

КОНКУРЕНТНЫЕ АГОНИСТЫ И АНТАГОНИСТЫ ЯДЕРНЫХ РЕЦЕПТОРОВ СТЕРОИДОВ: ЭВОЛЮЦИЯ ИЛИ НИВЕЛИРОВАНИЕ ПОНЯТИЙ

Обзор

© 2015 О.В. Смирнова

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,
биологический факультет, 119991 Москва; факс: +7(495)939-4309,
электронная почта: smirnova_ov@mail.ru

Поступила в редакцию 12.04.15
После доработки 05.05.15

Проанализированы механизмы проявления чистой и смешанной агонистической/антагонистической активности стероидов и принципы действия селективных модуляторов рецепторов стероидов *in vivo* в зависимости от типа клеток или тканей и взаимодействия с разными типами ядерных рецепторов. Рассмотрены механизмы действия стероида как смешанного агониста/антагониста *in vitro* в зависимости от особенностей его взаимодействия с гормонсвязывающим карманом рецептора, аллостерической модуляции стероидом взаимодействия гормон-рецепторного комплекса с гормончувствительными элементами ДНК, особенностей взаимодействия гормон-рецепторного комплекса с белковыми корегуляторами транскрипции, уровня и тканеспецифического набора корегуляторов транскрипции. Обсуждается новое представление о селективных для контекста модуляторах, приходящее на смену представлению об агонистах и антагонистах стероидов.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: чистые агонисты и антагонисты, смешанные агонисты/антагонисты, ядерные рецепторы стероидов, стероидчувствительные элементы ДНК, корегуляторы транскрипции.

Конкурентные агонисты и антагонисты стероидных гормонов давно известны и широко применяются в клинической практике. Чистые агонисты или антагонисты представляют собой соединения, не проявляющие обратных свойств ни в каких системах тестирования. Они могут иметь разное сродство к рецептору и вызывать эффект разной выраженности. Предполагается, что степень влияния конкурирующих соединений на биологический параметр определяется

Принятые сокращения: EC_{50} – полумаксимальная эффективная концентрация; IC_{50} – полумаксимальная ингибирующая концентрация; SSRM – селективный модулятор стероидных рецепторов; SERM – селективный модулятор рецептора эстрогенов; SRE – стероидчувствительный элемент; PAA – частичная агонистическая активность; TA_{max} – максимальная транскрипционная активность; NTD – N-концевой домен; DBD – ДНК-связывающий домен; LBD – лигандсвязывающий домен; CTE – C-концевое расширение; AF1, AF2, AF3 – активаторные функции 1, 2, 3; ER – рецептор эстрогенов; PR – рецептор прогестина; GR – рецептор глюкокортикоидов; CBI – ингибитор связывания коактиваторов; DAC – дезацилкортиказол; COSMO – селективный для контекста модулятор; BF1, BF2, BF3 – связывающие функции 1, 2, 3; NRAM – модулятор альтернативных сайтов ядерного рецептора; TIF2 – промежуточный транскрипционный фактор 2; a.o. – аминокислотные остатки.

их сродством к рецептору. Критерием активности чистого агониста и антагониста, проявляющего частичную агонистическую активность, обычно служит EC_{50} (полумаксимальная эффективная концентрация). Считается, что EC_{50} пропорциональна сродству рецептора к лиганду. Критерием оценки является также максимальный эффект, под которым подразумевается предельный уровень ответа данной биологической системы (ткани, клетки, гена) на лиганд. Критерием оценки активности антагониста является IC_{50} (полумаксимальная ингибирующая концентрация) [1–3].

Сейчас становится ясно, что максимальный ответ системы, EC_{50} и IC_{50} для одного лиганда могут существенно отличаться как в зависимости от типа клетки или ткани *in vivo*, так и в зависимости от гена и систем его экспрессии *in vitro*. Это позволяет создать более тонкую классификацию конкурирующих соединений. Первым вариантом такой классификации было выделение лигандов ядерных рецепторов стероидов, проявляющих агонистическую или антагонистическую активность в зависимости от типа ткани или клетки, названных впоследствии селективными модуляторами рецепторов стерои-

дов (SSRMs). Наиболее известным и одним из первых открытых представителей SSRMs является тамоксифен, селективный модулятор эстрогенных рецепторов (SERM), который является их антагонистом в молочной железе и агонистом в костной ткани, матке, сердечно-сосудистой системе, клетках HepG2 [4, 5]. Открытие селективных модуляторов рецепторов стероидов привело к делению конкурирующих соединений на чистые агонисты или антагонисты и смешанные агонисты/антагонисты (т.е. соединения, проявляющие в разных условиях либо агонистическую, либо антагонистическую активность). Последние иногда называют неполными или частичными агонистами или антагонистами, хотя понятие неполные или частичные агонисты и антагонисты используется также иногда в случае неполной максимальной выраженности биологического эффекта чистых агонистов и антагонистов *in vivo*, что создает некоторую путаницу [6–8].

Сделана также попытка классификации конкурентных антагонистов по наличию или отсутствию способности изменять конформацию рецептора, создающую перmissive среду для его связывания с ДНК. Оказалось, что существуют антагонисты, которые препятствуют связыванию агонистов, но индуцируют неактивное состояние рецептора, модифицируя взаимодействие с белками теплового шока и препятствуя его транслокации в ядро или последующему взаимодействию гормон-рецепторного комплекса с ДНК, видимо, из-за отсутствия существенных изменений конформации петли между 1 и 3-й спиралями рецептора, что предотвращает его гомодимеризацию. Такие антагонисты стали называть пассивными [9–12]. Примером пассивного антагониста является прогестин онапристон, который не придает гормон-рецепторному комплексу способности связываться с ДНК. В дальнейшем оказалось, что такой механизм действия антагонистов стероидов является не столь частым, кроме того, установлено, что механизм действия пассивных антагонистов при их насыщающих концентрациях меняется и может быть сходен с активными антагонистами [9, 13]. Гораздо более распространен активный тип антагонистов, которые в результате связывания с рецептором изменяют его активность, стимулируют транслокацию в ядро и индуцируют связывание комплекса со стероидчувствительными элементами (SRE) ДНК регуляторной области гена-мишени, занимая места, через которые должен действовать комплекс агонист–рецептор, и препятствуя его действию. В этом случае возникает не только конкуренция антагониста и агониста за связывающий карман

рецептора, но и конкуренция комплекса антагонист–рецептор с комплексом агонист–рецептор за связывание с SRE ДНК, т.е. стероид выступает также как аллостерический регулятор взаимодействия гормон-рецепторного комплекса с ДНК. При таком механизме действия активные антагонисты могут проявлять частичную агонистическую активность (РАА), определяемую как % от максимальной транскрипционной активности (TA_{max}) референсного чистого агониста, и представляют собой группу смешанных агонистов/антагонистов [10–12].

Придерживаясь представленных выше определений чистых агонистов и антагонистов и смешанных агонистов/антагонистов, в данной статье сделана попытка проанализировать механизмы проявления смешанной агонистической/антагонистической активности стероидов: 1) *in vivo* в зависимости от типа клеток и тканей-мишеней и взаимодействия с разными типами ядерных рецепторов; 2) *in vitro* в зависимости от а) особенностей взаимодействия стероидов с гормонсвязывающим карманом рецептора, б) аллостерической модуляции стероидами взаимодействия гормон-рецепторных комплексов с SRE ДНК, в) особенностей взаимодействия гормон-рецепторного комплекса с белковыми ко-регуляторами транскрипции, г) уровня и тканеспецифического набора ко-регуляторов транскрипции.

СТРУКТУРА И МЕХАНИЗМ АКТИВАЦИИ ЯДЕРНЫХ РЕЦЕПТОРОВ СТЕРОИДОВ

Надсемейство ядерных рецепторов имеет модульную структуру и состоит из функционально различных доменов: N-концевого домена (NTD), ДНК-связывающего домена (DBD), шарнирного домена, лигандсвязывающего домена (LBD) и в ряде случаев дополнительного домена F. Цинковые пальцы DBD стабилизируют вторичную и третичную структуры комплекса ядерный рецептор – ДНК. В отсутствие лиганда стероидные рецепторы образуют комплексы с белками теплового шока hsp90 и другими, причем сайт связывания этих белков частично перекрывается с сайтом связывания ко-регуляторов транскрипции. Данные рентгеноструктурного анализа показывают, что NTDs стероидных рецепторов не имеют уникальной трехмерной структуры и относятся к участкам белков с неупорядоченной неглобулярной структурой (ID-домены), которая существует в виде динамических наборов конформаций, способных превращаться в упорядоченные или неупо-

рядоченные структуры в зависимости от конкретной ситуации, например, связывания лиганда [14, 15]. В NTD находится активаторная функция AF1, которая может работать независимо от лиганда и входит в ID-домен. Активаторная функция AF2 локализована в LBD и активируется лигандом за счет изменения ориентации ее 12-й спирали. Рецептор В прогестерона имеет на N-конце NBD дополнительную активаторную функцию AF3, работающую синергично с AF1 и AF2 [5, 11, 16–18].

Стероид-рецепторные комплексы связываются с консенсусными последовательностями SREs ДНК в регуляторных областях генов-мишеней в виде гомодимеров, что облегчает и связывание с ДНК, и рекрутизацию корегуляторов. Димеризация может опосредоваться ДНК-связывающими доменами рецепторов, лигандсвязывающими доменами, межмолекулярными взаимодействиями между NBD и LBD двух молекул рецептора (N/C-взаимодействие) [19]. Для большинства стероидных рецепторов, связанных с агонистами, при димеризации характерно N/C-взаимодействие за счет наличия длинных NTD и их прямого взаимодействия с гидрофобной бороздкой LBD, связывающей коактиватор. Димеры рецептора связываются с SREs ДНК. SREs ДНК рецепторов стероидов чаще представляют собой палиндромы и иногда прямые и обратные повторы, разделенные нуклеотидами спейсера, отличающимися по размеру и составу. В областях палиндромов, прямых или обратных повторов SRE также могут наблюдаться одиночные нуклеотидные различия. Изменение пространственной ориентации 12-й спирали рецептора, входящей в состав AF2, после взаимодействия с лигандом-агонистом и SRE ДНК позволяет рецептору связываться с коактиватором, вызывающим инициацию транскрипции. Коактиваторные белки модифицируют транскрипционную активность гена с помощью нескольких механизмов: связываясь с белками базального транскрипционного комплекса, регулируя деконденсацию хроматина, модифицируя фосфорилирование РНК-полимеразы II. В некоторых случаях индукция транскрипции осуществляется за счет белок-белковых взаимодействий без участия стадии взаимодействия рецептора с ДНК [15, 17, 20, 21].

Таким образом, для индукции транскрипционного эффекта необходимо последовательное осуществление реакций связывания: лиганд–рецептор → димеризация лиганд–рецепторных комплексов → димерный комплекс – SRE ДНК → → ДНК – димерный комплекс – коактиватор → → ДНК – димерный комплекс – коактиватор – белок базального транскрипционного комплекса

или другой белок, участвующий в инициации транскрипции. В результате всех этих взаимодействий возникают динамические изменения конформации партнеров связывания. В таком случае лиганд стероидного рецептора может выступать не только как конкурентный агонист/антагонист связывания с рецептором, но и как индивидуальный уникальный аллостерический модулятор всех последующих стадий межмолекулярных взаимодействий.

МЕХАНИЗМЫ ПРОЯВЛЕНИЯ СМЕШАННОЙ АГОНИСТИЧЕСКОЙ/ АНТАГОНИСТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ СТЕРОИДОВ

Зависимость от типа клетки/ткани *in vivo*. В настоящее время практически для каждого из классов стероидов известно несколько генов или изоформ ядерного рецептора. Механизм участия разных вариантов рецепторов в проявлении смешанных агонистических/антагонистических свойств стероида заключается в различной, хотя и перекрывающейся специфичности их сродства к лигандам, возможности образования гомо- и гетеродимеров двух разных рецепторов, отличающихся по типу и степени транскрипционной активности, что при их различном соотношении в тканях разного типа зачастую ведет к противоположной биологической активности стероида. Так, известно, что при гетеродимеризации один из вариантов/изоформ рецептора выступает как антагонист реализации эффектов через другой рецептор, что приводит к проявлению агонистических или антагонистических свойств стероида в зависимости от соотношения гомо- и гетеродимеров его рецепторов в конкретной ткани. Разные ядерные рецепторы одного стероида часто регулируют экспрессию разных генов-мишеней, связываясь с разными гормончувствительными элементами ДНК и активируя разные транскрипционные корегуляторы [22–25]. Все это лежит в основе действия селективных модуляторов рецепторов стероидов *in vivo*. Вероятность проявления противоположных по направленности тканеспецифических эффектов стероидов определяется также дифференциальной экспрессией и различным уровнем коактиваторов и корепрессоров в разных тканях, возможностью и эффективностью взаимодействия лиганда с ядерным рецептором другого стероида, а также представленностью в ткани мембранных рецепторов этого же стероида [15].

В качестве примера можно привести участие ядерных рецепторов эстрогенов ER α и ER β в проявлении смешанных агонистических/анта-

гонистических свойств синтетических эстрогенов *in vivo*. Ядерные ER α и ER β представляют собой продукты разных генов, их варианты могут также экспонироваться на мембране и осуществлять сигнализацию негеномным путем. ER α проводит антиапоптозный сигнал за счет активации MAPK и Akt, а ER β стимулирует апоптоз через p38. Профиль экспрессии этих рецепторов зависит от типа ткани: ER α преобладает в гепатоцитах, клетках гиппокампа, ER β — в клетках простаты, яичников, легких. В клетках молочной железы, костной ткани, матки и ряда других органов их представленность сходна. Домен NTD двух рецепторов, содержащий активаторную функцию AF1, имеет только 17% гомологии, а лигандсвязывающий домен, содержащий AF2, — 55%. Размер лигандсвязывающих карманов ER α и ER β также различается. Лигандная специфичность ER α и ER β сходна в отношении связывания природных эстрогенов и тамоксифена, но фитоэстрогены взаимодействуют преимущественно с ER β . С помощью микроматриц продемонстрировано, что различия в структуре AF1 и AF2 двух рецепторов приводят к рекрутизации специфичных для разных рецепторов коактиваторов и корегуляторов конденсации и деконденсации хроматина и модуляции экспрессии разных генов-мишеней. Два этих рецептора отличаются также по способности регуляции транскрипции в отсутствие лиганда. Как показано с помощью микроматриц в модельной системе клеток U2OS-ER β , для регуляции транскрипции с помощью ER α практически всегда требуется лиганд, тогда как ER β в отсутствие лиганда регулирует транскрипцию 453 генов, и 258 генов регулируется им только в связанной с лигандом форме. Еще одну группу генов, регулируемых ER β , составляют гены, транскрипция которых модулируется ER β без лиганда, но усиливается при добавлении эстрадиола. Действие ER β без лиганда опосредуется AF2, т.к. ее удаление или замена на AF2 ER α ведет к исчезновению эффекта. Известно, что агонисты ER α отвечают за поддержание структуры костной ткани и регуляцию активности жировой ткани, а гетеродимеризация таких комплексов с ER β препятствует реализации данного эффекта. ER α опосредуют пролиферативный эффект эстрогенов на клетки молочной железы, а ER β — антипролиферативный, в т.ч. за счет гетеродимеризации с ER α . В этой связи считается, что ER α участвуют в стимуляции прогрессии рака молочной железы, а ER β оказывают супрессорное действие на опухоль. В настоящее время уже синтезированы агонисты, специфичные для каждого подтипа рецептора при тестировании по биологической активности *in vivo* [5, 15, 22–29].

Другим примером зависимости направленности эффекта от вариантов рецептора являются изоформы рецептора прогестерона — PRA и PRB. PRB является сильным активатором транскрипции ряда генов с прогестеронзависимыми промоторами в различных типах клеток, в которых PRA неактивен. Кроме того, при колокализации PRA и PRB в клетке PRA выступает как репрессор активности PRB за счет образования гетеродимерных комплексов. Опыты с дифференциальным нокаутом PRA и PRB показали, что PRA, но не PRB, отвечает за овуляцию, децидуализацию матки и имплантацию зародыша, а PRB — за развитие лобуло-альвеолярного аппарата молочной железы при беременности. С использованием двугибридного анализа и анализа профиля экспрессии генов в клетках T47D под действием панели чистых и смешанных агонистов/антагонистов прогестерона показано, что каждый из них вызывает индивидуальные изменения профиля экспрессии генов [7, 10, 30–32]. Таким образом, аналог прогестерона, обладающий разным сродством к разным изоформам рецептора прогестерона, будет выступать как его агонист или антагонист на уровне ткани в зависимости от отдельной или совместной экспрессии двух изоформ рецептора в клетке, соотношения в ней гомо- и гетеродимеров изоформ. Кроме того, на уровне целого организма соотношение антагонистических и агонистических свойств конкретного прогестина будет зависеть также от его связывания с андрогенными, глюко- и минералокортикоидными рецепторами.

Механизмы *in vitro*. Особенности взаимодействия лигандов с гормонсвязывающим карманом рецептора. Ряд исследователей предлагает ранжировать конкурентные агонисты и антагонисты по сайтам их взаимодействия с гормонсвязывающим карманом рецептора с учетом того, что эти сайты хотя и перекрываются, но не всегда совпадают. В середине 90-х гг. продемонстрировано, что делеция 54 а.о. С-конца рецептора прогестерона по-разному влияет на сродство рецептора к агонисту прогестерону (снижает) и антагонисту RU486 (не меняет), причем при взаимодействии с таким мутантным рецептором RU486 начинает работать не как антагонист, а как агонист. Другие мутации лигандсвязывающего кармана рецептора прогестерона, в частности 722Gly-Cys, снижают сродство рецептора к RU486, не влияя на сродство к прогестерону. Эти данные подтверждаются при использовании моноклональных антител к карбоксиконцу рецептора прогестерона. Предполагается, что карбоксильный конец полноразмерного ядерного рецептора может служить репрессором

транскрипции, агонисты, связываясь с гормон-связывающим доменом ближе к его карбокси-концу, снимают эту репрессию, а антагонисты, связываясь с аминокислотными остатками ближе к аминоконцу кармана, таким эффектом не обладают в случае полноразмерного рецептора, но этот эффект у них проявляется, если С-конец рецептора удален или заблокирован антителами. Механизм взаимодействия с лигандсвязывающим доменом смешанных агонистов/антагонистов, как предполагается, отличается и от агонистов, и от антагонистов и, видимо, включает взаимодействие и с amino-, и с карбокси-участками гормонсвязывающего кармана [10, 31, 33].

Показано, что степень активации транскрипции не всегда является отражением связывающего сродства ядерного рецептора к лиганду. Для лигандов рецептора прогестерона RTI 3021-012 и RTI 3021-022, являющихся также антагонистами рецептора глюкокортикоидов, обнаружено отсутствие корреляции между связывающим сродством и их антагонистической глюкокортикоидной активностью. В опытах с ядерным рецептором PPAR γ , действующим сходно с рецепторами стероидов, показано, что сильный агонист розиглитазон имел на 2 порядка более низкое сродство, чем менее сильный агонист MRL24, но вызывал более сильную стабилизацию области AF2/12-я спираль [10, 31, 34].

Роль димеризации и взаимодействия гормон-рецепторных комплексов с SRE ДНК. Считается, что полная транскрипционная активность стероид-рецепторного комплекса возникает при синергичной работе AF1 и AF2, возникающей за счет N/C-взаимодействия, ведущего к димеризации. Однако эти функции могут работать и независимо. N-концевая AF-1 может взаимодействовать также с DBD, что способствует модуляции структурных функций ядерного рецептора [5, 11, 17, 18, 35]. Совместная или раздельная работа AF1 и AF2 зависит от типа гена, т.е. от селективности его промоторной области. Например, гены, регулируемые дексаметазон-рецепторным комплексом, делятся на зависимые от AF1 (ген инсулинсвязывающего белка), зависимые от AF2 (гены *PGDF*, *SGK* и др.), и гены, зависимые от обеих AF1 и AF2 (ген *16PK*) [15]. Таким образом, процесс гомодимеризации является многоступенчатым событием, вовлекающим в зависимости от природы лиганда разные домены рецептора, включая ID-домены NBD, способные принимать динамические варианты конформаций, отличающиеся у чистых и смешанных агонистов и антагонистов.

Еще в начале 90-х гг. прошлого века на базе исследований действия антипрогестинов в клетках T47D была предложена классификация ан-

тагонистов стероидов на основе особенностей взаимодействия гормон-рецепторных комплексов с конкретными SREs ДНК и выраженности их транскрипционной активности [9]. Т.к. С-концевое расширение (СТЕ) ДНК-связывающего домена и NTD, включающий AF1, представляют собой динамичные области ядерных рецепторов, они в зависимости от взаимодействия с конкретным SRE ДНК принимают индивидуальную конформацию, что отражается на селективности действия смешанных агонистов/антагонистов. В настоящее время SREs ДНК рассматриваются не только как сайты докинга гормон-рецепторных комплексов, но и как специфичные по структуре партнеры связывания гормон-рецепторных комплексов, индуцирующие индивидуальные изменения конформации рецептора, разрешающие или запрещающие взаимодействие с конкретным коактиватором. Это возможно в результате неполной идентичности SRE для одного рецептора в различных генах (отличающихся по размеру и составу нуклеотидов спейсера, а также одиночным нуклеотидным различиями в областях палиндромов, прямых или обратных повторов SRE) [21]. Существует ряд доказательств изменений эффекторных доменов рецептора после взаимодействия с SRE ДНК. Связывание глюкокортикоид-рецепторного комплекса с SRE ДНК индуцирует изменение вторичной структуры его домена AF1, стабилизируя ее. Показано, что в результате связывания ER с различными последовательностями SRE домен AF2 этого рецептора взаимодействует с разными регуляторами транскрипции. Установлено также, что проявление смешанной агонистической/антагонистической активности стероида зависит не только от нуклеотидной последовательности SRE конкретного гена, но и от транскрипционных факторов, находящихся в непосредственной близости от гормон-рецепторного комплекса, связанного с данным SRE [17, 21, 36, 37].

Модуляция сайта взаимодействия с коактиваторами. В активации транскрипции участвуют три поверхности ядерного рецептора: AF1, AF2 и домен димеризации. Большинство коактиваторов ядерных рецепторов взаимодействует с AF2 LBD, но некоторые коактиваторы могут взаимодействовать с NTD и модулировать активность AF1. С NTD могут связываться и некоторые корепрессоры. Сайтом взаимодействия с корегуляторными белками может быть также С-концевое расширение (СТЕ) в DBD [15, 17, 21].

В отличие от полных агонистов, вызывающих диссоциацию корепрессора и создающих площадку для связывания рецептора с коактиватором, смешанные агонисты/антагонисты позволяют связываться коактиваторам, но при этом

сохраняют способность связывать корепрессоры. Например, данные рентгеноструктурного анализа рецептора прогестерона показывают, что его 12-я спираль в зависимости от лиганда может принимать конформацию, характерную для действия агониста (прогестерона), при которой происходит диссоциация корепрессора и связывание коактиватора, конформацию, характерную для действия антагониста (азоприснила), сохраняя связывание с корепрессором SMRT, а в случае смешанного антагониста/агониста мифепристона положение 12-й спирали является более гибким, и он не индуцирует ее единственной фиксированной антагонистической конформации, а изменяет динамическое равновесие конформации 12-й спирали, приводя к дестабилизации агонистической конформации [17, 34].

Кроме такой аллостерической модуляции стероидом специфичности и параметров взаимодействия рецептора с коактиватором существуют данные и о прямом ингибировании сайта взаимодействия рецептора с коактиватором. В 2006 г. Ванг с соавт. [38] представили данные о ER β , связанном с двумя молекулами 4-ОН-тамоксифена. Одна из них была связана с гормонсвязывающим карманом рецептора, а другая – с бороздкой, связывающей коактиватор, которая обычно закрыта 12-й спиралью. Предполагается, что одна из молекул 4-ОН-тамоксифена способна индуцировать вторичное ингибирование связывания коактиватора. Таким образом, бороздка рецептора, связывающая коактиватор, способна связывать низкомолекулярные соединения, т.е. соединения, служащие ингибиторами связывания коактиваторов (СВИ). Сейчас СВИ с таким механизмом действия включают не только 4-ОН-тамоксифен, но и ряд пептидов со структурной гомологией с боксом 2 коактиватора TIF2 (промежуточного транскрипционного фактора 2) [39].

Кроме того, показано, что максимальная транскрипционная активность зависима от стероида гена может меняться в ответ на изменение структуры лиганда, не затрагивая параметры взаимодействия рецептора с коактиватором, а вызывая у коактиватора индивидуальные изменения конформации сайта докинга последующего участника передачи сигнала, как показано для рецептора глюкокортикоидов и TIF2 [40].

Зависимость направленности эффекта лиганда от концентрации транскрипционного корегулятора. Хотя современный дизайн селективных модуляторов рецепторов стероидов, проявляющих смешанную агонистическую/антагонистическую активность *in vitro*, направлен на дифференциальную стероидную модуляцию сайта взаимодействия AF2 с корегуляторным белком, направленность конечного ответа системы

экспрессии гена зависит также от концентрации корегуляторов в данной клетке.

Роль уровня корегуляторов в направленности действия стероида особенно отчетливо показана на примере тамоксифена. Тамоксифен работает как антагонист эстрогенов в молочной железе, индуцируя конформационные изменения ER α , которые существенно снижают или аннулируют его способность взаимодействовать с коактиватором. Однако вклад этих конформационных изменений может быть преодолен при увеличении концентрации коактиватора в клетке, и в этом случае тамоксифен начинает действовать как агонист эстрогенов. Ряд фактов подтверждает эту концепцию. Например, возникновение устойчивости к антиэстрогенному действию тамоксифена в опухолях молочной железы коррелирует с ростом экспрессии коактиваторов ER α SRC-1 и SRC-3. Специально проведенные эксперименты в дрожжевой системе с репортерным геном показали, что при взаимодействии тамоксифена с ER α его активность меняется с антагонистической на агонистическую после разрушения корепрессора. В дальнейшем с помощью включения разного количества экспрессионных векторов с коактиватором SRC-1 или корепрессором SMRT в клетки HepG2, в которых 4-ОН-тамоксифен действует как агонист ER α , показано, что направленностью активности 4-ОН-тамоксифена можно управлять: экспрессия экзогенного коактиватора SRC-1 дозозависимо усиливает агонистическую активность 4-ОН-тамоксифена, а экспрессия корепрессора SMRT снижает его агонистическую активность, не влияя на активность эстрадиола. Коэкспрессия этого корепрессора и коактиватора SRC-1 также ингибирует агонистическую активность 4-ОН-тамоксифена. В аналогичных экспериментах при ко-трансфекции в клетки U2OS разных концентраций плазмид, несущих TIF2, с постоянным количеством плазмиды, несущей глюкокортикоидный рецептор, показано, что степень повышения TA_{max} и снижения EC_{50} индукции экспрессии репортерного белка люциферазы в трансфицированных клетках под действием дексаметазона зависит от концентрации коактиватора TIF2 [17, 37, 41, 42].

МЕХАНИЗМЫ НЕЗАВИСИМОЙ РЕГУЛЯЦИИ РАЗЛИЧНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ (TA_{max} , EC_{50} , PAA) ТРАНСКРИПЦИОННОЙ АКТИВНОСТИ СТЕРОИДА

Селективная для гена модуляция параметров его индукции и способность отдельно изменять TA_{max} , EC_{50} и PAA обнаружена для всех стероид-

рецепторных комплексов. Известно, что в регуляции TA_{max} гораздо больше участвует трансактиваторный домен AF1 NTD, чем AF2 LBD, кроме того, она регулируется особенностями димеризации [1]. Доказана возможность раздельной регуляции TA_{max} и EC_{50} . Логика эксперимента заключалась в следующем: с помощью трансфекции siRNA, направленной против эндогенного коактиватора TIF2, в PBMCs существенно подавляли уровень TIF2, затем к культуре добавляли глюкокортикоид и оценивали параметры индукции мРНК трех разных генов (*GILZ*, *CD163* и *THBS1*). Снижение эндогенного белка TIF2 по-разному влияло на исследуемые гены – ни один из параметров CD163 существенно не изменялся, и только некоторые менялись у *GILZ* и *THBS1*, причем эти параметры отличались – у *THBS1* при снижении TIF2 изменялась только EC_{50} при сохранении TA_{max} , а у *GILZ*, наоборот, EC_{50} не менялась, но снижалась TA_{max} [1, 40, 43].

Представление о том, что EC_{50} и TA_{max} всегда изменяются пропорционально связывающему средству лиганда, сейчас также подвергается сомнению. Так, с помощью рентгеноструктурного анализа отобраны мутации лигандсвязывающего кармана, дискриминирующие связывание двух структурно различных глюкокортикоидов – дексаметазона и дезацилкортивазола (DAC). Они слабо влияли на связывающее средство этих стероидов к рецептору глюкокортикоидов. Те же мутации при индукции экспрессии двух репортерных генов вызывали существенный рост EC_{50} , превышающий предсказанный на основе изменений связывающего средства стероидов в 15–90 раз. Возникало также зависимое от лиганда снижение TA_{max} , более выраженное для дексаметазона [1, 44]. Ключевые данные, приведшие к пониманию механизмов роста EC_{50} в этом случае, основываются на опытах с укороченным глюкокортикоидным рецептором, у которого не присутствует трансактиваторный домен AF1. Такая мутация не меняет средство TIF2 к стероид-рецепторному комплексу, а параметры транскрипционной активности – TA_{max} , EC_{50} и PAA – регулируются коактиватором TIF2 и другими сходно с полноразмерным рецептором [45]. В этих условиях добавление TIF2 к укороченному глюкокортикоидному рецептору вызывало намного большее снижение EC_{50} для одного лиганда (DAC) по сравнению с другим лигандом (дексаметазоном). Таким образом, модификация третичной структуры связанного с рецептором TIF2 зависит от типа лиганда и более выражена при связывании мутантного глюкокортикоидного рецептора с дексаметазоном, чем при связывании с DAC. Аналогич-

ные результаты получены для другого транскрипционного корегулятора Ubc9 при использовании сходной схемы экспериментов и доказательстве одинакового средства связывания рецептора с двумя различными глюкокортикоидами методом совместной иммунопреципитации [40, 44, 46].

Способность корегуляторов селективно модулировать один или более параметров индукции транскрипции в зависимости от лиганда указывает на то, что один набор молекулярных взаимодействий контролирует TA_{max} , и что примерно в тех же условиях другие взаимодействия определяют EC_{50} и PAA, т.е. модуляция EC_{50} и PAA должна требовать определенных поверхностей рецептора и определенных корегуляторов, которые отличаются от вовлеченных в модуляцию TA_{max} .

Из изложенного ясно, что в отличие от классической модели действия лигандов стероидных рецепторов по принципу «включения–выключения» каждый лиганд вызывает индивидуальные изменения рецепторной поверхности, создавая зависимые от лиганда площадки для серии последующих белок-белковых взаимодействий. В этой связи вместо кривых Хилла, описывающих реакцию как одностадийную, для такого многостадийного процесса, как индукция транскрипционной активности, предложена математическая модель, описывающая последовательную серию реакций образования комплексов. В модели учитывается, что комплексы связаны относительно слабо и существуют только временно, но все они биологически активны. Модель проверена и точно воспроизводит кривые индукции транскрипции при разных концентрациях эндогенного рецептора глюкокортикоидов и корегулятора Ubc9 [3, 47–49].

Таким образом, эволюция представлений о чистых и смешанных агонистах/антагонистах, взаимодействующих с LBD рецепторов стероидов, привела к возникновению нового термина «селективные для контекста модуляторы» (COSMOs), где под контекстом подразумевается контекст промотора конкретного зависимого от стероида гена, включая особенности структуры и расположения SREs, и контекст специфических корегуляторов, взаимодействующих с различными поверхностями рецептора после связывания лиганда и взаимодействия гормон-рецепторного комплекса с ДНК [39, 50–53].

В то же время становится ясно, что агонисты и антагонисты, влияющие на транскрипционную активность рецепторов стероидов, могут разрабатываться не только на уровне взаимодействия лиганда с гормонсвязывающим карма-

ном рецептора, но и на уровне всех последующих этапов индукции транскрипционного эффекта. В этой связи предложено несколько ключевых точек регуляции транскрипционной активности стероидного рецептора: 1) связывающая функция 1 (BF1) – лигандсвязывающий карман LBD, взаимодействующий с агонистами или антагонистами стероидов; 2) связывающая функция 2 (BF2) – гидрофобная щель из 6–8 а.о., образующаяся в AF2 после связывания агониста и связывающая коактиваторы (например, SRCs), способная взаимодействовать со своим классом ингибиторов связывания коактиваторов (CIBs); 3) связывающая функция 3 (BF3) – ранее неизвестный сайт гидрофобного связывания, сходный по размерам с AF2, находящийся рядом с соединением спирали H1, петель H3–H5 и спирали H9. Кроме того, в молекуле

ядерного рецептора существуют другие сайты для ингибирующих соединений, например, поверхность димеризации и цинковые пальцы DBD. Выявление таких сайтов и взаимодействующих с ними соединений стало возможным благодаря рентгеноструктурному анализу комплексов димеров гормон-рецепторных комплексов с ДНК. Эти соединения получили название модуляторов альтернативных сайтов ядерных рецепторов (NRAMs). Наконец, транскрипционная активность стероид-рецепторного комплекса может регулироваться соединениями, взаимодействующими с малой бороздкой консенсусной последовательности гормончувствительного элемента ДНК [39, 51, 54–56].

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант 14-04-01021).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Simons, S.S., and Chow, C.C. (2012) The road less traveled: new views of steroid receptor action from the path of dose-response curves, *Mol. Cell. Endocrinol.*, **348**, 373–382.
2. Dougherty, E.J., Guo, C., Simons, S.S., and Chow, C.C. (2012) Deducing the temporal order of cofactor function in ligand-regulated gene transcription: theory and experimental verification, *PLoS One*, **7**, 1–10.
3. Ong, K.M., Blackford, J.A., Kagan, B.L., Simons, S.S., and Chow, C.C. (2010) A theoretical framework for gene induction and experimental comparisons, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **107**, 7107–7112.
4. Feng, Q., and O'Malley, B.W. (2014) Nuclear receptor modulation – role of coregulators in selective estrogen receptor modulator (SERM) actions, *Steroids*, **90**, 39–43.
5. Martinkovich, S., Shah, D., Planey, S.L., and Arnott, J. (2014) Selective estrogen receptor modulators: tissue specificity and clinical utility, *Clin. Interv. Aging*, **20**, 1437–1452.
6. Chabbert-Buffet, N., Meduri, G., Bouchard, P., and Spitz, I.M. (2005) Selective progesterone receptor modulators and progesterone antagonists: mechanisms of action and clinical applications, *Hum. Reprod. Update*, **11**, 293–307.
7. Afhuppe, W., Sommer, A., Muller, J., Schwede, W., Fuhrmann, U., and Moller, C. (2009) Global gene expression profiling of progesterone receptor modulators in T47D cells provides a new classification system, *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, **113**, 105–115.
8. Chabbert-Buffet, N., Pintiaux, A., and Bouchard, P. (2012) The imminent dawn of SPRMs in obstetrics and gynecology, *Mol. Cell. Endocrinol.*, **358**, 232–243.
9. Klein-Hitpass, L., Cato, A.C.B., Henderson, D., and Ryffel, G.U. (1991) Two types of antiprogestins identified by their differential action in transcriptionally active extracts from T47D cells, *Nucleic Acid Res.*, **19**, 1227–1234.
10. Wagner, B.L., Norris, J.D., Knotts, T.A., and Weigel, N.L. (1998) The nuclear corepressors NCoR and SMRT are key regulators of both ligand- and 8-bromo-cyclic AMP-dependent transcriptional activity of the human progesterone receptor, *Microbiology*, **18**, 1369–1378.
11. Schoch, G.A., Arcy, B.D., Stihle, M., Burger, D., Bar, D., Benz, J., Thoma, R., and Ruf, A. (2010) Molecular switch in the glucocorticoid receptor: active and passive antagonist conformations, *J. Mol. Biol.*, **395**, 568–577.
12. Pecci, A., Alvarez, L.D., Veleiro, A.S., Ceballos, N.R., Lantos, C.P., and Burton, G. (2009) New lead compounds in the search for pure antiglucocorticoids and the dissociation of antiglucocorticoid effects, *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, **113**, 155–162.
13. Allan, G.F., Palmer, E., Musto, A., Lai, M.-T., Clancy, J., and Palmer, S. (2006) Molecular properties and preclinical pharmacology of JNJ-1250132, a steroidal progesterone receptor modulator that inhibits binding of the receptor to DNA *in vitro*, *Steroids*, **71**, 578–584.
14. Germain, P., and Bourguet, W. (2013) Dimerization of nuclear receptors, *Methods Cell Biol.*, **117**, 21–41.
15. Kumar, R., and McEwan, I.J. (2012) Allosteric modulators of steroid hormone receptors: structural dynamics and gene regulation, *Endocr. Rev.*, **33**, 271–299.
16. Fang, L., Ricketson, D., Getubig, L., and Darimont, B. (2006) Unliganded and hormone-bound glucocorticoid receptors interact with distinct hydrophobic sites in the Hsp90 C-terminal domain, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **103**, 18487–18492.
17. Hill, K.K., Roemer, S.C., Churchill, M.E., and Edwards, D.P. (2012) Structural and functional analysis of domains of the progesterone receptor, *Mol. Cell. Endocrinol.*, **348**, 418–429.
18. Helsen, C., and Claessens, F. (2014) Looking at nuclear receptors from a new angle, *Mol. Cell. Endocrinol.*, **382**, 97–106.
19. Centenera, M.M., Harris, J.M., Tilley, W.D., and Butler, L.M. (2008) The contribution of different androgen receptor domains to receptor dimerization and signaling, *Mol. Endocrinol.*, **22**, 2373–2382.
20. Daniels, G., Jha, R., Shen, Y., Logan, S.K., and Lee, P. (2014) Androgen receptor coactivators that inhibit prostate cancer growth, *Am. J. Clin. Exp. Urol.*, **2**, 62–70.
21. Meijsing, S.H., Pufall, M.A., So, A.Y., Bates, D.L., Chen, L., and Yamamoto, K.R. (2009) DNA binding site sequence directs glucocorticoid receptor structure and activity, *Science*, **324**, 407–410.

22. Oseni, T., Patel, R., Pyle, J., and Jordan, V.C. (2008) Selective estrogen receptor modulators and phytoestrogens, *Planta Med.*, **74**, 1656–1665.
23. Mote, P.A., Arnett-Mansfield, R.L., Gava, N., DeFazio, A., Mulac-Jericevic, B., Conneely, O.M., and Clarke, C.L. (2006) Overlapping and distinct expression of progesterone receptors A and B in mouse uterus and mammary gland during the estrous cycle, *Endocrinology*, **147**, 5503–5512.
24. Jacobsen, B.M., and Horwitz, K.B. (2012) Progesterone receptors, their isoforms and progesterone regulated transcription, *Mol. Cell. Endocrinol.*, **357**, 18–29.
25. Leitman, D.C., Paruthiyil, S., Vivar, O.I., Saunier, E.F., Candice, B., Cohen, I., Tagliaferri, M., and Speed, T.P. (2010) Regulation of specific target genes and biological responses by estrogen receptor subtype agonists, *Curr. Opin. Pharmacol.*, **10**, 629–636.
26. Fox, E.M., Davis, R.J., and Shupnik, M.A. (2008) ER β in breast cancer – onlooker, passive player, or active protector? *Steroids*, **73**, 1039–1051.
27. Vivar, O.I., Zhao, X., Saunier, E.F., Griffin, C., Mayba, O.S., Tagliaferri, M., Cohen, I., Speed, T.P., and Leitman, D.C. (2010) Estrogen receptor beta binds to and regulates three distinct classes of target genes, *J. Biol. Chem.*, **285**, 22059–22066.
28. Hertrampf, T., Seibel, J., Laudenbach, U., Fritze-meier, K.H., and Diel, P. (2008) Analysis of the effects of oestrogen receptor alpha (ERalpha)- and ERbeta-selective ligands given in combination to ovariectomized rats, *Br. J. Pharmacol.*, **153**, 1432–1437.
29. Seidlova-Wuttke, D., Prella, K., Fritze-meier, K.H., and Wuttke, W. (2008) Effects of estrogen receptor alpha- and beta-selective substances in the metaphysis of the tibia and on serum parameters of bone and fat tissue metabolism of ovariectomized rats, *Bone*, **43**, 849–855.
30. Mulac-Jericevic, B., and Conneely, O.M. (2004) Reproductive tissue selective actions of progesterone receptors, *Reproduction*, **128**, 139–146.
31. Wagner, B.L., Pollio, G., Giangrande, P., Webster, J.C., Breslin, M., Mais, D.E., Cook, C.E., Vedeckis, W.V., Cidlowski, J.A., and McDonnell, D.P. (1999) The novel progesterone receptor antagonists RTI 3021-012 and RTI 3021-022 exhibit complex glucocorticoid receptor antagonist activities: implications for the development of dissociated antiprogestins, *Endocrinology*, **140**, 1449–1458.
32. Moore, N.L., Hickey, T.E., Butler, L.M., and Tilley, W.D. (2012) Multiple nuclear receptor signaling pathways mediate the actions of synthetic progestins in target cells, *Mol. Cell. Endocrinol.*, **357**, 60–70.
33. Wagner, B.L., Pollio, G., Leonhardt, S., Wani, M.C., Lee, D.Y., Imhof, M.O., Edwards, D.P., Cook, C.E., and McDonnell, D.P. (1996) 16 alpha-substituted analogs of the antiprogesterin RU486 induce a unique conformation in the human progesterone receptor resulting in mixed agonist activity, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **93**, 8739–8744.
34. Kojetin, D.J., and Burris, T.P. (2013) Small molecule modulation of nuclear receptor conformational dynamics: implications for function and drug discovery, *Mol. Pharmacol.*, **83**, 1–8.
35. Kumar, R., and Litwack, G. (2009) Structural and functional relationships of the steroid hormone receptors' N-terminal transactivation domain, *Steroids*, **74**, 877–883.
36. Hall, J.M., McDonnell, D.P., and Korach, K.S. (2002) Allosteric regulation of estrogen receptor structure, function, and coactivator recruitment by different estrogen response elements, *Mol. Endocrinol.*, **16**, 469–486.
37. Wardell, S.E., Nelson, E.R., and McDonnell, D.P. (2014) From empirical to mechanism-based discovery of clinically useful selective estrogen receptor modulators (SERMs), *Steroids*, **90**, 30–38.
38. Wang, L.H., Yang, X.Y., Zhang, X., An, P., Kim, H.J., Huang, J., Clarke, R., Osborne, C.K., Inman, J.K., Appella, E., and Farrar, W.L. (2006) Disruption of estrogen receptor DNA-binding domain and related intramolecular communication restores tamoxifen sensitivity in resistant breast cancer, *Cancer Cell*, **10**, 487–499.
39. Moore, T.W., Mayne, C.G., and Katzenellenbogen, J.A. (2010) Minireview: not picking pockets: nuclear receptor alternate-site modulators (NRAMs), *Mol. Endocrinol.*, **24**, 683–695.
40. Biggadike, K., Bledsoe, R.K., Coe, D.M., Cooper, T.W.J., House, D., Iannone, M., MacDonald, S.J.F., Madauss, K.P., McLay, I.M., Shipley, T.J., Taylor, S.J., Tran, T.B., Uings, I.J., Weller, V., and Williams, S.P. (2009) Design and X-ray crystal structures of high-potency nonsteroidal glucocorticoid agonists exploiting a novel binding site on the receptor, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **106**, 18114–18119.
41. Smith, C.L., Nawaz, Z., and O'Malley, B.W. (1997) Coactivator and corepressor regulation of the agonist/antagonist activity of the mixed antiestrogen, 4-hydroxytamoxifen, *Mol. Endocrinol.*, **11**, 657–666.
42. Redmond, A.M., Bane, F.T., Stafford, A.T., McIlroy, M., Dillon, M.F., Crotty, T.B., Hill, A.D., and Young, L.S. (2009) Coassociation of estrogen receptor and p160 proteins predicts resistance to endocrine treatment; SRC-1 is an independent predictor of breast cancer recurrence, *Clin. Cancer Res.*, **15**, 2098–2106.
43. Luo, M., and Simons, S.S. (2009) Modulation of glucocorticoid receptor inhibition properties by cofactors in peripheral blood mononuclear cells, *Hum. Immunol.*, **70**, 785–789.
44. Tao, Y., Xu, Y., Xu, H.E., and Simons, S.S. (2008) Mutations of glucocorticoid receptor differentially affect AF2 domain activity in a steroid-selective manner to alter the potency and efficacy of gene induction and repression, *Biochemistry*, **47**, 7648–7662.
45. Cho, S., Kagan, B.L., Blackford, J.A., Szapary, D., and Simons, S.S. (2005) Glucocorticoid receptor ligand binding domain is sufficient for the modulation of glucocorticoid induction properties by homologous receptors, coactivator transcription intermediary factor 2, and Ubc9, *Mol. Endocrinol.*, **19**, 290–311.
46. Lee, G.S., and Simons, S.S. (2011) Ligand binding domain mutations of the glucocorticoid receptor selectively modify the effects with, but not binding of cofactors, *Biochemistry*, **50**, 356–366.
47. Kim, Y., Sun, Y., Chow, C., Pommier, Y.G., and Simons, S.S. (2006) Effects of acetylation, polymerase phosphorylation, and DNA unwinding in glucocorticoid receptor transactivation, *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, **100**, 3–17.
48. Nagaich, A.K., Walker, D.A., Wolford, R., and Hager, G.L. (2004) Rapid periodic binding and displacement of the glucocorticoid receptor during chromatin remodeling, *Mol. Cell*, **14**, 163–174.
49. Stavreva, D.A., Muller, W.G., Hager, G.L., Smith, C.L., and McNally, J.G. (2004) Rapid glucocorticoid receptor exchange at a promoter is coupled to transcription and regulated by chaperones and proteasomes, *Mol. Cell. Biol.*, **24**, 2682–2697.
50. Berrodin, T.J., Jelinsky, S.A., Graciani, N., Butera, J.A., Zhang, Z., Nagpal, S., Winneker, R.C., and Yudt, M.R. (2009) Novel progesterone receptor modulators with gene selective and context-dependent partial agonism, *Biochem. Pharmacol.*, **77**, 204–215.
51. Estebanez-Perpina, E., Arnold, L.A., Nguyen, P., Rodrigues, E.D., Mar, E., Bateman, R., Pallai, P., Shokat, K.M., Baxter, J.D., Guy, R.K., Webb, P., and Fletterick, R.J. (2007) A surface on the androgen receptor that

- allosterically regulates coactivator binding, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **104**, 16074–16079.
52. Parent, A.A., Gunther, J.R., and Katzenellenbogen, J.A. (2008) Blocking estrogen signaling after the hormone: pyrimidine-core inhibitors of estrogen receptor-coactivator binding, *J. Med. Chem.*, **51**, 6512–6530.
 53. Hwang, J.Y., Arnold, L.A., Zhu, F., Kosinski, A., Mangano, T.J., Setola, V., Roth, B., and Guy, R.K. (2009) Improvement of pharmacological properties of irreversible thyroid receptor coactivator binding inhibitors, *J. Med. Chem.*, **52**, 3892–3901.
 54. Chandra, V., Huang, P., Hamuro, Y., Raghuram, S., Burris, T.P., and Rastinejad, F. (2008) Structure of the intact PPAR- γ -RXR α nuclear receptor complex on DNA, *Nature*, **456**, 350–356.
 55. Gunther, J.R., Parent, A.A., and Katzenellenbogen, J.A. (2009) Alternative inhibition of androgen receptor signalling: peptidomimetic pyrimidines as direct androgen receptor/coactivator disruptors, *ACS Chem. Biol.*, **4**, 435–440.
 56. Huang, H., Wang, H., Sinz, M., Zoeckler, M., Staudinger, J., Redinbo, M.R., Teotico, D.G., Locker, J., Kalpana, G.V., and Mani, S. (2007) Inhibition of drug metabolism by blocking the activation of nuclear receptors by ketoconazole, *Oncogene*, **26**, 258–268.

COMPETITIVE AGONISTS AND ANTAGONISTS OF NUCLEAR STEROID RECEPTORS: EVOLUTION OR ALIGNMENT OF A CONCEPT

O. V. Smirnova

*M. V. Lomonosov Moscow State University, Biological Faculty,
Moscow 119991, Russia; fax: +7(495)939-4309,
E-mail: smirnova_ov@mail.ru*

Received April 12, 2015

Revision received May 5, 2015

Mechanisms of manifestation of pure and mixed agonistic/antagonistic steroid activity and mode of action of selective modulators of steroid receptors *in vivo* depending on the cellular or tissue types and interaction with different types of nuclear receptor were analyzed. The mechanism of steroid action as mixed agonist/antagonist *in vitro* depending on the features of its interaction with receptor hormone binding pocket, steroid allosteric modulation of interaction of hormone receptor complex with DNA hormone responsible elements, and peculiarities of hormone receptor complex interaction with protein coregulators of transcription and the level and the tissue-specific panel of coregulators of transcription were examined. A new conception of context-selective modulators instead of the conception of steroid agonists and antagonists is discussed.

Key words: pure agonists and antagonists, mixed agonists/antagonists, nuclear steroid receptors, steroid response elements of DNA, coregulators of transcription