

Polimorfizmy genu receptora β 2-adrenergicznego

Dr n. med.
**Justyna Emeryk-
Maksymiuk**

mgr
Radosław Mlak

prof. dr hab. n. med.
Janusz Milanowski

Katedra i Klinika Pneumonologii,
Onkologii i Alergologii UM
w Lublinie

Kierownik Kliniki:
Prof. dr hab. n. med. Janusz
Milanowski

G E N E T Y K A

β 2-adrenergic receptor polymorphisms and obstructive pulmonary diseases

S U M M A R Y

β 2-adrenergic receptor plays a key role in regulation of airway smooth muscle tone. This receptor is also a target for β 2-mimetics which are important drugs in managing bronchial asthma and chronic obstructive pulmonary disease, both in stable phase of the diseases and during exacerbations.

This is a review of the studies published so far which aimed to assess the influence of single nucleotide polymorphisms of β 2-adrenergic receptor on pathogenesis, course and pharmacotherapy of bronchial asthma and chronic obstructive pulmonary disease.

Receptor β 2-adrenergiczny pełni kluczową rolę w regulacji napięcia mięśniowego ściany oskrzeli. Receptor ten jest również punktem uchwytu dla β 2-mimetyków, jednej z głównych grup leków stosowanych w astmie oskrzelowej i przewlekłej obturacyjnej chorobie płuc, zarówno w stabilnej fazie tych chorób, jak i w zaostrzeniach. W niniejszej pracy dokonano przeglądu dotychczasowych badań nad wpływem różnych form polimorficznych genu kodującego receptor β 2-adrenergiczny na patogenezę, przebieg i farmakoterapię astmy oskrzelowej i przewlekłej obturacyjnej choroby płuc.

Emeryk-Maksymiuk J.: Wpływ polimorfizmów genu receptora β 2-adrenergicznego a obturacyjne choroby dróg oddechowych. *Alergia*, 2012, 1: 47-50

Wraz z coraz lepszym poznaniem genomu ludzkiego, rola czynników genetycznych w patogenezie i farmakoterapii poszczególnych chorób jest coraz lepiej definiowana. Gen kodujący receptor β 2-adrenergiczny (ang. β 2-adrenergic receptor, ADRB2) rozpoczął swoją „karierę” jako potencjalny gen-kandydat mogący odgrywać rolę w patogenezie chorób obturacyjnych układu oddechowego około 20 lat temu, lecz ciągle jeszcze w jego kontekście pozostaje więcej pytań niż jednoznacznych odpowiedzi.

Udział genu-kandydata w patogenezie choroby można rozważać jako potencjalnie istotny, jeżeli zostanie spełnionych szereg warunków. Po pierwsze, jego produkt musi być

powiązany z patofizjologią choroby. Po drugie, niezbędna jest obecność mutacji lub polimorfizmów wpływających na funkcję tego genu albo w obrębie jego regionu kodującego, albo w obrębie regionu regulatorowego, który kontroluje ekspresję genu. Po trzecie, należy wykazać związek pomiędzy mutacjami/polimorfizmami wpływającymi na funkcję genu a danym fenotypem. Wreszcie, aby można było mówić o dużym wpływie danej mutacji na populację, mutacja ta musi być relatywnie częsta [1].

W niniejszej pracy dokonano przeglądu dotychczasowych badań nad wpływem różnych form polimorficznych ADRB2 na patogenezę, przebieg i farmakoterapię astmy oskrzelowej oraz przewlekłej obturacyjnej choroby płuc (POChP) w oparciu o sformułowane powyżej warunki dla genów-kandydatów.

Receptor β 2-adrenergiczny

Receptory β 2-adrenergiczne wykazują wysoką ekspresję w tkance płucnej - obecne są w mięśniach gładkich ściany oskrzeli, na komórkach nabłonka oddechowego, w gruczołach podśluzówkowych, komórkach tucznych oraz pneumocytach typu II, jak również na powierzchni komórek immunokompetentnych: limfocytów, neutrofilii i makrofagów. Ich aktywacja powoduje, między innymi:

- spadek napięcia mięśni gładkich ściany oskrzeli i tym samym, rozszerzenie ich światła,
- działanie przeciwzapalne - zahamowanie degranulacji komórek tucznych, zmniejszenie chemotaksji, adhezji i aktywacji leukocytów
- szybszy ruch rzęsek nabłonka oddechowego zmierzający do usuwania zanieczyszczeń z dróg oddechowych [2].

Ponadto, receptory β 2-adrenergiczne są punktem uchwytu dla β 2-mimetyków, jednej z głównych grup leków stosowanych zarówno w stabilnej fazie chorób obturacyjnych dróg oddechowych, jak i w ich zaostrzeniach [3,4].

Wobec powyższego, gen ADRB2 spełnia pierwszy spośród czterech opisanych we wstępie pracy warunków dla genów-kandydatów i można podejrzewać, że jego wpływ na astmę i POChP jest potencjalnie bardzo szeroki: od warunkowania rozwoju tych chorób, poprzez modyfikowanie ich przebiegu, a na różnicowaniu odpowiedzi na leczenie kończąc.

Mechanizm działania ADRB2

ADRB2 należy do rodziny receptorów sprzężonych z białkiem G, których pobudzenie prowadzi do aktywacji cyklazy adenylowej, enzymu odpowiedzialnego za produkcję cyklicznego adenozyńmonofosforanu (cAMP). Stymulacja receptora β 2-adrenergicznego prowadzi zatem do wzrostu stężenia cAMP wewnątrz komórki. cAMP aktywuje z kolei kinazę A, która katalizuje reakcję fosforylacji kluczowych białek regulatorowych związanych z kontrolą napięcia mięśniowego [5]. cAMP zmniejsza także ilość wolnego jonu wapniowego wewnątrz komórki, co również wiedzie do rozkurczu komórek mięśniowych.

Ponadto, postuluje się, że za część odpowiedzi relaksacyjnej mogą być odpowiedzialne mechanizmy cAMP-niezależne, polegające na bezpośredniej interakcji białka G z kanałami potasowymi obecnymi na błonie komórkowej mięśni gładkich dróg oddechowych [6].

Gen ADRB2

Gen kodujący receptor β 2-adrenergiczny liczy 1242 par zasad, składa się z samych eksonów i znajduje się na długim ramieniu chromosomu 5 (5q 31-33). Po raz pierwszy został sklonowany w 1987 roku [7]. Produktem genu ADRB2 jest receptor błonowy, składający się z 413 aminokwasów, którego koniec aminowy znajduje się pozakomórkowo, a koniec karboksylowy - wewnątrz komórki. Łańcuch białkowy receptora siedmiokrotnie przechodzi przez błonę komórkową, tworząc trzy pętle położone na zewnątrz komórki i trzy pętle wewnątrzkomórkowe. Receptor β 2-adrenergiczny w sposób schematyczny przedstawiono na rycinie 1.

Polimorfizmy ADRB2

Badania w kierunku mutacji genu ADRB2 wykazały obecność dziewięciu polimorfizmów pojedynczego nukleotydu (ang. single nucleotide polymorphisms, SNPs) zlokalizowanych w jego regionie kodującym [8]. Pięć z nich należy do grupy polimorfizmów synonimicznych (ich skutkiem jest powstanie tego samego aminokwasu w łańcuchu białkowym), jednak w przypadku czterech, zlokalizowanych w nukleotydach: 46, 79, 100 i 491, dochodzi do zmiany aminokwasu na inny (polimorfizmy niesynonimiczne), odpowiednio w kodonach: 16 (glicyny na argininę), 27 (glutaminy na kwas glutaminowy), 34 (waliny na metioninę) i 164 (treoniny na izoleucynę) łańcucha białkowego receptora (rycina 1).

Częstości występowania poszczególnych form polimorficznych ADRB2 w populacji kaukaskiej

Pracą, w której analizę genetyczną polimorfizmów ADRB2 przeprowadzono na największej liczbie osób rasy kaukaskiej, jest badanie duńskiej populacji ogólnej [9], w którym genotypowanie polimorfizmów ADRB2 przeprowadzono u 8971 osób.

Częstości poszczególnych genotypów przedstawiały się następująco: w pozycji 16 homozygoty ArgArg - 14,9%, heterozygoty GlyArg - 46,1%, homozygoty GlyGly - 39,0%; w pozycji 27 homozygoty GlnGln - 31,8%, heterozygoty GlnGlu - 48,6%, homozygoty GluGlu - 19,6%; w pozycji 164 homozygoty ThrThr - 97,0%, heterozygoty ThrIle - 2,9%, homozygoty IleIle - 0,01%. Gen ADRB2 spełnia zatem kolejny warunek niezbędny do uznania go za gen kandydacki – jego różne formy polimorficzne w pozycji 16 i 27 występują z dużą częstością w populacji ogólnej.

Polimorfizmy ADRB2 - badania in vitro

Badania przeprowadzone zarówno na liniach komórkowych [10], jak i hodowlach pierwotnych komórek mięśni gładkich ludzkich dróg oddechowych [11] wykazały, że rzadziej występujące formy polimorficzne receptora w kodonach 16 i 27 wykazywały takie samo przyłączanie i sprzęganie z cyklazą adenylanową w obecności agonisty jak częściej występujące odmiany polimorficzne receptora, natomiast występowały pomiędzy nimi różnice, jeśli chodzi o poziom ekspresji receptora po 24-godzinnej ekspozycji na agonistę.

Homozygotyczne formy receptora zawierające glicynę w pozycji 16 (Gly16Gly) ulegały nasilonemu zjawisku down-regulation po ekspozycji na agonistę, w porównaniu do homozygotycznej formy receptora zawierającej argininę w pozycji 16 (Arg16Arg), podczas gdy w przypadku postaci homozygotycznej receptora zawierającej kwas glutaminowy w pozycji 27 (Glu27Glu) praktycznie nie obserwowano żadnego spadku poziomu ekspresji ADRB2 po ekspozycji na agonistę.

Nasilone zjawisko down-regulation postaci receptora zawierającego w kodonie 16 glicynę było niezależne od tego, czy w kodonie 27 obecna była glutamina czy kwas glutaminowy. Odwrotnie było w przypadku polimorfizmów w pozycji 27, gdzie na stopień procesu down-regulation wpływ miał fakt, czy w pozycji 16 obecna była glicyna czy arginina; kombinacja

Arg16/Glu27 wykazywała całkowity brak spadku ekspresji ADRB2 w obecności agonisty, natomiast postać Gly16/Glu27 wykazywała ten sam nasilony poziom spadku ekspresji ADRB2 jak Gly16/Gln27. Wyniki te przemawiają za tym, że nasilone zjawisko down-regulation skojarzone z formą Gly16 przeważa nad protekcyjnym działaniem postaci receptora Glu27 w sytuacji, gdy oba warianty występują w formie homozygotycznej [12].

Jeśli chodzi o polimorficzne formy receptora w pozycji 164, to okazało się, że postać zawierająca izoleucynę wykazuje zmniejszoną zdolność do wiązania agonisty oraz sprzęgania z cyklazą adenylową w porównaniu do częstszej formy receptora zawierającej treoninę [12].

Polimorfizm w pozycji 34 (substytucja metioniny na walinę) jest bardzo rzadki i nie łączy się z żadnym wpływem na wiązanie się receptora z agonistą, sprzęganie z cyklazą adenylową czy poziom ekspresji receptora na powierzchni komórki [13].

Na podstawie powyższych danych, można stwierdzić, że gen ADRB2 spełnia następujący warunek niezbędny do wytypowania go jako genu-kandydata – wykazano, że różne formy polimorficzne tego genu w kodonach 16, 27 i 164 wpływają na jego funkcję.

W tabeli 1 przedstawionopodsumowanie wyników badań in vitro nad poszczególnymi formami polimorficznymi ADRB2 dotyczących wiązania z agonistą, sprzęgania z cyklazą adenylową oraz zjawiska down-regulation po długotrwałej(24-godzinnej) ekspozycji na agonistę.

TABELA 1 Wiązanie z agonistą, sprzęganie z cyklazą adenylową oraz występowanie zjawiska down-regulation po 24-godzinnej ekspozycji na agonistę różnych form polimorficznych ADRB2 w warunkach in vitro

Forma polimorficzna ADRB2	Wiązanie z agonistą	Sprzęganie z cyklazą adenylową	Zjawisko down-regulation po 24-godzinnej ekspozycji na agonistę
Gly16	częstszy typ receptora	częstszy typ receptora	nasilone
Arg16	niezmienione	niezmienione	niezmienione
Gln27	częstszy typ receptora	częstszy typ receptora	częstszy typ receptora
Glu27	niezmienione	niezmienione	nieobecne
Thr164	częstszy typ receptora	częstszy typ receptora	częstszy typ receptora
Ile164	zmniejszone	zmniejszone	nieokreśone
Met34	częstszy typ	częstszy typ	częstszy typ receptora

	receptora	receptora	
Val34	niezmienione	niezmienione	niezmienione

(modyfikacja własna według Liggett SB. Polymorphisms of the β 2-adrenergic receptor and asthma. Am J Respir Crit Care Med 1997; 156: S156-S162).

Polimorfizmy ADRB2 - badania in vivo

Z powodu bardzo rzadkiego występowania niektórych form polimorficznych w pozycji 164 (poniżej 3%) oraz brak wpływu polimorfizmu w pozycji 34 na wiązanie się receptora z agonistą, sprzężanie z cyklazą adenylową czy poziom ekspresji receptora na powierzchni komórki [13], uwaga badaczy skupiła się na polimorfizmach ADRB2 w pozycjach 16 i 27.

Polimorfizmy ADRB2 w astmie oskrzelowej; tzw. hipoteza Liggetta

Pierwszą jednostką chorobową, którą zaczęto badać w kontekście polimorfizmów ADRB2 była astma oskrzelowa, zatem największa ilość publikacji jest dostępna właśnie dla tej choroby.

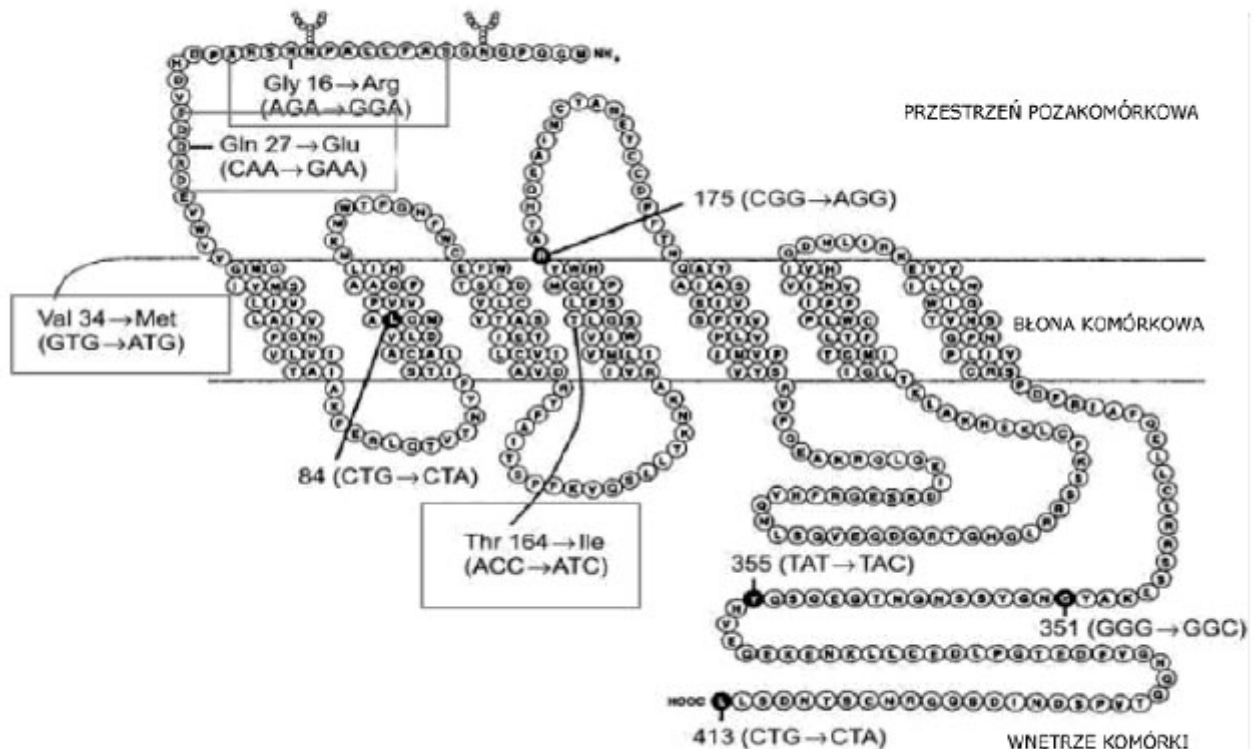
W pierwszej kolejności badacze skupili się nad ewentualnym wpływem polimorfizmów na częstość występowania samej choroby oraz jej różnych fenotypów. Ilość zgromadzonych do tej pory danych pozwoliła na wykonanie metaanaliz [14-17], których wyniki wykazały, że nie ma związku pomiędzy SNPs genu ADRB2 a ryzykiem zachorowania na astmę, natomiast istnieje pozytywna korelacja pomiędzy allelem Gly16 a częstością występowania tzw. nocnej astmy oraz cięższych postaci choroby. Tym samym dla genu ADRB2 został spełniony ostatni warunek niezbędny do tego, by móc określać go mianem genu-kandydata: wykazano związek pomiędzy polimorfizmami wpływającymi na jego funkcję a danym fenotypem.

Pomimo wielu prac podejmujących problematykę wpływu różnych postaci polimorficznych ADRB2 na efektywność i bezpieczeństwo terapii z zastosowaniem SABA (ang. short-acting β 2-agonists) i/lub LABA (ang. long-acting β 2-agonists) u pacjentów z astmą, nie udało się uzyskać jednoznacznej odpowiedzi na to zagadnienie.

Wiele prac przemawia za tym, że polimorfizmy w kodonach 16 i 27 nie odgrywają roli w terapii astmy z zastosowaniem SABA i/lub LABA [18-22], z drugiej strony, wyniki licznych badań sugerują, że mogą one wpływać na skuteczność i bezpieczeństwo takiego leczenia [23-29]. W przeważającej większości cytowanych prac, które wykazywały związek pomiędzy polimorfizmami a reakcją pacjentów na leki [23-26, 28-29], homozygotyczność ArgArg w pozycji 16 predysponowała do gorszej odpowiedzi na leczenie lub do gorszej kontroli astmy.

Wydaje się to sprzeczne z wynikami badań in vitro [11,12], które sugerowały, że to forma receptora zawierająca glicynę w pozycji 16 jest bardziej podatna na zjawisko down-regulation w obecności agonisty, czyli predysponuje pacjenta mającego tę postać receptora do szybszego rozwinięcia tachyfilaksji na β 2-mimetyki.

Tzw. hipoteza Liggetta wyjaśnia to zjawisko [30]. Według tej teorii, ilość receptorów z glicyną w pozycji 16 jest już zmniejszona na skutek wystąpienia zjawiska down-regulation po ekspozycji na endogenne katecholaminy, zatem efekty procesu down-regulation na skutek długotrwałej ekspozycji na egzogennych agonistów (SABA lub LABA) są bardziej widoczne w przypadku receptorów mających w pozycji 16 argininę.



(modyfikacja własna według Hall IP. Pharmacogenetics of asthma. Chest 2006; 130: 1873-1878)

Polimorfizmy ADRB2 w POChP

POChP jest kolejną jednostką chorobową w pneumonologii, w której zaczęto badać polimorfizmy genu ADRB2. Pomimo dość licznych badań, rola genotypu receptora β_2 -adrenergicznego w patogenezie POChP pozostaje niejasna [31-36].

W grupie chorych narodowości chińskiej polimorfizm Gly16 występował częściej u pacjentów z POChP w porównaniu do osób zdrowych, a ciężka postać choroby ($FEV1 < 35\%$ wartości należytnej) była skojarzona z homozygotycznością Gln w pozycji 27 [31]. Do podobnych wniosków doszli Vacca i wsp. [32], którzy wykazali w swoim badaniu, że allel Gly16 jest częstszy w populacji osób z POChP w porównaniu do osób zdrowych, jednak polimorfizmy ADRB2 nie mają wpływu na liczbę zaostrzeń i ciężkość choroby.

Do przeciwnych wniosków doszła Matheson i wsp. [33], którzy udowodnili, że u homozygot ArgArg w pozycji 16 oraz u osobników z haplotypem Arg16/Gln27 istnieje istotnie większe ryzyko zachorowania na POChP.

Z kolei Hegab i wsp. [34] wykazali, że w populacji egipskiej allel Glu w kodonie 27 występował znacznie częściej u osób z POChP w porównaniu do osób zdrowych.

Wyniki Joos'a i wsp. [35] wskazują na to, że polimorfizmy Gly/Arg w kodonie 16 nie pełnią istotnej roli w szybkości spadku funkcji płuc, nadreaktywności oskrzeli czy odpowiedzi bronchodilatacyjnej u palaczy, niemniej jednak heterozygotyczność w pozycji 27 okazała się być czynnikiem protekcyjnym, jeśli chodzi o przyspieszony wskaźnik spadku funkcji płuc u palaczy (przyspieszony wskaźnik spadku funkcji płuc rozumiany był jako spadek należytnej wartości $FEV1$ wyrażonej w procentach o więcej niż 3% na rok).

Wreszcie wyniki pochodzące z pracy Brogger'a i wsp. [36] oraz Thomsen i wsp. [9] sugerują brak związku pomiędzy polimorfizmami ADRB2 w pozycji 16 i 27 a częstością POChP. Warto podkreślić, że ostatnie z cytowanych badań zostało przeprowadzone na bardzo dużej populacji (8 971 osób), znacznie przekraczającej liczebnością pozostałe badane grupy.

Do chwili obecnej ukazały się trzy prace oceniające wpływ polimorfizmów ADRB2 na wyjściowe parametry spirometryczne i/lub odpowiedź bronchodilatacyjną na SABA lub LABA u pacjentów z POChP [37-39].

Hizawa i wsp. [37] wykazali w swojej pracy, że obecność allelu Arg16 była związana ze słabszą odpowiedzią bronchodilatacyjną na SABA; efekt ten był niezależny od stopnia ciężkości POChP, wieku pacjentów oraz faktu, czy są nadal czynnymi palaczami. Z kolei Mokry i wsp. [38] oraz Kim i wsp. [39] nie potwierdzili wpływu polimorfizmów genu ADRB2 na wynik próby rozkurczowej u pacjentów z POChP.

Jedyną pracą, która ocenia rolę polimorfizmów ADRB2 w pozycji 164 na funkcję układu oddechowego oraz częstość występowania POChP i astmy jest cytowane już uprzednio badanie Thomsen i wsp. [9]. W badaniu tym genotypowanie polimorfizmów ADRB2 w pozycji 164 przeprowadzono łącznie u ponad 60 tysięcy osób należących do populacji ogólnej. Autorzy wykazali, że obecność allelu Ile w pozycji 164 predysponuje do istotnie gorszej funkcji płuc (ocenianej poprzez wskaźnik FEV1/FVC oraz FEV1 wyrażone jako odsetek wartości należnej) oraz istotnie zwiększa ryzyko wystąpienia POChP. Żaden z polimorfizmów Thr164Ile nie łączył się w sposób istotny z występowaniem astmy.

Podsumowanie

W świetle dostępnych aktualnie badań dotyczących wpływu polimorfizmów ADRB2 na patogenezę, przebieg oraz odpowiedź na leczenie bronchodilatacyjne w obturacyjnych chorobach dróg oddechowych można wysnuć następujące wnioski:

- Nie ma związku pomiędzy SNPs genu ADRB2 w pozycjach 16, 27 a ryzykiem zachorowania na astmę lub POChP, natomiast obecność allelu Gly w kodonie 16 predysponuje do występowania tzw. astmy nocnej oraz cięższych postaci astmy oskrzelowej.
- Wpływ polimorfizmów ADRB2 w pozycji 16 i 27 na bezpieczeństwo i efektywność terapii β 2-mimetykami wziewnymi u pacjentów z obturacyjną chorobą dróg oddechowych jest niejednoznaczny. Wydaje się, że homozygotyczność Arg16Arg może sprzyjać gorszej odpowiedzi na leczenie; teza ta wymaga jednak dalszych badań.
- Obecność rzadkiego allelu Ile w pozycji 164 może predysponować do gorszej funkcji płuc oraz zwiększać ryzyko wystąpienia POChP. □

Pracę nadesłano 2012.03.26
Zaakceptowano do druku 2012.04.03

Piśmiennictwo dostępne w redakcji.

[Zamknij](#)

[Drukuj](#)