

Приступа Л.Н., Кмыта В.В., Савченко О.В. Ген глюкокортикоидного рецептора: структура, полиморфизм и клинические ассоциации / Л.Н. Приступа, В.В. Кмыта, О.В. Савченко // Georgian Medical News. – 2013 – 6 (219) . – P. 53-57

УДК:612.017:577.218:616-021

ГЕН ГЛЮКОКОРТИКОИДНОГО РЕЦЕПТОРА: СТРУКТУРА, ПОЛИМОРФИЗМ И КЛИНИЧЕСКИЕ АССОЦИАЦИИ

Приступа Л.Н., Кмыта В.В., Савченко О.В.

Сумский государственный университет, медицинский институт,
кафедра внутренней медицины, Сумы, Украина

Структура гена. Ген глюкокортикоидного рецептора (GR) человека (ядерный рецептор, подсемейство 3, группа С, член 1 h-GR/NR3C1) представлен единственной копией, которая находится в локусе 5q31.3 (длинное плечо 5-ой хромосомы, 3-й участок, 1-я полоса, 3-я субполоса). Длина гена составляет 157581 пар оснований. Ген состоит из девяти экзонов, кодирующих последовательность из 777 аминокислотных остатков [4,10]. Экспрессия гена NR3C1 находится под контролем нескольких альтернативных первых экзонов, между которыми в интроне локализованы семь тканеспецифических промоторов, которые через различные механизмы контролируют экспрессию гена в органах и тканях [5]. Метилирование альтернативных экзонов и промоторов осуществляется через эпигенетический механизм регуляции активности гена. Вероятно, что активность различных промоторов влияет на выбор механизма сплайсинга, что приводит к образованию различных изоформ GR [25].

Изоформы GR. Известно четыре изоформы рецептора - GR- α , GR- β , GR- δ и GR- γ , которые отличаются С-терминальным участком:

α -изоформа - функциональный рецептор, кодируемый экзонами 2-9 α и представлен рядом более коротких субизоформ, в которых отсутствуют некоторые аминокислоты на С-конце, что не влияет на связывание с гормоном, но модифицирует процессы транслокации активированных рецепторов в ядро;

β -изоформа, которая является результатом альтернативного сплайсинга 9 β -экзона вместо 9 α , не имеет глюкокортикоид-связывающего домена и соответственно не способна связывать глюкокортикоиды (ГКС), количество мРНК GR- β составляет до 1% от уровня GR- α ;

γ -изоформа описана в литературе относительно недавно, причем отмечено, что она формируется в результате альтернативного сплайсинга интрона между 3-м и 4-м экзонами.

Известно, что эта модификация вызывает снижение транскрипционной активности рецептора на 48%. GR- γ имеет высокую экспрессию в различных тканях, его доля составляет 3,8-8,7% в общей популяции GR [20]. Другие исследователи считают, что GR- γ является частью GR- α , GR- β , GR- δ ;

GR- δ -изоформа кодируется экзонами 2-7 и несколькими парами оснований интронной области. Соответственно данная изоформа не способна присоединять ГКС. GR- δ -транскрипты насчитывают до 10-20% от общей мРНК GR [3,4,20]. Итак, единственная активная форма рецептора - это α -изоформа, а другие изоформы являются посттранскрипционными модификациями гена h-GR/NR3C1 без активного потенциала. Установлено, что β -изоформа не играет роли в регуляции глюкокортикоидной чувствительности [12], а в исследованиях DeRijk R.H. et al. (2002) β -изоформа была ассоциирована с низкой чувствительностью к ГКС, с иммунной системой и рядом заболеваний [8]. Более низкая чувствительность нейтрофилов в сравнении с Т-лимфоцитами к ГКС-опосредованному апоптозу, очевидно, обусловлена повышенной экспрессией GR- β в этих клетках [24], хотя некоторыми исследователями это оспаривается [7].

Полиморфизм гена GR. Согласно данным Национального института здоровья США, известно 2571 полиморфизмов гена GR (NR3C1) по типу «замены единичного нуклеотида» (single nucleotide polymorphism, SNP). Среди них лишь 161 имеет частоту выявления минорного аллеля выше 10%, 127 - выше 1%, а также существует 42 миссенс-мутации [4]. Среди миссенс-полиморфизмов наибольшее клиническое значение имеют полиморфизмы, которые касаются трансактивационного и лиганд-связывающего доменов и приводят к замедлению транслокации активированного рецептора, снижению аффинности к гормону, нестабильности рецептора и снижению трансактивационной активности. Некоторые из них нарушают структуру белка, приводят к развитию семейных генерализованных форм глюкокортикоидной резистентности, основными проявлениями которой являются высокие уровни кортизола и АКТГ в плазме крови, что ассоциирует с высокими уровнями минералокортикоидов и половых стероидов [16]. Большинство миссенсных полиморфизмов имеют очень низкую частоту в общей популяции [6]. Описаны несколько полиморфизмов в гене, кодирующем GR, связанных с изменением чувствительности к ГКС, а также - с антропометрическими и метаболическими параметрами [9,28,29] (рис. 1). Наиболее распространенными и изученными являются полиморфизмы N363S, VcII, ER22/23EK, которые локализованы во 2-м экзоне (трансактивационном домене) и 2-м интроне преимущественно в лиганд-связывающем домене, и TthIII.

Полиморфизм N363S (rs6195) связан с повышенной чувствительностью к ГКС, увеличением секреции инсулина в ответ на введение дексаметазона, тенденцией к снижению

минеральной плотности костной ткани и увеличением ИМТ [28], хотя другие исследования не подтвердили никаких ассоциаций с ИМТ.

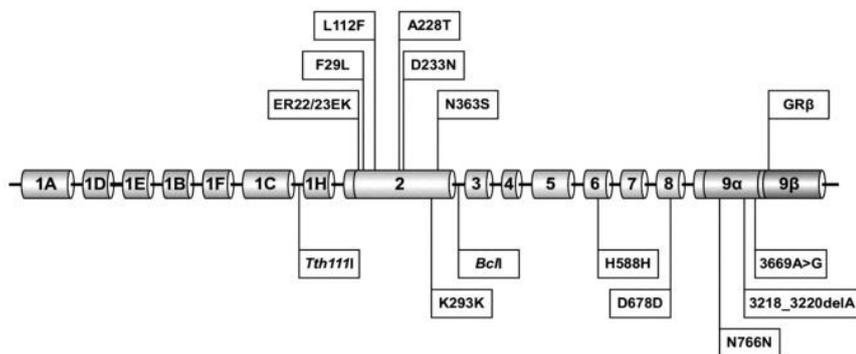


Рис. 1. Полиморфизмы гена глюкокортикоидного рецептора [18].

BclI (NR3C1, rs41423247) полиморфизм образуется в результате замены цитозина на гуанин в 647-м положении во 2-м интроне гена GR. Полиморфизм *Bcl*-1 (C> G) в промоторе гена h-GR/NR3C1 ассоциированный с чувствительностью к стероидам, поскольку повышает ответ клетки на ГКС [15,17,27], рассеянным склерозом, гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системой, изменениями обмена веществ - повышением липопротеидов низкой плотности (ЛПНП), триглицеридов, индексом массы тела (ИМТ), риском заболеваний сердечно-сосудистой системы [8], атерогенезом [26], артериальной гипертензией [17,30], ревматоидным артритом [2], активностью воспаления [23], бронхиальной астмой [1,19]. У лиц среднего возраста аллель G полиморфизма *BclI* был связан с абдоминальным ожирением, в то время как в старшем возрасте - с более низким ИМТ, обусловленным снижением мышечной массы [28,29].

Полиморфизм ER22/23EK (rs6190) состоит из двух взаимосвязанных однонуклеотидных мутаций в кодонах 22 и 23, из которых второй - результат мутации - замены аргинина лизином. В отличие от других полиморфизмов, был связан с относительной резистентностью к ГКС, низкими уровнями общего холестерина, ЛПНП и высокой чувствительностью к инсулину, низким уровнем С-реактивного белка и значительно лучшей выживаемостью в течение 4-летнего наблюдения [28,29]. У носителей ER22/23EK в старшем возрасте был ниже риск возникновения деменции, а у лиц молодого возраста установлено различия в телостроении. Мужчины носители ER22/23EK были выше, сильнее и имели больше мышечной массы, а женщины имели тенденцию к меньшей окружности талии и бедер, низкому ИМТ [28,29].

Полиморфизм *TthIII* (rs10052957) локализован в области промотора гена GR и локализован в транскрипте в позиции -13-6284, связан с ER22/23EK полиморфизмом, нормальным метаболическим профилем и с относительной устойчивостью к ГКС [28,29].

Таким образом, данные полиморфизмы гена GR могут влиять на вариабельность чувствительности к ГКС, а также связаны с антропометрическими параметрами, метаболическими расстройствами и с активностью воспаления (рис. 2).



Рис. 2. Схема N-концевой части гена глюкокортикоидного рецептора и ассоциации полиморфизмов ER22/23EK, N363S, Vcl-1 и клинических проявлений.

Резистентность к ГКС, роль полиморфизма гена GR. Резистентность к ГКС может быть либо генерализованной (например, семейная резистентность к ГКС) или локализованной (например, БА). Резистентность к ГКС на молекулярном уровне происходит в результате многих механизмов, которые изменяют функцию GR в клетках. Поэтому причиной слабого ответа на препараты этой группы может быть снижение экспрессии GR, ухудшение их способности связывать ДНК или повышенная экспрессия транскрипционных факторов [22]. Развитие резистентности к ГКС представляет собой сложный механизм. По последним данным уделяется значительное внимание роли генного полиморфизма, генетической изменчивости в GR и транскрипционных факторах. Во многих случаях причиной резистентности к стероидам являются мутации или полиморфизмы в гене GR [4], которые могут препятствовать формированию комплексов GR/ГКС, снижать транскрипцию и вызывать трансрепрессию (угнетение) генов, кодирующих белки, синтезированные в рамках клеточного ответа на ГКС [15].

Клинические исследования позволяют выдвинуть гипотезу о причинно-следственной связи между наличием олигонуклеотидных полиморфизмов в промоторе гена GR с развитием резистентности к ГКС [17,27], регуляцией гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы, гиперинсулинемией, ожирением, метаболическими расстройствами, заболеваниями сердечно-сосудистой системы, злокачественными новообразованиями крови [8,17,21,26,30]. В исследовании van Rossum E.F.C. et al. (2004)

проведен анализ взаимосвязи ER22/23ЕК, N363S, Vcl-1 и TthIII полиморфизмов с чувствительностью к ГКС с использованием дексаметазонового теста. Установлено, что N363S и VclII полиморфизмы были связаны с гиперчувствительностью к ГКС, полиморфизм ER22/23ЕК - с относительной устойчивостью, а полиморфизм TthIII не имел никакой связи. У носителей полиморфизма ER22/23ЕК и TthIII установлено ассоциацию резистентности к ГКС и благоприятного метаболического профиля (уровни инсулина, холестерина, ЛПНП). Учитывая результаты дексаметазонового теста у носителей данных полиморфизмов, очевидно, что дексаметазоновый тест с 0,25 мг является наиболее точным для выявления гиперчувствительности к ГКС, в то время как тест с 1 мг дексаметазона может быть более показанным для выявления относительной устойчивости к ГКС [28].

Известно, что в клинической практике эффекты лечения ГКС значительно различаются между пациентами: некоторые очень хорошо реагируют на терапию ГКС, но имеют серьезные побочные эффекты, в то время как другие нуждаются в их назначения в очень высоких дозах, чтобы достичь минимального клинического эффекта, и не страдают от побочных эффектов. Вполне вероятно, что эти полиморфизмы в какой-то степени ответственны за изменчивость ответа на терапевтические дозы ГКС. Поэтому после проведения соответствующих дополнительных исследований для выявления вариантов гена GR с целью определения необходимой дозы ГКС с учетом генетически детерминированной чувствительности, которая будет терапевтически эффективной и не будет вызывать побочных эффектов с учетом способа их введения.

В процессе эволюции происходили мутации, вероятно, которые имели позитивное влияние и постепенно становились все более частыми среди населения. Так, вариант ER22/23ЕК у мужчин был связан с большей мышечной массой и силой, а N363S и VclII - с накоплением жира и большей выживаемостью в условиях дефицита питания. Очевидно, что полиморфизм VclII возник давно, так как частота аллелей в нормальной популяции очень высокая. Тем не менее, в настоящее время продовольственного изобилия, роста влияния психологических стрессов и недостаточной физической активности, N363S и VclII полиморфизмы оказались в невыгодном положении, поскольку повышенная чувствительность к ГКС, накопление висцерального жира являются факторами риска развития атеросклероза, сердечно-сосудистой патологии. Это подтверждено высоким риском развития ишемической болезни сердца и ожирения у носителей N363S и VclII [14,23]. Таким образом, N363S, VclII и ER22/23ЕК полиморфизмы гена GR, но не полиморфизм TthIII, связаны с изменением чувствительности к ГКС и с различными фенотипическими признаками, что объясняет генетическую детерминированность в телосложении и метаболическом статусе [28].

Изучение клинических ассоциаций полиморфизмов имеет ряд ограничений. В частности, когда исследования проводятся в относительно небольших популяциях, увеличивается риск того, что наблюдаемые ассоциации основаны на совпадении. Общая частота полиморфизма зависит от этнических групп. Результаты, полученные в одной популяции, не могут быть применены к другой. Так, частота полиморфизма N363S в одной популяции составляет 7,4% [14], а в двух других - не найдена вообще [11,13]. Влияние полиморфизмов может отличаться между расами в связи с различными комбинациями полиморфизмов отдельных генов, что создает трудности интерпретации результатов в неоднородных популяциях. В подобных этнических группах ассоциации с полиморфизмом гена GR меняются, что может быть вызвано неоднородностью популяции, экологическими и социально-экономическими факторами, а также - различием между поколениями. В целом ассоциации с измененной чувствительностью к ГКС могут способствовать лучшему пониманию изменений в регуляции ГГНС у здоровых людей на основании изучения генетической детерминированности.

Представленные полиморфизмы гена GR могут влиять на возникновение сердечно-сосудистых заболеваний, в частности атеросклероза. Известно, что некоторые люди доживают до глубокой старости, хотя имеют очень высокие уровни холестерина. Это можно объяснить защитой генетическими вариантами такими как ER22/23ЕК. С другой стороны, лица, которые несут N363S или BclI полиморфизмы могут быть более подвержены риску сердечно-сосудистых заболеваний. Недавно было обнаружено, что N363S вариант связан с ишемической болезнью сердца независимо от наличия ожирения, а также с повышением общего холестерина, триглицеридов, соотношения общий холестерин/ЛПВП. И N363S, и BclI полиморфизм могут быть предикторами ожирения, метаболического синдрома. Однако хорошо известно, что экологические, алиментарные и социально-экономические факторы также являются важными факторами ожирения. Ассоциации с полиморфизмом зависят от многих дополнительных факторов: неоднородности популяции, распространенности полиморфизма, а также взаимодействия с другими полиморфизмами генов. Таким образом, остается много нерешенных вопросов относительно роли полиморфизма гена GR в возникновении заболеваний, в изменении чувствительности к ГКС с учетом местного и системного путей применения, что должно стать основанием для дальнейших исследований.

Список литературы:

1. Жданова М.В., Богданова М.А., Войтович А.Н. и др. Особенности течения бронхиальной астмы у детей с различными генотипами BCL1-полиморфизма гена глюкокортикоидного рецептора. Педиатрия 2007; 86(4): 19-24.

2. Костик М.М., Баранов Д.Н., Козырева А.А. и др. Клиническое значение ВСП-полиморфизма гена глюкокортикоидного рецептора у детей с ювенильным идиопатическим артритом. *Вопросы практической педиатрии* 2008; 3 (6): 8-11.
3. Орловский М.А. Аллельный полиморфизм рецептора глюкокортикоидных гормонов NR3C1 (GR): от молекулярной биологии к клинике. *Biopolymers and Cell* 2012; 28(5): 338-351.
4. Bray P.J., Cotton R.G. Variations of the human glucocorticoid receptor gene (NR3C1): pathological and in vitro mutations and polymorphisms. *Hum. Mutat.* 2003; 21(6): 557-568.
5. Cao-Lei L., Leija S.C., Kumsta R. et al. Transcriptional control of the human glucocorticoid receptor: identification and analysis of alternative promoter regions. *Hum. Genet.* 2011; 129(5): 533-543.
6. Chung C.C., Shimmin L., Natarajan S. et al. Glucocorticoid receptor gene variant in the 3'untranslated region is associated with multiple measures of blood pressure. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2009; 94(1): 268-276.
7. Conway-Campbell B.L., McKenna M.A., Wiles C.C. et al. Proteasome-dependent down-regulation of activated nuclear hippocampal glucocorticoid receptors determines dynamic responses to corticosterone. *Endocrinology* 2007; 148(11): 5470-5477.
8. deKloet E.R., Vreugdenhil E., Oitzl M.S. et al. Brain corticosteroid receptor balance in health and disease. *Endocr. Rev.* 1998; 19(3): 269-301.
9. DeRijk R., Schaaf M., de Kloet E. Glucocorticoid receptor variants: clinical implications. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 2002; 81:103-122.
10. Grobbee D.E., de Jong F.H., van Duyn C.M. et al. A polymorphism in the glucocorticoid receptor gene, which decreases sensitivity to glucocorticoids in vivo, is associated with low insulin and cholesterol levels. *Diabetes* 2002; 51: 3128-3134.
11. Grzanka A., Rogala B. Molecular mechanism of glucocorticoids and difficult asthma. *Allerg. Asthma Immunol.* 2000; 5: 247-252.
12. Hawkins G., Amelung P., Smith R. et al. Identification of polymorphisms in the human glucocorticoid receptor gene (NR3C1) in a multi-racial asthma case and control screening panel. *DNA Seq.* 2004; 15: 167-173.
13. Ikeda Y., Suehiro T., Shiinoki T. et al. A polymorphism in the promoter region of the glucocorticoid receptor gene is associated with its transcriptional activity. *Endocr. J.* 2001; 48: 723-726.
14. Lange P., Koper J., Brinkmann A. Natural variants of the beta-isoform of the human glucocorticoid receptor do not alter sensitivity to glucocorticoids. *Mol. Cell Endocrinol.* 1999; 153: 163-168.

15. Lei S.F., Deng F.Y., Liu X.H. et al. Polymorphisms of four bone mineral density candidate genes in Chinese populations and comparison with other populations of different ethnicity. *J Bone Miner. Metab.* 2003; 21: 34-42.
16. Lightman S.L., Conway-Campbell B.L. The crucial role of pulsatile activity of the HPA axis for continuous dynamic equilibration. *Nat. Rev. Neurosci.* 2010; 11(10): 710-718.
17. Lin R.C., Wang W.Y., Morris B.J. High penetrance, overweight, and glucocorticoid receptor variant: case-control study. *Br. Med. J.* 1999; 319: 1337-1338.
18. Maltese P., Canestrari E., Palma L. et al. High resolution melting (HRM) analysis for the detection of ER22/23EK, Bcl I, and N363S polymorphisms of the glucocorticoid receptor gene. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 2009; 113: 269-274.
19. Mendonca B.B., Leite M.V., de Castro M. et al. Female pseudohermaphroditism caused by a novel homozygous missense mutation of the GR gene. *J. Clin. Endocrinol. Metab* 2002; 87(4): 1805-1809.
20. Panarelli M., Holloway C., Fraser R. et al. Glucocorticoid receptor polymorphism, skin vasoconstriction, and other metabolic intermediate phenotypes in normal human subjects. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1998; 83: 1846-1852.
21. Panek M., Pietras T., Fabian A. et al. Effect of glucocorticoid receptor gene polymorphisms on asthma phenotypes. *Exp. Ther. Med.* 2013; 5(2): 572-580.
22. Pietras T., Panek M., Tworek D. et al. The BclI single nucleotide polymorphism of the human glucocorticoid receptor gene h-GR/NR3C1 promoter in patients with bronchial asthma: pilot study. *Mol. Biol. Rep.* 2011; 38(6): 3953-3958.
23. Rivers C., Levy A., Hancock J. et al. Insertion of an amino acid in the DNA-binding domain of the glucocorticoid receptor as a result of alternative splicing. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1999; 84(11): 4283-4286.
24. Rosmond R. The glucocorticoid receptor gene and its association to metabolic syndrome. *Obes. Res.* 2002; 10: 1078-1086.
25. Schimmer B.P., Parker K.L. Adrenocorticotrophic hormone; adrenocortical steroids and their synthetic analogs. Hardmam JG Limbird LE Gilman AG eds. *The pharmacological basis of therapeutics*, 10th ed 1996:1649-1678 McGraw-Hill New York.
26. Srivastava N., Prakash J., Lakhan R. et al. Influence of Bcl-1 gene polymorphism of glucocorticoid receptor gene (NR3C1, rs41423247) on blood pressure, glucose in Northern Indians. *Indian. J. Clin. Biochem.* 2011; 26(2): 125-130.
27. Strickland I., Kisich K., Hauk P.J. et al. High constitutive glucocorticoid receptor beta in human neutrophils enables them to reduce their spontaneous rate of cell death in response to corticosteroids. *J. Exp. Med.* 2001; 193(5): 585-593.

28. Turner J.D., Alt S.R., Cao L. et al. Transcriptional control of the glucocorticoid receptor: Cp Gislands, epigenetic sandmore. *Biochem. Pharmacol.* 2010; 80(12): 1860-1868.
29. Ukkola O., Rosmond R., Tremblay A. et al. Glucocorticoid receptor BclI variant is associated with an increased atherogenic profile in response to long-term overfeeding. *Atherosclerosis* 2001; 157: 221-224.
30. Van Rossum E., Koper J., van den Beld A. et al. Identification of the BclI polymorphism in the glucocorticoid receptor gene: association with sensitivity to glucocorticoids in vivo and body mass index. *Clin. Endocrinol.* 2003; 59: 585-592.
31. Van Rossum E., Lamberts S. Polymorphisms in the glucocorticoid receptor gene and their associations with metabolic parameters and body composition. *Recent Prog. Horm. Res.* 2004; 59: 333-357.
32. Van Rossum E.F.C., Feelders R.A., van den Beld A.W. et al. The ER22/23EK polymorphism in the glucocorticoid receptor gene is associated with better survival and low C-reactive protein levels in elderly men. *Am. J. Med.* 2004; 117:158-162.
33. Watt G.C., Harrap S.B., Foy C.J. et al. Abnormalities of glucocorticoid metabolism and the renin-angiotensin system: a four-corners approach to the identification of genetic determinants of blood pressure. *J. Hypertens* 1992; 10: 473-482.

ГЕН ГЛЮКОКОРТИКОИДНОГО РЕЦЕПТОРА: СТРУКТУРА, ПОЛИМОРФИЗМ И КЛИНИЧЕСКИЕ АССОЦИАЦИИ

Приступа Л.Н., Кмита В.В., Савченко О.В.

Сумский государственный университет, медицинский институт,
кафедра внутренней медицины, Сумы, Украина

В статье приведены современные данные о структуре гена глюкокортикоидного рецептора, его изоформах, наиболее распространенных вариантах миссенного и аллельного полиморфизмов. Проведена характеристика полиморфизмов N363S, BclI, ER22/23EK и TthIII. Проанализирована взаимосвязь данных полиморфизмов с телосложением, метаболическими изменениями, заболеваниями сердечно-сосудистой системы, а также - с чувствительностью к глюкокортикоидам (ГКС). Установлено, что N363S и BclI полиморфизмы связаны с гиперчувствительностью к ГКС и могут быть предикторами ожирения, метаболического синдрома, а полиморфизмы ER22/23EK и TthIII ассоциированы с резистентностью к ГКС и благоприятным метаболическим профилем.

Ключевые слова: ген глюкокортикоидного рецептора, полиморфизм, индекс массы тела, метаболические показатели, чувствительность к глюкокортикоидам.

GEN OF GLUCOCORTICOID RECEPTOR: STRUCTURE, POLYMORPHISM AND CLINICAL ASSOCIATIONS

Prystupa L.N., Kmyta V.V., Savchenko O.V.

Sumy State University Medical Institute, Department of Internal Medicine, Sumy, Ukraine

The article provides modern information about the structure of glucocorticoid receptor gene and its isoforms, the most common variants of missens and allelic polymorphisms. The polymorphisms N363S, BclI, ER22/23EK and TthIII were characterised. The relationship of these polymorphisms with physique and metabolic changes, cardiovascular system diseases as well as with sensitivity to glucocorticoids (GCS) was analyzed. It has been established that N363S and BclI polymorphisms are associated with hypersensitivity to corticosteroids and can be the predictors of obesity, metabolic syndrome, and polymorphisms ER22/23EK and TthIII are associated with resistance to GC and favorable metabolic profile.

Key words: glucocorticoid receptor gene, polymorphism, body mass index, metabolic parameters, sensitivity to glucocorticoids.