

Αντίσταση-υπερευαισθησία στα γλυκοκορτικοειδή

Γ. Χρούσος

Τα γλυκοκορτικοειδή ρυθμίζουν ένα πλήθος βιολογικών λειτουργιών και παίζουν σημαντικό ρόλο στη διατήρηση της ομοιόστασης ⁽¹⁾. Σε κυτταρικό επίπεδο, η δράση τους ασκείται δια μέσου μιας ενδοκυττάριας πρωτεΐνης μεγέθους 94 kDa, του υποδοχέα των γλυκοκορτικοειδών (GR), ο οποίος ανήκει στην οικογένεια των στεροειδικών/θυρεοειδικών/ρετινοϊκού οξέως πρωτεϊνικών υποδοχέων ^(2,3). Εναλλακτικό μάτισμα (ωρίμανση) (alternative splicing) του ανθρώπινου (h) GR γονιδίου στο εξόνιο 9 οδηγεί στη γένεση δύο εξαιρετικά ομόλογων ισομόρφων του υποδοχέα, που ονομάζονται α και β.

Ο υποδοχέας hGRα εκφράζεται σχεδόν σε όλους τους ιστούς και κύτταρα του ανθρώπινου σώματος, και αντιπροσωπεύει τον κλασικό υποδοχέα των γλυκοκορτικοειδών, ο οποίος δρά σαν ορμονο-εξαρτώμενος μεταγραφικός παράγοντας. Σε απουσία ορμόνης, ο hGRα εντοπίζεται κυρίως στο κυτταρόπλασμα των κυττάρων σαν μέρος ενός πολυ-πρωτεϊνικού συμπλέγματος ⁽⁴⁾. Μετά από πρόσδεση (σύνδεση) του με την ορμόνη, ο ενεργοποιημένος υποδοχέας αποχωρίζεται από το πρωτεϊνικό σύμπλεγμα και μετακινείται/μεταφέρεται στον κυτταρικό πυρήνα, όπου συνδέεται σαν ομοδιμερές με τα στοιχεία απόκρισης των γλυκοκορτικοειδών (GREs), τα οποία εντοπίζονται στις προαγωγές περιοχές (promoter regions) των γονιδίων στόχων.

Ο hGRα ρυθμίζει την έκφραση γονιδίων που αποκρίνονται στα γλυκοκορτικοειδή θετικά ή αρνητικά, ανάλογα με την αλληλουχία των GREs και το φάσμα του προαγωγού/υποκινητή (promoter context) ^(5,6). Ο υποδοχέας μπορεί επίσης να μεταβάλλει την έκφραση γονιδίων σαν μονομερές και ανεξάρτητα από τα GREs, δια μέσου φυσικής αλληλεπίδρασης με άλλους μεταγραφικούς παράγοντες, όπως η πρωτεΐνη ενεργοποίησης-1 (AP-1) και ο πυρηνικός παράγοντας-κΒ (NF-κΒ) ⁽⁷⁻⁹⁾.

Δύο περιοχές του hGRα έχουν εγγενή λειτουργία ενεργοποίησης της μεταγραφής (transcriptional activation function) (AF): η AF-1, που βρίσκεται στο αμινοτελικό άκρο του υποδοχέα και είναι μη εξαρτώμενη από τα γλυκοκορτικοειδή, και η AF-2, που βρίσκεται στο καρβοξυ-τελικό άκρο (LBD) του υποδοχέα και είναι εξαρτώμενη από τα γλυκοκορτικοειδή ^(5,6). Για την έναρξη της μεταγραφής,

ο hGRa χρησιμοποιεί τις AF-1 και AF-2 σαν επιφάνειες στις οποίες προσελκύονται παράγοντες αναδιάρθρωσης της χρωματίνης, όπως επίσης και για να αλληλεπιδράσει με γενικούς μεταγραφικούς παράγοντες (GTFs), τους συνενεργοποιητές (coactivators) ⁽¹⁰⁻¹³⁾. Πολλές οικογένειες συνενεργοποιητών των πυρηνικών υποδοχέων έχουν περιγραφεί, συμπεριλαμβανομένης της οικογένειας των p160 συνενεργοποιητών, όπως ο συνενεργοποιητής 1 των στεροειδικών υποδοχέων (steroid receptor coactivator 1) (SRC1) και η αλληλεπιδρούσα με τον υποδοχέα των γλυκοκορτικοειδών πρωτεΐνη 1 (glucocorticoid receptor-interacting protein 1) (GRIP1) ⁽¹⁰⁻¹⁴⁾. Οι p160 συνενεργοποιητές παίζουν εξαιρετικά σημαντικό ρόλο στην ενεργοποίηση της μεταγραφής γονιδίων που αποκρίνονται στα γλυκοκορτικοειδή, αλληλεπιδρώντας άμεσα και με την AF-1 και την AF-2 του hGRa ⁽¹⁵⁾.

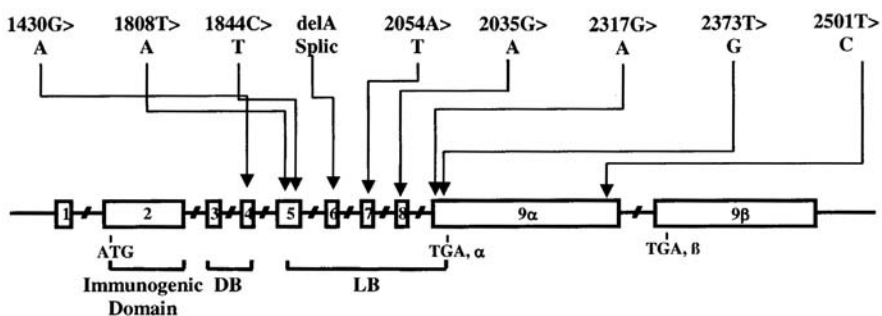
Η αντίσταση στα γλυκοκορτικοειδή είναι μια σπάνια, οικογενής ή σποραδική πάθηση, η οποία χαρακτηρίζεται από γενικευμένη ελάττωση της ευαισθησίας στα γλυκοκορτικοειδή ⁽¹⁶⁻²⁰⁾. Άτομα με τη νόσο παρουσιάζουν αντισταθμιστική αύξηση των συγκεντρώσεων της κορτιζόλης και φλοιοεπινεφριδιοτρόπου ορμόνης (ACTH) στο αίμα, (οι οποίες διατηρούν τον κερκαδικό ρυθμό και φυσιολογική απόκριση στο 'stress'), και αντίσταση του άξονα υποθαλάμου-υπόφυσης-επινεφριδίων (HPA) σε καταστολή από δεξαμεθαζόνη, αλλά όχι κλινικές εκδηλώσεις υπο- ή υπερκορτιζολαιμίας. Η υπερέκκριση ACTH οδηγεί συχνά σε αυξημένη παραγωγή στεροειδών από τα επινεφρίδια, τα οποία έχουν ανδρογόνο ή/και αλατοκορτικοειδή δράση ⁽¹⁶⁻²⁰⁾. Το κλινικό φάσμα της νόσου είναι αρκετά ευρύ, κυμαινόμενο από εντελώς ασυμπτωματικές (βιοχημικές διαταραχές μόνον) μέχρι σοβαρές περιπτώσεις υπερανδρογονισμού, καταβολής ή/και υπέρτασης, με ή χωρίς ηλεκτρολυτικές διαταραχές ⁽²¹⁻³⁰⁾.

Η μοριακή βάση της γενικευμένης αντίστασης στα γλυκοκορτικοειδή έχει αποδοθεί σε μεταλλάξεις του γονιδίου του ανθρώπινου υποδοχέα των γλυκοκορτικοειδών άλφα (hGRa), οι οποίες εξασθενούν έναν ή περισσότερους μοριακούς μηχανισμούς δράσης του υποδοχέα, μεταβάλλοντας την ευαισθησία των ιστών στα γλυκοκορτικοειδή. Απενεργοποιητικές μεταλλάξεις (inactivating mutations) στην περιοχή πρόσδεσης της ορμόνης (LBD) και του DNA (DBD), όπως και η διαγραφή (απαλειφή) 4 ζευγών βάσεων στο εξόνιο 6 του hGRa γονιδίου έχουν περιγραφεί σε περισσότερες από πέντε οικογένειες και τέσσερις σποραδικές περιπτώσεις ⁽²¹⁻³¹⁾ (Σχεδιάγραμμα 1).

Πρόσφατα, περιγράψαμε δύο καινούριες περιπτώσεις αντοχής στα γλυκοκορτικοειδή, σε ένα αγόρι ηλικίας 7 ετών, που παρουσιάστηκε με υπέρταση και υποκαλιαιμία, και σε μια γυναίκα ηλικίας 33 χρόνων, που είχε κλινικές εκδηλώσεις ενδεικτικές τόσο ευαισθησίας όσο και αντοχής στα γλυκοκορτικοειδή, και

μελετήσαμε το γονίδιο hGRα για παρουσία μεταλλάξεων που μεταβάλλουν την ενεργότητα ή/και τα προϊόντα του. Στον πρώτο ασθενή, βρήκαμε μια νέα, ετερόζυγη μετάλλαξη νουκλεοτιδίου (T→C) στη νουκλεοτιδική θέση 2209 (εξόνιο 9α) του hGRα γονιδίου, που οδηγεί σε αντικατάσταση της λευκίνης (L) από φαινυλαλανίνη (F) στη θέση αμινοξέως 737 στην έλικα 11 του καρβοξυ-τελικού άκρου της πρωτεΐνης. Στην δεύτερη ασθενή, βρήκαμε μια επίσης νέα, ετερόζυγη μετάλλαξη νουκλεοτιδίου (G→C) στη βάση 1201 (εξόνιο 3) του hGRα γονιδίου, που οδηγεί σε αντικατάσταση ασπαρτικού οξέως (D) από ιστιδίνη (H) στη θέση αμινοξέως 401 στο αμινο-τελικό άκρο της πρωτεΐνης.

Σχεδιάγραμμα 1: Θέση των μέχρι τώρα γνωστών μεταλλάξεων του hGRα γονιδίου. DBD, περιοχή πρόσδεσης DNA; LBD, καρβοξυ-τελικό άκρο.



Πολυμορφισμοί του γονιδίου του GR έχουν ταυτοποιηθεί και συσχετιστεί με αντίσταση ή υπερευαισθησία στα γλυκοκορτικοειδή και κλινικές εκδηλώσεις αντίστοιχα ελαττωμένης ή αυξημένης δράσης γλυκοκορτικοειδών, όπως αυτοανοσία ή παχυσαρκία και μεταβολικό σύνδρομο ⁽³²⁾.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Clark JK, Schrader WT, O'Malley BW. Mechanism of steroid hormones. In Williams Textbook of Endocrinology, Eds JD Wilson & DW Foster. Philadelphia: WB Saunders Co. 1992; pages 35-90.
2. Tsai MJ, O'Malley BW. Molecular mechanisms of action of steroid/thyroid receptor superfamily members. Annu Rev Biochem. 1994; 63: 451-86.
3. Kumar R, Thompson EB. The structure of the nuclear hormone receptors. Steroids. 1999; 64(5): 310-9.
4. Pratt WB. The role of heat shock proteins in regulating the function, folding, and trafficking of the glucocorticoid receptor. J Biol Chem. 1993; 268(29): 21455-8.

5. Bamberger CM, Schulte HM, Chrousos GP. Molecular determinants of glucocorticoid receptor function and tissue sensitivity to glucocorticoids. *Endocr Rev.* 1996; 17(3): 245-61.
6. Schaaf MJ, Cidlowski JA. Molecular mechanisms of glucocorticoid action and resistance. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2002; 83(1-5): 37-48.
7. Jonat C, Rahmsdorf HJ, Park KK, Cato AC, Gebel S, Ponta H, Herrlich P. Antitumor promotion and antiinflammation: down-modulation of AP-1 (Fos/Jun) activity by glucocorticoid hormone. *Cell.* 1990; 62(6): 1189-204.
8. Scheinman RI, Gualberto A, Jewell CM, Cidlowski JA, Baldwin AS Jr. Characterization of mechanisms involved in transrepression of NF-kappa B by activated glucocorticoid receptors. *Mol Cell Biol.* 1995; 15(2): 943-53.
9. De Bosscher K, Vanden Berghe W, Haegeman G. The interplay between the glucocorticoid receptor and nuclear factor-kappa B or activator protein-1: molecular mechanisms for gene repression. *Endocr Rev.* 2003; 24(4): 488-522.
10. McKenna NJ, Lanz RB, O'Malley BW. Nuclear receptor coregulators: cellular and molecular biology. *Endocr Rev.* 1999; 20(3): 321-44.
11. McKenna NJ, Xu J, Nawaz Z, Tsai SY, Tsai MJ, O'Malley BW. Nuclear receptor coactivators: multiple enzymes, multiple complexes, multiple functions. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 1999; 69: 3-12.
12. McKenna NJ, O'Malley BW. Combinatorial control of gene expression by nuclear receptors and coregulators. *Cell.* 2002; 108: 465-474.
13. Auboeuf D, Honig A, Berget SM, O'Malley BW. Coordinate regulation of transcription and splicing by steroid receptor coregulators. *Science.* 2002; 298: 416-419.
14. Hittelman AB, Burakov D, Iniguez-Lluhi JA, Freedman LP, Garabedian MJ. Differential regulation of glucocorticoid receptor transcriptional activation via AF-1-associated proteins. *EMBO J.* 1999; 18(19): 5380-8.
15. Heery DM, Kalkhoven E, Hoare S, Parker MG. A signature motif in transcriptional coactivators mediates binding to nuclear receptors. *Nature.* 1997; 387(6634): 733-6.
16. Chrousos GP, Vingerhoeds A, Brandon D, Eil C, Pugeat M, DeVroede M, Loriaux DL, Lipsett MB. Primary cortisol resistance in man. A glucocorticoid receptor-mediated disease. *J Clin Invest.* 1982; 69(6): 1261-9.
17. Chrousos GP, Detera-Wadleigh SD, Karl M. Syndromes of glucocorticoid resistance. *Ann Intern Med.* 1993; 119(11): 1113-24.
18. Kino T, Vottero A, Charmandari E, Chrousos GP. Familial/sporadic glucocorticoid resistance syndrome and hypertension. *Ann N Y Acad Sci.* 2002; 970: 101-11.
19. Kino T, De Martino MU, Charmandari E, Mirani M, Chrousos GP. Tissue glucocorticoid resistance/hypersensitivity syndromes. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2003; 85(2-5): 457-67.
20. Charmandari E, Kino T, Chrousos GP. Familial/sporadic glucocorticoid resistance: Clinical phenotype and molecular mechanisms. *Ann NY Acad Sci* 2004; 1024: 168-181.
21. Hurley DM, Accili D, Stratakis CA, Karl M, Vamvakopoulos N, Rorer E, Constantine K, Taylor SI, Chrousos GP. Point mutation causing a single amino acid substitution in the hormone-binding domain of the glucocorticoid receptor in familial glucocorticoid resistance. *J Clin Invest.* 1991; 87(2): 680-6.

22. Karl M, Lamberts SW, Detera-Wadleigh SD, Encio IJ, Stratakis CA, Hurley DM, Accili D, Chrousos GP. Familial glucocorticoid resistance caused by a splice site deletion in the human glucocorticoid receptor gene. *J Clin Endocrinol Metab.* 1993; 76(3): 683-9.
23. Karl M, Lamberts SW, Koper JW, Katz DA, Huizenga NE, Kino T, Haddad BR, Hughes MR, Chrousos GP. Cushing's disease preceded by generalized glucocorticoid resistance: clinical consequences of a novel, dominant-negative glucocorticoid receptor mutation. *Proc Assoc Am Physicians.* 1996; 108(4): 296-307.
24. Malchoff DM, Brufsky A, Reardon G, McDermott P, Javier EC, Bergh CH, Rowe D, Malchoff CD. A mutation of the glucocorticoid receptor in primary cortisol resistance. *J Clin Invest.* 1993; 91(5): 1918-25.
25. Ruiz M, Lind U, Gafvels M, Eggertsen G, Carlstedt-Duke J, Nilsson L, Holtmann M, Stierna P, Wikstrom AC, Werner S. Characterization of two novel mutations in the glucocorticoid receptor gene in patients with primary cortisol resistance. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2001; 55(3): 363-71.
26. Kino T, Stauber RH, Resau JH, Pavlakis GN, Chrousos GP. Pathologic human GR mutant has a transdominant negative effect on the wild-type GR by inhibiting its translocation into the nucleus: importance of the ligand-binding domain for intracellular GR trafficking. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001; 86(11): 5600-8.
27. Mendonca BB, Leite MV, de Castro M, Kino T, Elias LL, Bachega TA, Arnhold IJ, Chrousos GP, Latronico AC. Female pseudohermaphroditism caused by a novel homozygous missense mutation of the GR gene. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002; 87(4):1805-9.
28. Vottero A, Kino T, Combe H, Lecomte P, Chrousos GP. A novel, C-terminal dominant negative mutation of the GR causes familial glucocorticoid resistance through abnormal interactions with p160 steroid receptor coactivators. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002; 87(6): 2658-67.
29. Charmandari E, Kino T, Souvatzoglou E, Vottero A, Bhattacharyya N, Chrousos GP. Natural glucocorticoid receptor mutants causing generalized glucocorticoid resistance: molecular genotype, genetic transmission, and clinical phenotype. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004; 89(4): 1939-49.
30. Charmandari E, Raji A, Kino T, Ichijo T, Tiulpakov A, Zachman K, Chrousos GP. A Novel Point Mutation in the Ligand-Binding Domain (LBD) of the Human Glucocorticoid Receptor (hGR) Causing Generalized Glucocorticoid Resistance: The Importance of the C Terminus of hGR LBD in Conferring Transactivational Activity. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005; 90(6): 3696-705.
31. Charmandari E, Kino T, Ichijo T, Zachman K, Alatsianos A, Chrousos GP. Functional characterization of the natural human glucocorticoid receptor (hGR) mutants hGRaR477H and hGRaG679S associated with generalized glucocorticoid resistance. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006; 91(4): 1535-1543.
32. Chrousos GP, Kino T. Intracellular glucocorticoid signaling: a formerly simple system turns stochastic. *Sci STKE.* 2005; 2005(304): pe48.