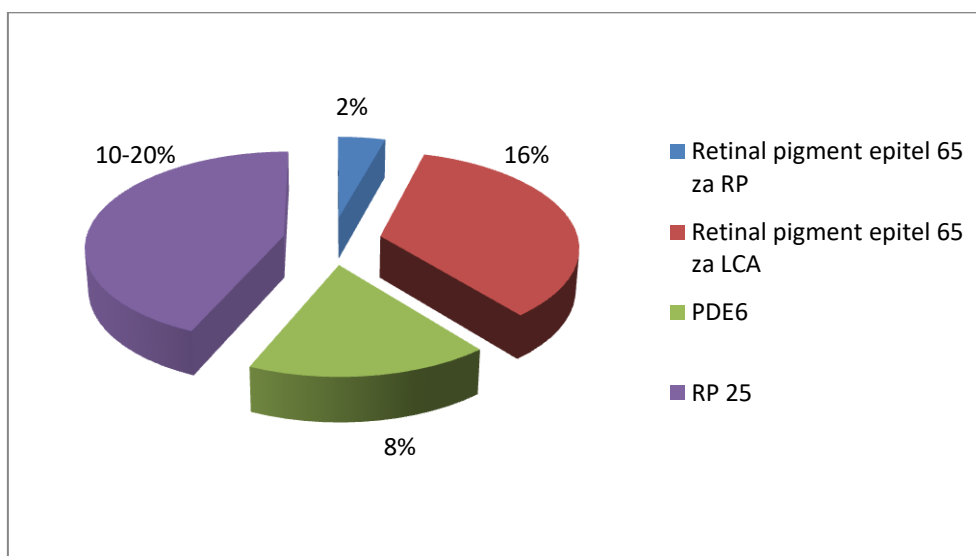
Heterotetramerne fosfodiesteraze 6 (PDE6) potrebne su za funkciju autosomnih recesivnih RP gena. Sastoje se od α , β i dvije γ podjedinice i kompleks fosfodiesteraza regulira unutarstaničnu razinu cGMP-a. Mehanizmi koji izazivaju smrt štapićastih fotoreceptora nisu jasni no otkriveno je štetno djelovanje na fotoreceptore. U PDE6 mutacijama, povišenje razine kalcija uzrokuje apoptozu štapićastih fotoreceptora.

Svaka podjedinica PDE kompleksa je prijeko potrebna za funkciju fotoreceptora, a mutacije u PDE6A i PDE6B genima drugi su najčešći otkriveni uzrok autosomno recesivne RP, dijagnosticiran u 8% slučajeva. Otkrivena je i mutacija PDE6G gena, koji kodira gama podjedinicu cGMP fosfodiesteraze, čime se potvrđuje utjecaj PDE6G u autosomno recesivnoj RP.

RP 25 mutacija lokusa identificirana je kao genetički uzrok autosomne recesivne RP u 10-20% slučajeva.¹³

Tablica 2. Postotak mutacija autosomno recesivne nesindromne retinitis pigmentose

MUTACIJA	%
Retinal pigment epitel 65 za RP	2
Retinal pigment epitel 65 za Leber kognitivnu amaurozu (LCA)	16
PDE6	8
RP 25	10-20



Slika 8. Postotak mutacija autosomno recesivne nesindromne retinitis pigmentose prema Tablici 2.

c. X-vezana retinitis pigmentosa

Takav oblik retinitis pigmentose ima oko 10-15% pacijenata. Na X kromosomu je mapirano šest lokusa odgovornih za X-vezanu RP od kojih je za sad samo dva identificirano, retinitis pigmentosa GTPazni regulator i protein retinitis pigmentosa 2. Retinitis pigmentosa GTPazni regulator lokaliziran je na vanjskom dijelu štapićastih fotoreceptora i neophodan je za njegovo pravilno djelovanje. Približno 30-60% svih slučajeva X-vezane RP posjeduje tu mutaciju. Produkt gena RP2 pokazuje sličnost sa ljudskim kofaktorom C. Mutaciju na tom genu nosi 10-15% pacijenata.¹³

2. Sindromna retinitis pigmentosa

U većini slučajeva RP je nesindromna, zasebna bolest, ali postoje i sindromni oblici. U sindromnim oblicima RP je povezana s uvjetima kao što su abetalipoproteinemija i Refsumova bolest. Usherov sindrom i Bardel-Biedlov sindrom su učestaliji sindromi.¹³

a. Usherov sindrom

Usherov sindrom je autosomna recesivna bolest karakterizirana gubitkom sluha, retinitis pigmentosom i u nekim slučajevima vestibularnom disfunkcijom. Sindrom u 50% slučajeva uzrokuje gluho-sljepoću. Slučaj Usherovog sindroma predstavlja 10-30% od svih slučajeva autosomno recesivne RP. Tri su tipa Usherovog sindroma. Tip 1 je najteži oblik i karakterizira ga teška kongenitalna gluhoća, vestibularna areflexia i pred-pubertetni oblik RP. Tip 2 pokazuje umjereni do teški gubitak sluha, odsutnost vestibularne disfunkcije i kasnije nastupanje retinalne degeneracije. Tip 3 pokazuje progresivni postlingvalni gubitak sluha, vjerojatni početak RP i varijabilni vestibularni odgovor. Trenutno nema pronađenog načina za liječenje te bolesti.¹³

b. Bardet-Biedl sindrom

Bardet-Biedl sindrom karakterizira distrofija štapića, pretilost, polidaktilija, kognitivni poremećaj, hipogonadotropni hipogonadizam muškaraca, kompleksne ženske genitourinarne malformacije i abnormalnost bubrega. Bolest bubrega glavni je uzrok smrtnosti. U dobi od 7 do 8 godina javlja se noćna sljepoća, a prosječna dob u kojoj se javlja potpuna sljepoća je 15,5 godina. Do sad je poznato 14 gena koji uzrokuju Bardet-Biedl sindrom, ali približno 20% osoba s tim sindromom nema prepoznatljivih mutacija u bilo kojem od tih 14 gena stoga je moguće da se još gena treba identificirati.¹³

2.3.2. Leber kongenitalna amauroza

Leber kongenitalna amauroza (LCA) je grupa heterogenetskih nasljednih bolesti koje rezultiraju ranim gubitkom vida. Među genima s mutacijama koje uzrokuju LCA nalaze se *Lrat* i *Rpe65* koji kodiraju enzime retinoidnog ciklusa, lecitin-retinol aciltransferaza i protein Retinal Pigment Epithelium 65 (veličine 65 kDa). Bolest uzrokovana defektima u tim genima nasljeđuje se na autosomno recesivan način. U odsustvu bilo kojeg enzima, 11-cis retinal se ne može regenerirati što uzrokuje prisutnost samo opsina u vanjskom dijelu štapićastih fotoreceptora. Kao takve, štapićaste stanice su nefunkcionalne i dolazi do postupene degeneracije mrežnice.⁸

11-cis retinal je derivat vitamina A zbog čega će nedostatak vitamina A smanjiti razinu 11-cis retinala dostupnog za formiranje rodopsina. Smanjenje razine vitamina A u prehrani vodit će do povećanja razine opsina, smanjenja osjetljivosti fotoreceptorskih stanica, noćne sljepoće i degeneracije mrežnice. Degeneracija mrežnice uzrokovana nedostatkom vitamina A napreduje znatno brže od degeneracije uzrokovane mutacijom gena.

Povećana razina opsina uzrokovana nedostatkom vitamina A ili mutacijom u genima može biti štetna za receptorske stanice. Budući da spontana aktivacija rodopsina smanjuje osjetljivost fotoreceptorskih stanica, konstitutivno aktivni opsin desenzibilizira fotoreceptorske stanice. Desenzibilizacija i smrt fotoreceptorskih stanica promatranih u uvjetima koji eliminiraju 11-cis retinal u mrežnici mogu biti izravna posljedica konstitutivne aktivnosti u apoproteinu opsinu.

Niska razina konstitutivno aktivnog opsina dovoljna je za izazivanje odgovora u fotoreceptorskim stanicama. Konstitutivna aktivnost opsina u fotoreceptorskim ćelijama rezultat je monofosforilacije do 20% receptora pomoću rodopsin-kinaze. Taj način fosforilacije razlikuje se od fosforilacije rodopsina izazvane svjetlom koja rezultira fosforilacijom više aminokiselina u receptoru. Monofosforilacija opsina nije dovoljna za stvaranje veze s arestinom već je konstitutivno aktivan opsin meta za translokaciju arestina u vanjski dio štapićastih fotoreceptora. Za razliku od svjetlosne aktivacije rodopsina, konstitutivno aktivan opsin nije meta za translokaciju transducina iz vanjskog u unutarnji dio štapićastih fotoreceptora. Rodopsin je u mraku zarobljen u inaktivnom stanju zbog prisutnosti 11-cis retinala u kromofornom veznom džepu. Kako je opsin oslobođen kromofora, struktura je manje ograničena. Nije poznato je li konstitutivno aktivan opsin potječe od aktivne konformacije koja je slična metarodopsinu II, stanju koje nastaje svjetlosnom aktivacijom

rodopsina. Konformacija slična metarodopsinu II može nastati u kiselim uvjetima ili u kristalima koje formira receptor otopljen u deterdžentu koji imitira prirodno lipidno okruženje (eng. *detergent-solubilized receptor*). To je moguće zato što molekule deterdženta okružuju kromoforni vezni džep. U fiziološkim uvjetima neutralnog pH i u lipidnom dvosloju struktura nije slična onoj u metarodopsinu II.⁸

2.3.3. Kongenitalna noćna sljepoća

Kongenitalna noćna sljepoća (CNB) je bolest mrežnice također povezana s mutacijom rodopsina. To je poremećaj vida koji utječe na vidljivost pri slabijem osvjetljenju ili mraku dok je vid u uvjetima s više svjetla normalan. Za razliku od RP pronađene su samo tri mutacije koje je izazivaju.^{8,10,13,14}

Dvije od mutacija pronađene su u drugoj transmembranskoj zavojnici rodopsina na Gly-90 i Thr-94. Treća mutacija locirana je na sedmoj transmembranskoj zavojnici rodopsina u blizini mjesta vezanja mrežnice na Lys-296.

Mutacija na Gly-90 predstavlja jedinstvenu mutaciju u kojoj supstitucija s različitim aminokiselinama uzrokuje različite bolesti. Supstitucija s hidrofobnim Val rezultira stalnom aktivnošću receptora i uzrokuje RP dok supstitucija s nabijenim Asp uzrokuje noćnu sljepoću. Zamjena Gly s nabijenim Asp ostatkom čini preturbaciju u kromofornom veznom džepu. Pacijenti s tom mutacijom imaju trajan gubitak osjetljivosti štapićastih fotoreceptora, sličan onoj koju proizvodi kontinuirana pozadinska svjetlost. Predloženo je da mutirani rodopsin stimulira kaskadnu transdukciju stvarajući pozadinsku svjetlost i svjetlosnu adaptaciju. Poznato je da je Asp u mutiranom obliku dovoljno blizu da preturbira solni most koji se formira u divljem tipu rodopsina između Glu-113 i Lys-296 na koji se kromofor veže. Pacijenti s tom mutacijom nemaju mogućnost oporavka senzitivnosti čak i nakon duge prilagodbe na tamu. Jedna aminokiselinska mutacija u rodopsinskoj sekvenci dovoljna je za aktivaciju spontane kaskadne transdukcije samim rodopsinom što dovodi do kongenitalne noćne sljepoće. Većina pacijenata ima normalnu količinu rodopsina u mrežnici i strukturno očuvane fotoreceptore usprkos velikom gubitku funkcije štapićastih fotoreceptora. S druge strane, manji broj pacijenata pokazuje tipičan degenerativni uzorak RP kod kojeg gubitak štapićastih fotoreceptora dovodi do smrti fotoreceptora i potpune sljepoće.

U svim slučajevima dolazi do pomaka λ_{\max} što ukazuje na promjenu elektrostatike protonirane Schiffove baze na Lys-296 koja je nastala uslijed prekida ionske interakcije između Glu-113 i Lys-296. Mutant Ala292Gly pokazuje λ_{\max} sličan onome u divljem tipu receptora. Zamjena u mutantu rezultira nabijenim Glu-292 ostatkom koji je predviđen kao zamjena Glu-113 kao protuion za protoniranu Schiffovu bazu na Lys-296. Konstitutivna aktivnost u tami svih mutanata može biti temelj patologije u CNB.^{8,10,13,14}

§ 3. LITERATURNI IZVORI

1. <https://www.coo.hr/leksikon.html> (datum pristupanja 1. kolovoza 2017.)
2. <http://www.optometrija.net/anatomija-oka/anatomija-oka/> (datum pristupanja 20. kolovoza 2017.)
3. I. Ivanišić, *Oko kao optički instrument*, Završni rad, Odsjek za fiziku, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, 2015. str. 6-11.
4. J. M. Berg, J. L. Tymoczko, L. Stryer, *Biokemija*, Školska knjiga, Zagreb, 2013, str. 931-936.
5. X. E. Zhou, K. Melcher, H. E. Xu, Structure and activation of rhodopsin, *Acta Pharmacologica Sinica* **33** (2012) 291-299.
6. https://images.nature.com/full/nature-assets/nsmb/journal/v7/n9/images/nsb0900_710_I1.gif (datum pristupa 31. srpnja 2017)
7. <http://oregonstate.edu/instruct/bb451/451material/lectures/sensorysystemsoutline.html> (datum pristupanja 20. kolovoza 2017.)
8. P. Shin-Hyun Park, Constitutively active rhodopsin and retinal disease, *Adv Pharmacol* **70** (2014) 1-36.
9. D. Latek, A. Modzelewska, B. Trzaskowski, K. Palczewski, S. Filipek, G protein-coupled receptors-recent advances, *Acta Biochim Pol.* **54** (2012) 515-529.
10. P. Garriga, J. Manyosa, The eye photoreceptor protein rhodopsin. Structural implications for retinal disease, *FEBS Letters* **528** (2002) 17-22
11. J. Hwa, P. Garriga, X. Liu, H. G. Khorana, Structure and function in rhodopsin: Packing of the helices in the transmembrane domain and folding to a tertiary structure in the intradiscal domain and coupled, *Proc Natl Acad Sci U S A* **94** (20) (1997) 10571-10576.
12. S. P. Daiger, L. S. Sullivan, S. J. Bowne, Genes and mutations causing retinitis pigmentosa, *Clinical Genetics* **84** (2013) 132-141.
13. S. Ferrari, E. Di Iorio, V. Barbaro, D. Ponzin, F. S. Sorrentino, F. Parmeggiani, Retinitis pigmentosa: Genes and disease mechanisms, *Curr Genomics* **12** (4) (2011) 238-249.
14. A. M. Dizhoor, M. L. Woodruff, E. V. Olshevskaya, M.C. Cilluffo, M. C. Cornwall, P. A. Sieving, G. L. Fain, Night blindness and the mechanism of constitutive signaling of mutant G90D rhodopsin, *J Neurosci.* **28** (2008) 11662-11672.

