

Dorota Pisarczyk-Wiza¹, Katarzyna Ziemnicka²,
Bartłomiej Budny², Dorota Zozulińska-Ziółkiewicz¹

¹Katedra i Klinika Chorób Wewnętrznych i Diabetologii, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

²Katedra i Klinika Endokrynologii, Przemiany Materii i Chorób Wewnętrznych, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Wpływ glikokortykosteroidów oraz polimorfizmów genu receptora glikokortykosteroidów na zaburzenia metabolizmu glukozy

Influence of glucocorticoids and glucocorticoid receptor gene polymorphisms on glucose metabolism

STRESZCZENIE

U ludzi glikokortykosteroidy (GS) regulują szeroki zakres funkcji fizjologicznych, w tym różnicowanie komórek, metabolizm i reakcje zapalne. Hormony te odgrywają ważną rolę w utrzymywaniu podstawowej homeostazy ustroju oraz odpowiedzi na stres. Ponadto GS stanowią jeden z najbardziej rozpowszechnionych związków terapeutycznych stosowanych w leczeniu chorób zapalnych, autoimmunologicznych i układu limfatycznego. Według klasycznego, genomowego modelu GS działają poprzez wewnątrzkomórkowy receptor glikokortykosteroidów (hGR) i bezpośrednio lub pośrednio regulują transkrypcję genów i syntezę białek odpowiedzialnych za proces zapalny. Zmiany w działaniu hGR mogą mieć istotne znaczenie dla wielu procesów biologicznych, takich jak behawioralne i fizjologiczne reakcje na stres, reakcje immunologiczne i zapalne, proces snu, a także podstawowe funkcje,

takie jak wzrost i rozmnażanie czy odpowiedź na leczenie. Glikokortykosteroidy należą do hormonów antagonistycznych w stosunku do insuliny i odgrywają istotną rolę w regulacji homeostazy metabolizmu glukozy. (Diabet. Klin. 2014; 3, 2: 69–78)

Słowa kluczowe: glikokortykosteroidy, polimorfizm genu receptora glikokortykosteroidów, metabolizm glukozy

ABSTRACT

In humans glucocorticoids (GS) regulate a broad spectrum of physiologic functions, including cell differentiation, metabolism and inflammatory responses. These hormones play an important role in the maintenance of basal and stress-related homeostasis. Furthermore, glucocorticoids represent one of the most widely used therapeutic compounds in the treatment of inflammatory, autoimmune and lymphoproliferative disorders. According to the classic genomic model GS bind to intracellular receptors (hGR) and directly or indirectly regulate gene transcription and synthesis of proteins responsible for inflammatory process. Alterations in hGR action may have important implications for many critical biological processes, such as the behavioral and physiologic responses to stress, the immune and inflammatory reaction, the process of sleep, as well as basic functions, such as growth and

Adres do korespondencji:

dr n. med. Dorota Pisarczyk-Wiza

Katedra i Klinika Chorób Wewnętrznych i Diabetologii

UM im. Karola Marcinkowskiego

Szpital im. Fr. Raszei

ul. Mickiewicza 2, 60-834 Poznań

Tel.: +48 (61) 847 45 79

e-mail: wizus@wp.pl

Diabetologia Kliniczna 2014, tom 3, nr 2, 69–78

Copyright © 2014 Via Medica

Nadesłano: 08.12.2013

Przyjęto do druku: 04.02.2014

reproduction, or response to treatment. Glucocorticoids belong to the antagonistic hormones compared to insulin and play an important role in maintaining the homeostasis of glucose metabolism. (*Diabet. Klin.* 2014; 3, 2: 69–78)

Key words: glucocorticoids, glucocorticoid receptor gene polymorphism, glucose metabolism

Wstęp

Glukoza jest podstawowym węglowodanem wykorzystywanym w metabolizmie człowieka. Stanowi ona uniwersalny materiał energetyczny dla wszystkich komórek organizmu ludzkiego. Dzięki licznym mechanizmom regulującym stężenie tego cukru we krwi u osób zdrowych utrzymywane jest na mniej więcej stałym poziomie, w zakresie 60–140 mg/dl (3,3–7,8 mmol/l). Do wielu czynników, które wpływają na homeostazę metabolizmu glukozy, zalicza się: przebieg trawienia węglowodanów i ich wchłaniania z przewodu pokarmowego, transport glukozy do tkanek, wątrobową glukoneogenezę i glikogenezę, wychwyt glukozy przez mięśnie, wydzielanie insuliny przez komórki β wysp trzustkowych i efektywność jej działania w tkankach docelowych oraz wpływ hormonów o działaniu antagonistycznym do insuliny. Do hormonów, które mają przeciwstawne działanie do insuliny i mogą mieć istotny udział w rozwoju zaburzeń metabolizmu glukozy, należą glikokortykosteroidy (GS), glukagon, adrenalina i noradrenalina, hormon wzrostu oraz hormony tarczycy.

Glikokortykosteroidy należą do grupy hormonów steroidowych. U ludzi regulują szerokie spektrum reakcji fizjologicznych niezbędnych do życia i odgrywają ważną rolę w utrzymaniu podstawowej homeostazy organizmu człowieka, jak również jego prawidłowej odpowiedzi na stres fizyczny i psychiczny. Hormony te regulują przebieg kluczowych procesów fizjologicznych, takich jak wzrost, reprodukcja, reakcje immunologiczne i zapalne. Odgrywają istotną rolę w metabolizmie węglowodanów, tłuszczów i białek oraz regulują gospodarkę wodno-elektrolitową. Wpływają na funkcjonowanie centralnego układu nerwowego oraz układu sercowo-naczyniowego, odpowiadają za rozmieszczenie tkanki tłuszczowej oraz metabolizm kości. Wśród innych działań GS należy podkreślić ich wpływ na zmiany nastroju i zachowania, modyfikację pobierania pokarmu, temperaturę ciała, percepcję bólową i funkcje neuroendokrynne. Syntetyczne glikokortykosteroidy są jednymi z najczęściej stosowanych leków, zalecanych w chorobach zapalnych, autoimmunologicznych i limfoproliferacyjnych [1].

Glikokortykosteroidy, zarówno endogenne, jak i egzogenne, jako hormony antagonistyczne w stosunku do insuliny wywierają istotny wpływ na metabolizm glukozy. W ilościach fizjologicznych są niezbędne do życia, jednak ich nadmiar indukuje zjawiska patologiczne m.in. silne działanie diabetogenne, a u osób z wcześniej rozpoznaną cukrzycą może powodować istotne pogorszenie wyrównania metabolicznego.

Glikokortykosteroidy — regulacja sekrecji i transport

Glikokortykosteroidy syntetyzowane są z cholesterolu głównie w warstwie pasmowatej kory nadnerczy. Regulacja ich wydzielania odbywa się za pośrednictwem podwójnego ujemnego sprzężenia zwrotnego, pod kontrolą osi podwzgórze–przysadka–nadnercza (HPA, *hypothalamo-pituitary-adrenal axis*) [2, 3]. Podwzgórze, pełniąc funkcję sensora zmian w środowisku wewnętrznym i zewnętrznym, odbiera oraz integruje neuronalną i humoralną informację z wielu źródeł. W konsekwencji odpowiada na bodźce fizyczne lub emocjonalne oraz czynniki okołodobowe, aktywując szlak prowadzący do syntezy GS. Dochodzi do wydzielania dwóch neurohormonów podwzgórzowych: hormonu uwalniającego kortykotropinę, kortykoliberyny (CRH, *corticotropin-releasing hormone*) oraz wazopresyny argininowej (AVP, *arginine vasopressin*). Neurohormony te, poprzez wrotne naczynia przysadkowe, przechodzą z podwzgórza do przedniego płata przysadki i stymulują wytwarzanie peptydu proopiomelanokortyny, z którego odcinany jest hormon adrenokortykotropowy (ACTH) przedostający się do krwi [3]. Oddziałuje on na korę nadnerczy i inicjuje syntezę kortyzolu/kortykosteronu. Synteza GS przebiega z udziałem enzymów z rodziny cytochromu P-450. Czynnikiem limitującym biosyntezę hormonów steroidowych jest szybkość przechodzenia cholesterolu przez błonę mitochondrialną. Za transport cholesterolu do mitochondriów odpowiedzialne jest białko StAR (*steroidogenic acute regulatory protein*), którego ekspresję indukuje ACTH, działając przez receptor melanokortyny [2]. Bezpośrednio po syntezie GS są uwalniane do krążenia w wyniku dyfuzji [4, 5]. Oś podwzgórze–przysadka–nadnercza podlega regulacji zwrotnej przez GS. Hamują one uwalnianie CRH i AVP z podwzgórza oraz ACTH z przedniego płata przysadki. Zmiany stężenia kortyzolu w osoczu ściśle odpowiadają zmianom stężenia ACTH [5].

W warunkach fizjologicznych sekrecja kortyzolu odbywa się w rytmie dobowym [1, 3, 6, 7]. Wzrasta nocą, około 3.–5. godziny snu, a szczyt wydzielania przypada na pierwszą godzinę po przebudzeniu. Następnie stężenie kortyzolu spada. W ciągu dnia występuje jeszcze kilka pulsów wydzielniczych, które

związane są z posiłkiem lub wysiłkiem fizycznym. Najniższe stężenie kortyzolu w ciągu doby obserwuje się w późnych godzinach wieczornych i w pierwszych godzinach snu. Rytm dobowy wydzielania kortyzolu podlega dużej zmienności międzyosobniczej, gdyż może na niego wpływać wiele czynników, takich jak różne pory i czas snu, zmienne pory posiłków, wpływ oświetlenia, stres fizyczny i psychiczny oraz niektóre choroby. Oprócz rytmu dobowego na wydzielanie GS istotny wpływ ma sytuacja stresowa [8–11]. Przedłużające się narażenie organizmu na działanie stresu może prowadzić nawet do zniesienia dobowego rytmu wydzielania glikokortykosteroidów. Wśród czynników stresowych wpływających na wydzielanie GS wymienia się hipoglikemię, urazy, zabiegi operacyjne, zakażenia, stany gorączkowe, ból, wysiłek fizyczny, różne stany emocjonalne. W mechanizmie odpowiedzi organizmu na działanie bodźca stresowego uczestniczą także inne hormony oraz układ współczulny. Glikokortykosteroidy transportowane są w osoczu w postaci związanej z białkami. W 70–90% jest to globulina wiążąca kortykosteroidy (CBG, *corticosteroid-binding globulin*), zwana także transkortyną, w 6–20% albuminy osocza. Glikokortykosteroidy w połączeniu z białkami są biologicznie nieaktywne. Frakcję czynną biologicznie (3–10%) stanowią hormony niezwiązane [1, 7].

Mechanizm działania glikokortykosteroidów

Glikokortykosteroidy oddziałują na komórki organizmu człowieka za pośrednictwem swoistego gatunkowo receptora glikokortykosteroidów (hGR, *human glucocorticosteroid receptor*) znajdującego się w cytoplazmie, w jądrze komórkowym, jak również, co wykazano w 2004 r., w błonie komórkowej [12–14]. Po raz pierwszy sekwencja aminokwasowa hGR została opisana przez Hollenberga w 1985 r. [15]. Ludzki receptor glikokortykosteroidów należy do nadrodziny jądrowych receptorów hormonalnych, do której zalicza się również receptory dla hormonów tarczycy, witaminy D i kwasu retinowego. Jest on w dużym stopniu homologiczny z receptorami mineralokortykosteroidów, progesteronu i androgenów [12, 16]. Ludzki receptor glikokortykosteroidów jest białkiem, w którego budowie wyróżnia się 3 główne obszary, tzw. domeny [12, 17, 18]:

- zlokalizowany dystalnie region A/B (aminokwasy 1–420), zwany również domeną immunogenną lub N-terminalną (NTD, *N-terminal domain*). Jest to obszar odpowiedzialny za immunogenność. Znajduje się tu pierwsze miejsce związane z aktywacją transkrypcji docelowych genów (AF-1, *activational function domain-1*);

- region środkowy C (aminokwasy 421–488), zwany również domeną wiążącą DNA (DBD, *DNA-binding domain*). Region ten odpowiada za wiązanie receptora z DNA — w miejscu odpowiedzi na hormon (GRE, *glucocorticosteroid response element*) w regionie promotorowym docelowych genów. Domena ta składa się z 2 motywów cynkowych, tzw. palców cynkowych (ekson 3 i 4), które pomagają w wiązaniu DNA oraz mają wpływ na trzeciorzędową strukturę cząsteczki receptora. Na pierwszym palcu cynkowym znajduje się miejsce konieczne do przyłączania czynników transkrypcyjnych, drugi natomiast jest niezbędny dla prawidłowej dimeryzacji oraz aktywacji transkrypcji zależnej od wiązania z GRE. Pomiędzy DBD a kolejną, C-końcową domeną znajduje się elastyczny region zawiasowy zwany też regionem D. Jest on integralną częścią DBD i bierze udział w jej dimeryzacji;
- region E, czyli obszar C-terminalny (aminokwasy 528–777) odpowiada za wiązanie ligandu (LBD, *ligand-binding domain*) oraz białek szoku termicznego. W obszarze tym znajduje się druga domena związana z aktywacją transkrypcji AF2 (zależną od przyłączania się ligandu do receptora).

W formie nieaktywnej receptor glikokortykosteroidów tworzy w cytoplazmie heterodimerski kompleks z tzw. białkami opiekuńczymi (m.in. białka szoku termicznego: hsp90, hsp70, hsp40). Klasyczny model działania GS na komórkę poprzez hGR może mieć charakter bezpośredni lub pośredni i uwzględnia ich wpływ na transkrypcję i translację genów kodujących mediatory procesu zapalnego. W pierwszym przypadku po wnikięciu hormonu do cytoplazmy następuje jego wiązanie z receptorem, zmiana konformacji przestrzennej, w konsekwencji odłączenie białek opiekuńczych i przeniesienie kompleksu hGR-GS do jądra komórkowego. W jądrze komórkowym zachodzi dimeryzacja, gdyż dopiero jako homodimer kompleks hGR-GS oddziałuje z miejscem odpowiedzi na glikokortykosteroidy (GRE) znajdującym się w sekwencji DNA, w regionie promotorowym docelowego genu. Kompleks hGR-GS spełnia funkcję czynnika transkrypcyjnego lub też oddziałuje z innymi czynnikami transkrypcyjnymi, stymulując lub hamując transkrypcję poszczególnych genów. Droga pośrednia polega na wnikięciu hormonu do cytoplazmy i połączeniu z receptorem w sposób podobny jak w mechanizmie bezpośrednim, a następnie dochodzi do bezpośredniej interakcji kompleksu hGR-GS z innymi czynnikami transkrypcyjnymi. Działanie GS w modelu genomowym ma stosunkowo wolny początek. Pierwsze efekty pojawiają się najwcześniej po kilkudziesięciu minutach i utrzymują się do momentu eliminacji hormonu

z krążenia. Glikokortykosteroidy oprócz działania przez swoisty receptor mogą również aktywować receptor wiążący mineralokortykoidy [19, 20]. Opisano również inny, niegenomowy mechanizmu działania GS, w którym zasadniczą rolę odgrywają interakcje hormonów z receptorami GS zlokalizowanymi w cytoplazmie, ale przede wszystkim w błonie komórkowej. W mechanizmie niegenomowym GS uruchamiają system wtórnych przekaźników, takich jak jony wapnia, IP₃, diacylglicerol, cAMP i cGMP. Wzrost aktywności określonego wtórnego przekaźnika indukuje zależne od niego szlaki sygnałowe kinaz aktywowanych mitogenami (MAPK, *mitogen-activated protein kinases*), w tym głównie białko ERK1/2 i p38, oraz szlaki kinazy białkowej A (PKA, *protein kinase A*) i C (PKC, *protein kinase C*), kinaz tyrozynowych (np. Src) i lipidowych (np. trifosforanu inozytolu — PI3K), a także szlaki sygnałowe związane z białkiem G i kanałami jonowymi. Konsekwencją tego jest modyfikacja przebiegu określonych procesów komórkowych. Udowodniono także przekaz sygnału bez udziału receptora dla GS. Efekty nietranskrypcyjnych oddziaływań GS ujawniają się szybko, od kilkunastu sekund do kilkunastu minut [14, 21, 22].

Glikokortykosteroidy silnie oddziałują na metabolizm węglowodanów, począwszy od etapu wchłaniania glukozy z przewodu pokarmowego. Jelitowa absorpcja glukozy do komórek nabłonkowych jelita cienkiego zachodzi na drodze klasycznej, czyli Na⁺-zależnego transportu aktywnego przy udziale sodowego białka transportującego glukozę 1 (SGLT-1, *sodium-glucose transport proteins*), oraz tzw. szlakiem koniuszkowego GLUT 2 (GLUT 2, *glucose transporter 2*). Wykazano, że aktywność tego szlaku jest ściśle regulowana przez wiele czynników, takich jak: długo- i krótkoterminowa podaż cukru w diecie, hormony inkretynowe, stan energii komórkowej i aktywacja AMP kinazy (AMPK, *AMP-activated protein kinase*), stres, niektóre leki przeciwhiperglykemiczne, jak metformina i inhibitory α -glikozydazy. Regulacja ta odbywa się poprzez sieć wewnątrzkomórkowych szlaków sygnałowych [23]. Wykazano na modelu zwierzęcym, że zarówno w warunkach stresu, jak i po podaniu hormonów steroidowych dochodzi do zahamowania GLUT 2 w enterocytach i jelitowego wchłaniania glukozy w jelicie cienkim [24].

Glikokortykosteroidy działają antagonistycznie do insuliny, a efekt ten ujawnia się szczególnie w takich sytuacjach klinicznych, jak głód czy stres, zwłaszcza u osób z towarzyszącym względnym lub bezwzględnym niedoborem insuliny. Glikokortykosteroidy działają synergistycznie z innymi hormonami. Wzmacniają i przedłużają działanie m.in. katecholamin, glukagonu i hormonu wzrostu, wpływając na wiele kluczowych procesów metabolicznych. Powodują wzrost stęże-

nia glukozy we krwi poprzez nasilenie wątrobowej glukoneogenezy, stymulując aktywność enzymów glukozo-6-fosfatazy oraz karboksykinazy fosfoenolopirogronianowej. Pośrednio natomiast, poprzez potencjalizację działania glukagonu, nasilają glikogenolizę. Pod wpływem GS zwiększa się uwalnianie substratów dla glukoneogenezy z tkanek obwodowych: aminokwasów z mięśni, glicerolu z tkanki tłuszczowej. Glikokortykosteroidy zmniejszają wrażliwość receptorów insulinowych, hamują obwodowy wychwyt glukozy przez mięśnie i adipocyty. Powodują spadek zarówno wątrobowej, jak i obwodowej wrażliwości tkanek na działanie insuliny [1, 2, 25, 26]. W badaniach eksperymentalnych wykazano, że GS mogą również zmniejszać sprawność sekrecyjną komórek beta wysp trzustki [27, 28]. Przewlekły nadmiar GS może doprowadzić do rozwoju stanu przedcukrzycowego lub cukrzycy. Na zaburzenia gospodarki węglowodanowej narażeni są chorzy z zespołem Cushinga. Cukrzyca występuje u około 20–50%, a nieprawidłowa tolerancja glukozy u 30–60% osób z zespołem Cushinga [29]. Również populacje pacjentów z przewlekłymi stanami chorobowymi, takimi jak choroby układu oddechowego, choroby reumatyczne czy limoproliferacyjne, wymagające przewlekłej terapii steroidami, należą do grupy ryzyka rozwoju zaburzeń gospodarki węglowodanowej. Planując terapię GS w tych grupach chorych, należy pamiętać o dużym ryzyku rozwoju cukrzycy posteroi-dowej, najczęstszej postaci cukrzycy polekowej. U osób z wcześniej rozpoznanymi zaburzeniami metabolizmu glukozy leczenie GS doprowadza najczęściej do pogorszenia wyrównania metabolicznego. W cukrzycy typu 1 z powodu braku sekrecji endogennej insuliny nawet fizjologiczne dobowe wahania stężenia kortyzolu we krwi mogą mieć istotny wpływ na kontrolę glikemii.

Efekt glukoneogeniczny hormonów steroidowych wiąże się ściśle z ich wpływem na metabolizm białek i lipidów, a zjawisko to jest szczególnie widoczne w warunkach niedoboru insuliny i stanowi jeden z kluczowych mechanizmów patogenetycznych rozwoju cukrzycowej kwasicy ketonowej. Glikokortykosteroidy odpowiadają za katabolizm białek w tkankach pozawątrobowych, szczególnie w tkance mięśniowej i kostnej. Może to prowadzić do ujemnego bilansu azotowego, a w konsekwencji do zaników mięśniowych i osteoporozy. W tkance tłuszczowej GS wykazują działanie lipolityczne i powodują uwolnienie wolnych kwasów tłuszczowych, ich spalanie w wątrobie i produkcję ciał ketonowych. Glikokortykosteroidy stymulują gromadzenie się tłuszczu trzewnego. Wykazano, że kortyzol wpływa na preadipocyty, przyspieszając ich różnicowanie do adipocytów. Reguluje także ekspresję genów dojrzałych komórek tłuszczowych, sprzyjając ich

przerostowi i akumulacji lipidów [25, 30, 31]. Nadmiar oraz nierównomierne odkładanie tkanki tłuszczowej w okolicach twarzy, karku, tułowia oraz brzucha jest charakterystycznym objawem nadmiaru GS. Z kolei u osób z otyłością brzuszną stężenie kortyzolu we krwi może być prawidłowe lub wręcz niskie. Wynika to prawdopodobnie z nadmiernej produkcji kortyzolu w obrębie samej tkanki tłuszczowej lub ze zwiększonej jej wrażliwości na GS [32].

W przebiegu cukrzycy typu 2, która związana jest z występowaniem otyłości oraz innymi wykładnikami zespołu metabolicznego, obserwuje się stany czynnościowej hiperkortyzolemii, określanej jako pseudo- lub rzekomy zespół Cushinga. Hiperkortyzolemia w tych stanach tłumaczona jest nadmiernym pobudzeniem komórek podwzgórza wydzielających kortykotropinę [33]. Biochemicznymi wykładnikami czynnościowej hiperkortyzolemii spotykanymi w otyłości oraz cukrzycy typu 2 są: zwiększenie ilości wolnego kortyzolu wydalanego z moczem, zaburzenia dobowego rytmu wydzielania kortyzolu, brak obniżenia stężenia kortyzolu w teście hamowania małą dawką (1 lub 2 mg) deksametazonu [34].

Ostatnio podkreśla się, że główne efekty metaboliczne GS mogą być związane z wpływem tych hormonów na aktywność kinazy białkowej aktywowanej przez AMP (AMPK) [35, 36]. Enzym ten uważa się za sensor i regulator równowagi energetycznej ustroju zarówno na poziomie komórki, jak i całego organizmu [37, 38]. Kinaza białkowa aktywowana przez AMP odgrywa istotną rolę m.in. w homeostazie glukozy i lipidów. Wykazano, w warunkach eksperymentu, że GS hamują aktywność AMPK w obrębie tkanki tłuszczowej i serca, stymulując ją w wątrobie i podwzgórzu. Wpływ GS na zmiany aktywności AMPK może stanowić nowy mechanizm, który mógłby wyjaśnić wzrost apetytu, odkładanie się lipidów w tkance tłuszczowej trzewnej i wątrobie, a także zmiany w sercu charakterystyczne dla nadmiaru tych hormonów.

Gen ludzkiego receptora glikokortykosteroidów (NR3C1)

Gen ludzkiego receptora glikokortykosteroidów (NR3C1) znajduje się na długim ramieniu chromosomu 5 (5q31). Składa się z 9 eksonów. W wyniku alternatywnego składowania genu (*splicing*) powstają różne transkrypty mRNA, a w konsekwencji różne izoformy białka receptorowego. Do tego procesu dochodzi w trakcie obróbki potranskrypcyjnej i dzięki temu z jednego genu może powstać kilka różnych cząsteczek mRNA, co warunkuje następczą zmienność białek. Wyróżnia się 5 podtypów hGR: hGR α , hGR β , hGR γ , hGR-A i hGR-P, różniących się aktywnością biologiczną [39, 40]. Naj-

większe znacznie mają izoformy α i β , które mają identyczny układ aminokwasowy do pozycji 727, a różnią się między sobą odcinkiem C-końcowym: hGR α posiada 50, a hGR β jedynie 15 dodatkowych aminokwasów. Formą dominującą jest hGR α , który stanowi aż 70% całkowitej ekspresji receptora w komórce [41]. Podtyp hGR β oddziałuje jak inhibitor aktywności hGR α , a jego ekspresja stanowi, według różnych autorów, od 0,2 do 1% całkowitej ekspresji receptora w komórce [39, 40].

Różnorodność interakcji hGR wynika zatem zarówno z różnorodności izoform białka receptorowego, jak i z obecności polimorfizmów i mutacji występujących w genie NR3C1 [42, 43]. Genetycznie uwarunkowana zmienność funkcji receptora GS, będąca wynikiem zmian w genie hGR, związana jest z odmiennym osobniczo wpływem hormonów steroidowych na wiele procesów biologicznych czy odpowiedź na GS w tkankach. Z analizy populacji osób zdrowych wynika, że 2,3% populacji wykazuje oporność, a 6,6% „nadwrażliwość” na GS [44]. Przykładem różnej reakcji na GS może być oporność na leczenie steroidami i brak odpowiedzi klinicznej na tę terapię u części chorych z ostrą białaczką limfoblastyczną [45]. Podkreśla się również, że klinicznie zdefiniowana oporność na GS jest ważnym czynnikiem prognostycznym w leczeniu ostrych białaczek limfoblastycznych u dzieci [46]. Wykazano, że niektóre warianty sekwencyjne w genie NR3C1 mają związek z przebiegiem, rozwojem powikłań, jak również odpowiedzią na leczenie wielu chorób, takich jak astma oskrzelowa, choroby limfoproliferacyjne, stwardnienie rozsiane czy choroby metaboliczne [47–50]. W astmie oskrzelowej występują dwa główne typy oporności na GS. Typ 2 obejmuje uogólnioną, pierwotną oporność na kortyzol, która dotyczy wszystkich tkanek. Wiąże się z mutacją genu dla receptora GS lub genów modulujących jego funkcję. Istnieją przekonujące dowody naukowe, że polimorfizm genu NR3C1 wpływa na działanie, wrażliwość i odpowiedź na GS w tej jednostce chorobowej [44]. Analiza molekularnych działań GS może pozwolić zarówno na lepszą diagnostykę, jak i coraz skuteczniejszą terapię wielu chorób.

Polimorfizm genu receptora glikokortykosteroidów NR3C1

Polimorfizm w genetyce z definicji oznacza występowanie niepatologicznych zmian w DNA, które obserwuje się u co najmniej 1% populacji. Wśród najczęściej występujących w genomie ludzkim należy wyróżnić: polimorfizmy pojedynczo nukleotydomowe (SNP, *single nucleotide polymorphisms*) lub tandemowe (VNTR, *variable number tandem repeats*), tj. *loci* mikrosatelitarne (powtórzenia motywu 1–6 nukleotydomowego) oraz minisatelitarne (powtórzenia motywu 7–100 nu-

kleotyduowego). Większość z dotychczas opisanych polimorfizmów genu receptora glikokortykosteroidów nie wpływa na funkcjonowanie receptora. Istnieją jednak polimorfizmy, które warunkują różną wrażliwość hGR na hormony steroidowe. Polimorfizmy N363S oraz BclI powodują zwiększenie wrażliwości receptora na GS, natomiast polimorfizmy ER22/E23K i A3669G wiążą się ze wzrostem oporności receptora na działanie tych hormonów [51, 52]. Polimorfizmy N363S oraz BclI związane są z niekorzystnym profilem metabolicznym, natomiast polimorfizmy ER22/E23K i A3669G wydają się przed nim chronić. Brak aktualnie doniesień na temat wpływu obecności określonego rodzaju polimorfizmu genu receptora GS na homeostazę glukozy, rozwój czy przebieg cukrzycy. W kilku badaniach oceniano populację chorych z cukrzycą typu 2. Wykazano większą częstość nadwagi oraz wyższy wskaźnik masy ciała (BMI, *body mass index*) u mężczyzn, nosicieli niekorzystnego metabolicznie polimorfizmu N363S [53]. Z kolei w badaniu 1228 osób ze stanem przedcukrzycowym lub cukrzycą typu 2 zidentyfikowano 540 heterozygotycznych (CG) oraz 169 homozygotycznych (GG) nosicieli polimorfizmu Bc1I. Homozygoty GG charakteryzowały się istotnie wyższym BMI, większym obwodem talii oraz bioder w stosunku do osób niebędących nosicielami (homozygoty CC). Wykazano u nich również większą całkowitą zawartość tłuszczu w organizmie oraz wyższy wskaźnik insulinooporności (HOMA2-IR, *homeostatic model assessment to measure insulin resistance*) w porównaniu z heterozygotami i osobami niebędącymi nosicielami [54]. Różna wrażliwość hGR na GS może mieć zatem istotny, promujący lub hamujący wpływ na występowanie czynników ryzyka cukrzycy, takich jak otyłość, hiperinsulinemia, insulinooporność, dyslipidemia czy nadciśnienie tętnicze [51, 55].

Polimorfizm N363S (rs 56149945) genu receptora glikokortykosteroidów NR3C1

Polimorfizm N363S genu hGR zlokalizowany jest w pozycji 1220 (AAT>AGT) kodującego DNA (cDNA) i polega na zamianie adeniny na guaninę w kodonie 363 w eksonie 2 genu receptora GS. Powoduje to zamianę asparaginy na serynę w białku receptorowym. Domena N-końcowa receptora GS moduluje aktywację transkrypcyjną. Obecność seryny w tym miejscu prowadzi do zwiększonej fosforylacji białka, zwiększonej aktywności receptora i wzrostu wrażliwości receptora na GS [53, 56, 57]. Częstość występowania tego polimorfizmu jest odmienna w różnych populacjach. W populacji europejskiej wynosi według różnych autorów od 2,3 do 9,3% [58], w populacji południowoazjatyckiej 0,7% [59], a u Australijczyków 27% [60]. W populacji polskiej wariant G polimorfizmu N363S został znaleziony u 5,7% [61, 62].

W 1998 r. Huizenga i wsp. stwierdzili występowanie polimorfizmu N363S u 6% (14 heterozygot) badanej populacji holenderskiej. Jego obecność wiązała się z większą wrażliwością na GS oraz wzrostem stężenia insuliny po podaniu 0,25 mg deksametazonu. Heterozygotycznych nosicieli tego polimorfizmu charakteryzowało większe BMI, tendencja do mniejszej gęstości kości (BMD, *bone mineral density*) w odcinku lędźwiowym kręgosłupa [52]. Związek pomiędzy obecnością polimorfizmu N363S a predyspozycją do wyższego BMI potwierdzili Lin i wsp. w badaniach populacji Australijczyków brytyjskiego pochodzenia [63]. Badacze ci wykazali również obecność allelu N363S u 15% chorych z rozpoznaną chorobą niedokrwienną serca (CAD, *coronary artery disease*) w porównaniu z 4% w populacji bez choroby wieńcowej. Polimorfizm ten występował częściej w populacji z niestabilną postacią choroby wieńcowej (45%) niż u osób z postacią stabilną (29%). Wykazano również silny związek pomiędzy obecnością allelu N363S u osób z CAD a BMI. Polimorfizm ten stwierdzono istotnie częściej u badanych z CAD i BMI > 30 kg/m² (19%) niż u osób z CAD i BMI 25–29,9 kg/m² (13%). Osoby z obecnością polimorfizmu N363S charakteryzowały się podwyższonym stężeniem cholesterolu całkowitego, triglicerydów oraz wskaźnika cholesterol całkowity/HDL [64]. W populacji osób powyżej 85. roku życia również wykazano związek pomiędzy występowaniem omawianego polimorfizmu a podwyższonym stężeniem cholesterolu frakcji LDL i stężeniem triglicerydów. Nie stwierdzono jednak żadnej zależności z chorobami układu sercowo-naczyniowego [65]. W badaniach włoskich 279 pacjentów z otyłością olbrzymią (BMI 459 ± 0,9 kg/m²) częstość występowania allelu N363S wynosiła 2,3% (13 heterozygot). Populacja ta charakteryzowała się istotnie wyższym BMI ($p < 0,04$), wyższą podstawową przemianą materii ($p < 0,03$) oraz większym spożyciem pokarmu ($p < 0,01$). Parametry te były silnie związane z płcią żeńską. U 27% badanej populacji stwierdzono obecność drugiego polimorfizmu BclI. Osoby będące nosicielami obydwu polimorfizmów charakteryzowały się wyższymi wartościami ciśnienia skurczowego i rozkurczowego oraz znacznie wyższym stężeniem cholesterolu całkowitego oraz cholesterolu frakcji LDL [66]. W badaniach brytyjskich wykazano obecność polimorfizmu N363S u 3% badanej populacji i stwierdzono, że jego obecność miała istotny związek z wyższymi wartościami wskaźnika talia/biodra (WHR, *waist-hip ratio*) tylko dla osób płci męskiej [67]. Z kolei badania przeprowadzone w populacji otyłych Duńczyków i Szwedów nie potwierdziły związku pomiędzy BMI, WHR oraz przyrostem masy ciała i wrażliwością na GS a występowaniem allelu N363S [68, 70].

Polimorfizm Bcll (rs 41423247) genu receptora glikokortykosteroidów NR3C1

Kolejnym polimorfizmem genu hGR związanym z niekorzystnym profilem metabolicznym jest polimorfizm Bcll (polimorfizm wykrywany przy zastosowaniu enzymu Bcll metodą restrykcji fragmentów polimorficznych RFLP). Polimorfizm ten polega na zamianie cytozyny na guaninę w intronie B, w odległości 646 nukleotydów od miejsca donorowego dla eksonu 2 [55].

W 1992 r. Weaver i wsp. przeprowadzili pierwsze badanie wskazujące na możliwość związku pomiędzy obecnością tego polimorfizmu a składowymi zespołu metabolicznego. Badaną populację stanowiła grupa 56 ekstremalnie otyłych i 43 kobiet z prawidłową masą ciała. U homozygotycznych nosicieli fragmentu 4,5 kb (w analizie RFLP fragment o tej długości świadczy o obecności allelu G w pierwszym intronie) wykazano wyższe stężenia insuliny na czczo oraz wyższe wartości wskaźnika HOMA. Nie stwierdzono natomiast związku z występowaniem otyłości [70]. Clement i wsp., przeprowadzając analizę 80 otyłych francuskich rodzin, opisali związek tego polimorfizmu z tendencją do otyłości [71]. Z kolei w populacji 284 Szwedów w średnim wieku polimorfizm Bcll korelował z wyższym BMI, WHR, większym stężeniem leptyny oraz wyższymi wartościami ciśnienia skurczowego [72]. W badaniu *Quebec Family Study* obecność fragmentu 4,5 kb wiązała się ze zwiększoną zawartością tłuszczu trzewnego zarówno u mężczyzn, jak i u kobiet, niezależnie od całkowitej ilości tkanki tłuszczowej [73]. W prospektywnej 12-letniej obserwacji tej populacji wykazano, że heterozygotyczni nosiciele allelu 4,5 kb, przede wszystkim kobiety, wykazują z wiekiem większą predyspozycję do gromadzenia tkanki tłuszczowej trzewnej [74]. Również Ukkola i wsp. opisali związek pomiędzy obecnością tego polimorfizmu a zwiększoną zawartością tłuszczu trzewnego [75]. W badaniach 24 mężczyzn, stanowiących 12 par bliźniąt jednojajowych, stwierdzono, że w odpowiedzi na przekarmienie homozygoty wariantu 2,3 kb (allel C) wykazują największy wzrost masy ciała, zwiększoną ilość tłuszczu trzewnego oraz wysokie stężenie cholesterolu w surowicy [76]. Prospektywna 5-letnia analiza populacji 163 niespokrewnionych szwedzkich mężczyzn urodzonych w 1944 r. wykazała znaczny przyrost masy ciała, wzrost BMI, otyłości brzusznej, stężenia glukozy i insuliny na czczo wśród homozygot dla rzadkich alleli Bcll [77]. W wielu badaniach stwierdzono obecność allelu 4,5 kb u osób genetycznie predysponowanych do nadciśnienia tętniczego [70, 73, 75, 78]. Podkreśla się występowanie różnic w związkach pomiędzy polimorfizmem Bcll a składowymi zespołu metabolicznego w populacji kobiet i mężczyzn, jak również w różnych grupach wiekowych [79, 80].

Polimorfizm ER22/E23K (rs6189/6190) genu receptora glikokortykosteroidów NR3C1

Do grupy wariantów sekwencyjnych związanych z opornością hGR na GS należy polimorfizm ER22/23EK. Składa się on z dwóch mutacji punktowych w kodonie 22 i 23 w 2 eksonie genu hGR, w pozycjach 198 i 200 cDNA. Ze względu na ich bliskie położenie obydwa polimorfizmy wykazują sprzężenie genetyczne i uważane są zazwyczaj za jeden złożony polimorfizm. Pierwsza mutacja, w kodonie 22 (z GAG do GAA), jest to zmiana synonimiczna (tzw. cicha mutacja), gdyż substytucja nukleotydu nie powoduje zmiany kodowanego aminokwasu. W wyniku drugiej mutacji w kodonie 23 (AGG na AAG) dochodzi do zmiany argininy (R) na lizynę (K). Oba polimorfizmy wykazują sprzężenie genetyczne (tj. dziedziczone są razem), dlatego też w bardziej złożonej analizie haplotypów dla populacji obserwuje się obecność allelu złożonego z obu zmian (rs6189/rs6190) i oznaczane jako ER i EK (gdzie E oznacza zmianę synonimiczną). Polimorfizm ER22/23EK wiąże się z względną opornością na GS. Występowanie tego zjawiska, jak również wynikające z niego różnice fenotypowe zostały opisane przez van Rossum i wsp. w 2002 r. [56]. Wśród 202 zdrowych osobników wykazano obecność 18 (8,9%) heterozygotycznych nosicieli. W starszej grupie wiekowej (67–82 lat) częstość występowania tego polimorfizmu była istotnie wyższa (12,9% vs. 4,9%, $p < 0,05$) w porównaniu z osobami młodszymi (53–67 lat). Po podaniu 1 mg deksametazonu w grupie ER22/23EK stwierdzono istotnie mniejsze hamowanie wydzielania kortyzolu, co sugeruje oporność na GS. Wśród nosicieli tego polimorfizmu wykazano również istotnie niższe stężenia insuliny na czczo oraz wartości wskaźnika HOMA-IR, jak również niższe stężenie cholesterolu frakcji LDL. W kolejnym badaniu tych autorów, analizującym populację młodych osób pomiędzy 13. a 36. rokiem życia, stwierdzono obecność 27 heterozygot ER22/23EK (8,0%). Męscy nosiciele tego polimorfizmu byli wyżsi, charakteryzowali się większą ilością beztłuszczowej masy ciała, większym obwodem uda i większą siłą mięśniową kończyn górnych i dolnych. U kobiet nosicieli polimorfizmu ER22/23EK wykazano tendencję do mniejszej masy ciała, mniejszego obwodu talii i bioder, bez różnic w BMI. Podkreśla się, że efekt fenotypowy obecności tego polimorfizmu związany jest z płcią, wpływa na korzystną kompozycję składu masy ciała u młodych dorosłych, a także wiąże się z większą siłą mięśniową u mężczyzn [81]. Prospektywna 4-letnia obserwacja populacji 402 mężczyzn w wieku około 78 lat wykazała w grupie nosicieli polimorfizmu ER22/23EK istotnie niższe stężenie białka C-reaktywnego (CRP, *C-reactive*

protein) oraz lepsze parametry lipidowe. Po 4 latach w grupie niebędącej nosicielami zmarło 73 (19%) z 381 osób, a żaden z 21 nosicieli ER22/23EK nie umarł ($p = 0,03$) [82]. W kolejnych badaniach stwierdzono, że obecność allelu ER22/23EK wiązała się z mniejszym ryzykiem demencji oraz wolniejszą utratą funkcji poznawczych [83]. Jednak obserwacji tych nie potwierdzono w badaniu Leiden (*85-plus Study*). W populacji 563 osób powyżej 85. roku życia nie wykazano wpływu badanych polimorfizmów na ryzyko chorób układu krążenia i śmiertelność. U nosicieli allelu ER22/23EK stwierdzono wręcz podwyższone wartości HbA_{1c} oraz CRP. Jedynym istotnym związkiem między genotypem a fenotypem badanych osobników był wyższy wzrost stwierdzony u mężczyzn z obecnością polimorfizmu ER22/23EK [84]. Bertalan ocenił populację 300 kobiet i występujący u nich przyrost masy ciała w okresie ciąży. Zaobserwowano znacznie niższy przyrost masy ciała, a tym samym mniejszy wzrost BMI, w okresie ciąży u heterozygotycznych nosicielek polimorfizmu ER22/23EK. Wyniki te potwierdzają ochronną rolę polimorfizmu ER22/23EK wobec nadmiernego przyrostu masy ciała i nadmiernego wzrostu BMI podczas niepowikłanej ciąży [85].

Polimorfizm A3669G (rs6198) genu receptora glikokortykosteroidów NR3C1

Polimorfizm A3669G genu hGR jest zlokalizowany w regionie terminalnym 3' eksonu 9 β , nieulegającym translacji (3'UTR, 3' untranslated region). Jego obecność prawdopodobnie wiąże się ze zwiększoną ekspresją wariantu β receptora GR, który hamuje aktywność transkrypcyjną wariantu GR α . Polimorfizm A3669G powoduje wzrost stabilności mRNA dla formy β tego receptora, zmniejszenie stosunku GR α /GR β , a w efekcie zwiększoną ekspresję receptora β i oporność na glikokortykosteroidy.

Syed i wsp. oceniali występowanie polimorfizmu A3669G i jego związek z otyłością i cechami zespołu metabolicznego w populacji 322 osób rasy kaukaskiej oraz 262 osób pochodzenia południowoazjatyckiego. Wykazano, że obecność allelu 3669G wiąże się z mniejszą częstością centralnej otyłości u Europejki i z korzystniejszym profilem lipidowym u Europejczyków. Dane te sugerują, że obecność allelu A3669G może osłabiać niepożądany wpływ GS na rozmieszczenie tkanki tłuszczowej i metabolizm lipidów, choć jego penetracja może się być odmienna w różnych grupach etnicznych [86]. Trementino i wsp. wykazali, że polimorfizm A3669G genu hGR odgrywa rolę ochronną u pacjentów z zespołem Cushinga. Pomimo utrzymującego się w tej grupie podwyższonego stężenia kortyzolu w godzinach porannych oraz nocnych obserwowano

u nosicieli tego polimorfizmu mniejsze ryzyko rozwoju cukrzycy [87]. Jednakże van Akker i wsp. wykazali, że obecność allelu A3669G pomimo korzystnego profilu lipidowego u mężczyzn i składu ciała u kobiet wiąże się z podwyższonym ryzykiem chorób układu krążenia [88].

Efekt kumulacyjny współistnienia kilku polimorfizmów

Zaprezentowane rezultaty badań przedstawiają genotypowanie poszczególnych polimorfizmów w kontekście określonych parametrów klinicznych pacjentów. Większość badań opiera się na analizie wybranego polimorfizmu, którego wpływ korelowano z fenotypem w oderwaniu od szerszego kontekstu genetycznego, tj. bez informacji o współistnieniu pozostałych polimorfizmów. W przypadku szerzej zakrojonych analiz genetycznych (np. równoczesne genotypowanie kilku SNP lub sekwencjonowanie całego genu) istnieje możliwość badania haplotypów, tj. alleli złożonych z kilku określonych wariantów genetycznych, a tym samym oszacowania modulującego (zarówno kumulacyjnego, jak i znoszącego) efektu na fenotyp kilkunastu markerów polimorficznych. Ponadto analiza haplotypów daje możliwość oszacowania, które z polimorfizmów znajdują się w tzw. równowadze populacyjnej (niezależna, losowa segregacja) lub wykazują sprzężenie i są preferencyjnie przekazywane razem w postaci określonego haplotypu, co określa się terminem nierównowagi sprzężeń (LD, *linkage disequilibrium*). Współwystępowanie dwóch polimorfizmów na jednym allelu wykazano w stosunku do polimorfizmu ER22/23EK. Wobec współistnienia na jednym allelu zarówno wariantów wykazujących pożądany, jak i niekorzystny efekt fenotypowy należy zadać pytanie, w jakim stopniu polimorfizmy SNP wpływają na konformację białka receptora, tym samym modulując jego funkcjonalność.

Podsumowanie

Glikokortykosteroidy wpływają w istotny sposób na homeostazę glukozy. Ich oddziaływanie na tkanki docelowe uwarunkowane jest budową i funkcją receptora GS. Różne polimorfizmy genu receptora GS determinują wrażliwość osobniczą na glikokortykosteroidy. Istnieją dowody wskazujące, że polimorfizmy genu receptora glikokortykosteroidów zwiększające wrażliwość na działanie GS odgrywają istotną rolę w etiopatogenezie otyłości trzewnej, nadciśnienia tętniczego, dyslipidemii i hiperglikemii.

PIŚMIENNICTWO

1. Greenspan F.S., Gardner D.G., Lewiński A. Endokrynologia ogólna i kliniczna. Wydawnictwo, Czelej, Lublin 2004.

2. Vegiopoulos A., Herzig S. Glucocorticoids, metabolism and metabolic diseases. *Mol. Cell. Endocrinol.* 2007; 275: 43–61.
3. Nader N., Chrousos G.P., Kino T. Interactions of the circadian CLOCK system and the HPA axis. *Trends Endocrinol. Metab.* 2010; 21: 277–286.
4. Buckingham J.C. Glucocorticoids: exemplars of multi-tasking. *Br. J. Pharmacol.* 2006; 147 (supl. 1): S258–S268.
5. De Kloet E.R., Fitzsimons C.P., Datson N.A., Meijer O.C., Vreugdenhil E. Glucocorticoid signaling and stress-related limbic susceptibility pathway: about receptors, transcription machinery and microRNA. *Brain Res.* 2009; 1293: 129–141.
6. Anderson Elverson C., Wilson M.E. Cortisol: circadian rhythm and response to a stressor. *Newborn & Infant Nursing Reviews* 2005; 5: 159–169.
7. Levine A., Zagoory-Sharon O., Feldman R., Lewis J.G., Weller A. Measuring cortisol in human psychobiological studies. *Physiol. Behav.* 2007; 90: 43–53.
8. Nagalski A., Kiersztan A. Fiziologia i molekularny mechanizm działania glikokortykoidów. *Postepy Hig. Med. Dosw.* 2010; 64: 133–145.
9. Munck A., Guyre P.M., Holbrook N.J. Physiological functions of glucocorticoids in stress and their relation to pharmacological actions. *Endocr. Rev.* 1984; 5: 25–44.
10. Munck A., Náray-Fejes-Tóth A. Glucocorticoids and stress: permissive and suppressive actions. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1994; 746: 115–130.
11. Sapolsky R.M., Romero L.M., Munck A. How Do Glucocorticoids Influence Stress Responses? Integrating Permissive, Suppressive, Stimulatory, and Preparative Actions, *Endocrine Reviews* 2000; 21: 55–89.
12. Nicolaides N.C., Galata Z., Kino T., Chrousos G.P., Charmandari E. The human glucocorticoid receptor: molecular basis of biologic function. *Steroids* 2010; 75: 1–12.
13. Bartholome B., Spies C.M., Gaber T. i wsp. Membrane glucocorticoid receptors (mGCR) are expressed in normal peripheral blood mononuclear cells and upregulated following in vitro stimulation and in patients with rheumatoid arthritis. *FASEB J.* 2004; 18: 70–80.
14. Grzanka A., Jarzab J. Niegenomowy mechanizm działania glikokortykosteroidów. *Pneumonol. Alergol. Pol.* 2009; 77: 387–393.
15. Hollenberg S.M., Weinberger C., Ong E.S. i wsp. Primary structure and expression of a functional human receptor cDNA. *Nature* 1985; 318: 635–641.
16. Lewis-Tuffin L.J., Cidlowski J.A. The physiology of human glucocorticoid receptor β (hGR β) and glucocorticoid resistance. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 2006; 1069: 1–9.
17. Zhou J., Cidlowski J.A. The human glucocorticoid receptor: one gene, multiple proteins and diverse responses. *Steroids* 2005; 70: 407–417.
18. Duma D., Jewell C.M., Cidlowski J.A. Multiple glucocorticoid receptor isoforms and mechanisms of post-translational modification. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 2006; 102: 11–21.
19. Barnes P.J. Corticosteroid effects on cell signalling. *Eur. Respir. J.* 2006; 27: 413–426.
20. Buckingham J.C. Glucocorticoids: exemplars of multi-tasking. *Br. J. Pharmacol.* 2006; 147 (supl. 1): S258–S268.
21. Stellato C. Post-transcriptional and nongenomic effects of glucocorticoids. *Proc. Am. Thorac. Soc.* 2004; 1: 255–263.
22. Löwenberg M., Stan C., Holmes D.W., Buttgerit F. Novel insights into mechanisms of glucocorticoid action and the development of new glucocorticoid receptor ligands. *Steroids* 2008; 73: 1025–1029.
23. Kellett G.L., Brot-Laroche E. Apical GLUT2: a major pathway of intestinal sugar absorption. *Diabetes* 2005; 54: 3056–3062.
24. Shepherd E.J., Helliwell P.A., Lister N. i wsp. Stress and glucocorticoid inhibit apical GLUT2-trafficking and intestinal glucose absorption in rat small intestine. *J. Physiol.* 2004; 560: 281–290.
25. Rose A.J., Vagiopoulos A., Herzig S. Role of glucocorticoids and the glucocorticoid receptor in metabolism: insights from genetic manipulations. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 2010; 122: 10–20.
26. Horst-Sikorska W. Steroidoterapia — korzyści i zagrożenia. *Przew. Lek.* 2008; 1: 133–136.
27. Ullrich S., Berchtold S., Ranta F. Serum- and glucocorticoid-induced kinase 1 (SGK1) mediates glucocorticoid-induced inhibition of insulin secretion. *Diabetes* 2005; 54: 1090–1099.
28. Lambillotte C., Gilon P., Henquin J.C. Direct glucocorticoid inhibition of insulin secretion. An in vitro study of dexamethasone effects in mouse islets. *J. Clin. Invest.* 1997; 99: 414–423.
29. Arnaldi G., Angeli A., Atkinson A.B. i wsp. Diagnosis and complications of Cushing's syndrome: a consensus statement. *J. Clin. Endocr. Metab.* 2003; 88: 5593–5602.
30. Tomlinson J.W., Walker E.A., Bujalska I.J. i wsp. 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1: a tissue-specific regulator of corticosteroid response. *Endocr. Rev.* 2004; 25: 831–866.
31. Poprzezińska J., Krzyżanowska-Świniarska B., Mizagowski T., Ziemak J., Widecka K. Metaboliczna otyłość u osób z prawidłową masą ciała a 11 β -dehydrogenaza hydroksysteroidowa typu 1 (11 β -HSD1). *Endokrynologia, Otyłość i Zaburzenia Przemiany Materii* 2009; 2: 73–80.
32. Roberge C., Carpentier A.C. Adrenocortical dysregulation as a major player in insulin resistance and onset of obesity. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2007; 293: E1465–E147.
33. Newell-Price J., Trainer P., Besser M., Grossman A. The diagnosis and differential diagnosis of Cushing's syndrome and pseudo-Cushing's states. *Endocr. Rev.* 1998; 19: 647–672.
34. Myśliwiec J., Karczewska-Kupczewska M. Diagnostyka różnicowa otyłości i zespołu Cushinga. *Przeg. Kardiodiabet.* 2007; 2, 3: 154–157.
35. Christ-Crain M., Kola B., Lolli F. AMP-activated protein kinase mediates glucocorticoid-induced metabolic changes: a novel mechanism in Cushing's syndrome. *FASEB J.* 2008; 22: 1672–1683.
36. Scerif M., Füzesi T., Thomas J.D. CB1 receptor mediates the effects of glucocorticoids on AMPK activity in the hypothalamus. *Endocrinol.* 2013; 219: 79–88.
37. Hardie D.G. Sensing of energy and nutrients by AMP-activated protein kinase. *Am. J. Clin. Nutr.* 2011; 93: 891S–896S.
38. Towler M.C., Hardie D.G. AMP-activated protein kinase in metabolic control and insulin signaling. *Circ. Res.* 2007; 100: 328–341.
39. Tissing W.J., Lauten M., Meijerink J.P. Glucocorticoid receptor splice variants, alpha beta and GR -P and in vivo glucocorticoid resistance in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 2001; 98: 313a.
40. Oakley R.H., Sar M., Cidlowski J.A. The human glucocorticoid receptor beta isoform. Expression, biochemical properties and putative function. *J. Biol. Chem.* 1996; 271: 9550–9559.
41. Tissing W.J., Lauten M., Meijerink J.P. i wsp. Expression of the glucocorticoid receptor and its isoforms in relation to glucocorticoid resistance in childhood acute lymphocytic leukemia. *Haematologica* 2005; 90: 1279–1281.
42. Hurley D.M., Accili D., Stratakis C.A. i wsp. 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: 680–686.
43. Karl M., Lamberts S.W., Detera Wadleigh S.D. i wsp. Familial glucocorticoid resistance caused by a splice site deletion in the human glucocorticoid receptor gene. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1993; 76: 683–689.
44. Grzanka A., Rogala B. Czy molekularny mechanizm działania glikokortykosteroidów może wyjaśnić niektóre trudności w leczeniu astmy? *Alergia Astma Immunologia* 2000; 5: 247–252.
45. Bachmann P.S., Gorman R., Papa R.A. i wsp. Divergent mechanism of glucocorticoid resistance in experimental models of pediatric acute lymphoblastic leukemia. *Cancer Res.* 2007; 67: 4482–4490.
46. Bulas M., Trelińska J., Stolarska M., Zubowska M., Pierlejewski F., Młynarski W. Związek polimorfizmu genu receptora steroidowego (NR3C1) z przebiegiem klinicznym chorób limfoproliferacyjnych u dzieci — wyniki wstępne. *Onkologia Polska* 2008; 11, 2, 77–81.
47. Arai K., Chrousos G.P. Hormone-nuclear receptor interaction in health and disease. *Glucocorticosteroid resistance. Baillieres Clin. Endocrinol. Metab.* 1994; 8: 317–331.
48. DeRijk R.H., Schaal M., de Kloet E.R. Glucocorticoid receptor variants: clinical implication. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 2002; 81: 103–122.
49. Panarelli M., Fraser R. The glucocorticoid receptor and hypertension. *Endocr. Res.* 1994; 20: 101–116.
50. Bulas M., Pierlejewski F., Młynarski W. Glikokortykosteroidooporność w chorobach limfoproliferacyjnych i dzieci. *Przeg. Pediatr.* 2009; 39: 57–61.
51. Van Rossum E.F., Koper J.W., van den Beld A.W. Identification of the Bcl polymorphism in the glucocorticoid receptor gene: association with sensitivity to glucocorticoids in vivo and body mass index. *Clin. Endocrinol. (Oxf)* 2003; 59: 585–592.

52. Huizenga N.A.T.M., Koper J.W., de Lange P. A polymorphism in the glucocorticoid receptor gene may be associated with an increased sensitivity to glucocorticoids in vivo. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1998; 83: 144–151.
53. Roussel R., Reis A.F., Dubois-Laforgue D. i wsp. The N363S polymorphism in the glucocorticoid receptor gene is associated with overweight in subjects with type 2 diabetes mellitus. *Clin. Endocrinol. (Oxf)* 2003; 59: 237–241.
54. Geelen C.C., van Greevenbroek M.M., van Rossum E.F. Bcll Glucocorticoid Receptor Polymorphism Is Associated With Greater Body Fatness: The Hoorn and CODAM Studies. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2013; 98: E595–E599.
55. Van Rossum E.F.C., Laberts S.W.J. Polymorphisms in the glucocorticoid receptor gene and their association with metabolic parameters and body composition. *Recent. Prog. Horm. Res.* 2004; 59: 333–357.
56. Van Rossum E.F., Koper J.W., Huizenga N.A. 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.
57. Russcher H., van Rossum E.F., de Jong F.H. Increased expression of the glucocorticoid receptor-A translational isoform as a result of the ER22/23EK polymorphism. *Mol. Endocrinol.* 2005; 19: 1687–1696.
58. Jewell C.M., Cidlowski J.A. Molecular evidence for a link between the N363S glucocorticoid receptor polymorphism and altered gene expression. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2007; 92: 3268–3277.
59. Morris B.J., Lin R.C., Wang X.L., Dalziel B., Caterson I.D. Response: Central Obesity Is Associated with Glucocorticosteroid Receptor N363S Variant: Big Picture Sheds Light. *Obesity Research* 2003; 11: 1607–1069.
60. Vegiopoulos A., Herzig S. Glucocorticoids, metabolism and metabolic diseases. *Mol. Cell. Endocrinol.* 2007; 275: 43–61.
61. Pietras T., Panek M., Kuprys-Lipinska I. i wsp. Frequencies of Bcl I, E22E and N363S of h-GR/NR3C1 restriction fragment length polymorphisms of glucocorticoid receptor gene in Polish adult population. *Mol. Biol. Rep.* 2011; 38: 3953–3958.
62. Panek M., Pietras T., Antczak A. i wsp. The N363S and I559N single nucleotide polymorphisms of the h-GR/NR3C1 gene in patients with bronchial asthma. *Int. J. Mol. Med.* 2012; 30: 142–150.
63. Lin R.C., Wang W.Y., Morris B.J. High penetrance, overweight, and glucocorticoid receptor variant: case control study. *BMJ* 1999; 319: 1337–1338.
64. Lin R.C.Y., Wang X.L., Morris B.J. Association of coronary artery disease with glucocorticoid receptor N363S variant. *Hypertension* 2003; 41: 404–407.
65. Kuningas M., Mooijaart S.P., Slagboom P.E., Westendorp R.G., van Heemst D. Genetic variants in the glucocorticoid receptor gene (NR3C1) and cardiovascular disease risk. *The Leiden 85-plus Study. Biogerontology* 2006; 7: 231–238.
66. Di Blasio A.M., van Rossum E.F.C., Maestrini S. i wsp. The relation between two polymorphisms in the glucocorticoid receptor gene and body mass index, blood pressure and cholesterol in obese patients. *Clin. Endocrinol. (Oxf)* 2003; 59: 68–74.
67. Dobson M.G., Redfern P.F.Ch., Unwin N., Weaver J.U. The N363S Polymorphism of the Glucocorticoid Receptor: Potential Contribution to Central Obesity in Men and Lack of Association with Other Risk Factors for Coronary Heart Disease and Diabetes Mellitus1. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2001; 86: 2270–2274.
68. Echwald S.M., Sørensen T.I.A., Andersen T., Pedersen O. The Asn363Ser variant of the glucocorticoid receptor gene is not associated with obesity or weight gain in Danish men. *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.* 2001; 25: 1563–1565.
69. Rosmond R., Bouchard C., Bjontorp P. Tsp5091 polymorphism in exon 2 of the glucocorticosteroid receptor gene in relation to obesity and cortisol secretion: cohort study. *BMJ* 2001; 322: 652–653.
70. Weaver J.U., Hitman G.A., Kopelman P.G. An association between a Bcll restriction fragment length polymorphism of the glucocorticosteroid receptor locus and hyperinsulinaemia in obese women. *J. Mol. Endocrinol.* 1992; 9: 295–300.
71. Clément K., Philippi A., Jury C. i wsp. Candidate gene approach of familial morbid obesity: linkage analysis of the glucocorticoid receptor gene. *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.* 1996; 20: 507–512.
72. Rosmond R., Chagnon Y.C., Holm G. i wsp. A glucocorticoid receptor gene marker is associated with abdominal obesity, leptin, and dysregulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *Obes. Res.* 2000; 8: 211–218.
73. Buemann B., Vohl M.C., Chagnon M. i wsp. Abdominal visceral fat is associated with a Bcll restriction fragment length polymorphism at the glucocorticosteroid receptor gene locus. *Obes. Res.* 1997; 5: 186–192.
74. Tremblay A., Bouchard L., Bouchard C., Despres J.P., Drapeau V., Perusse L. Long-term adiposity changes are related to a glucocorticosteroid receptor polymorphism in young females. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2003; 88: 3141–3145.
75. Ukkola O., Perusse L., Chagnon Y.C., Despres J.P., Bouchard C. Interactions among the glucocorticoid receptor, lipoprotein lipase and adrenergic receptor genes and abdominal fat in the Quebec Family Study. *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.* 2001; 25: 1332–1339.
76. Ukkola O., Rosmond R., Tremblay A., Bouchard C. Glucocorticoid receptor Bcll variant is associated with an increased atherogenic profile in response to long-term overfeeding. *Atherosclerosis* 2001; 157: 221–224.
77. Rosmond R., Holm G. A 5-year follow-up study of 3 polymorphisms in the human glucocorticoid receptor gene in relation to obesity, hypertension, and diabetes. *J. Cardiometab. Syndr.* 2008; 3: 132–135.
78. Watt G.C., Harrap S.B., Foy C.J. i wsp. Abnormalities of glucocorticosteroid 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.
79. Syed A.A., Halpin C.G., Irving J.A. i wsp. A common intron 2 polymorphism of the glucocorticoid receptor gene is associated with insulin resistance in men. *Clin. Endocrinol. (Oxf)* 2008; 68: 879–884.
80. Voorhoeve P.G., van den Akker E.L., van Rossum E.F. i wsp. Glucocorticoid receptor gene variant is associated with increased body fatness in youngsters. *Clin. Endocrinol. (Oxf)* 2009; 71: 518–523.
81. Van Rossum E.F., Voorhoeve P.G., te Velde S.J. i wsp. The ER22/23EK polymorphism in the glucocorticoid receptor gene is associated with a beneficial body composition and muscle strength in young adults. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2004; 89: 4004–4009.
82. Van Rossum E.F., Feelders R.A., van den Beld A.W. i wsp. Association of the ER22/23EK polymorphism in the glucocorticoid receptor gene with survival and C-reactive protein levels in elderly men. *Am. J. Med.* 2004; 117: 158–162.
83. Van Rossum E.F., de Jong F.J., Koper J.W. i wsp. Glucocorticoid receptor variant and risk of dementia and white matter lesions. *Neurobiol. Aging.* 2008; 29: 716–723.
84. Kuningas M., Mooijaart S.P., Slagboom P.E., Westendorp R.G., van Heemst D. Genetic variants in the glucocorticoid receptor gene (NR3C1) and cardiovascular disease risk. *The Leiden 85-plus Study. Biogerontology* 2006; 7: 231–238.
85. Bertalan R., Patócs A., Boyle B., Rigó J., Rácz K. The protective effect of the ER22/23EK polymorphism against an excessive weight gain during pregnancy. *Gynecol. Endocrinol.* 2009; 25: 379–382.
86. Syed A.A., Irving J.A., Redfern C.P. i wsp. Association of glucocorticoid receptor polymorphism A3669G in exon 9 beta with reduced central adiposity in women. *Obesity* 2006; 14: 759–764.
87. Trementino L., Appolloni G., Concettoni C. Association of glucocorticoid receptor polymorphism A3669G with decreased risk of developing diabetes in patients with Cushing's syndrome. *Eur. J. Endocrinol.* 2012; 166: 35–42.
88. Van den Akker E.L., Koper J.W., van Rossum E.F. i wsp. Glucocorticoid receptor gene and risk of cardiovascular disease. *Arch. Intern. Med.* 2008; 168: 33–39.