

Alicja Grzanka, Jerzy Jarząb

Katedra i Oddział Kliniczny Chorób Wewnętrznych, Dermatologii i Alergologii w Zabrzu Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach
 Kierownik: dr hab. n. med. J. Jarząb

Niegenomowy mechanizm działania glikokortykosteroidów

Nongenomic effects of glucocorticoids

Abstract

The review describes current advances in the knowledge on the mechanisms of glucocorticoid (GC) action. According to the classic genomic model, GCs bind to intracellular receptors and subsequently regulate (directly or indirectly) gene transcription and synthesis of proteins responsible for inflammatory processes. The nongenomic effects of GCs, occur rapidly within seconds or minutes of drug administration, are mediated via a cytosolic but first of all by membrane GC receptors and lead to activation of multiple signal transduction pathways of protein kinases (MAPK, Src, PI3K), cation channels or G protein-coupled receptors. Nongenomic effects may also occur without receptor involvement. The elucidation of nongenomic actions provides new insights for the understanding of their anti-inflammatory and immunosuppressive GC effects.

Key words: glucocorticoids, nongenomic and genomic action

Pneumonol. Alergol. Pol. 2009; 77: 387–393

Streszczenie

W pracy przedstawiono aktualną wiedzę dotyczącą mechanizmów działania glikokortykosteroidów (GK). Zgodnie z klasycznym modelem działania, określanym jako genomowy, GK wpływają (bezpośrednio lub pośrednio) na transkrypcję i translację genów kodujących mediatory procesu zapalnego. Aktualne badania podkreślają jednak znaczenie nietranskrypcyjnych oddziaływań GK, które ujawniają się szybko — od kilkunastu sekund do kilkunastu minut. W niegenomowym mechanizmie działania GK zasadniczą rolę odgrywają interakcje z receptorami GK zlokalizowanymi w cytoplazmie, ale przede wszystkim w błonie komórkowej, które aktywują wiele szlaków sygnałowych kinaz (MAPK, Src, PI3K) i kanałów jonowych, a także szlaki sygnałowe związane z receptorami sprzężonymi z białkiem G. Udowodniono także przekaz sygnału bez udziału receptora dla GK. Odkrycie niegenomowego mechanizmu GK pozwala lepiej zrozumieć ich przeciwzapalne i immunosupresyjne działanie.

Słowa kluczowe: glikokortykosteroidy, niegenomowe i genomowe działanie

Pneumonol. Alergol. Pol. 2009; 77: 387–393

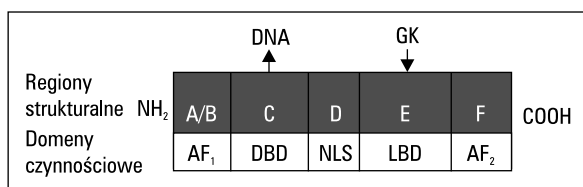
Niegenomowy mechanizm działania glikokortykosteroidów

Glikokortykosteroidy (GK) są hormonami niezbędnymi dla życia człowieka, a ich pochodne stanowią najważniejszą grupę leków o działaniu przeciwzapalnym. Żadna inna grupa leków nie wykazuje tak wielokierunkowego działania. Od ponad 60 lat odkrywa się kolejne mechanizmy działania GK i chociaż dobrze

poznano już ich wpływ na zahamowanie lub aktywację procesów transkrypcji, translacji i syntezy swoistych białek, to dopiero w ostatnich latach scharakteryzowano ich wpływy pozagenomowe, co pozwoliło na lepsze zrozumienie działania GK. Okazało się również, że GK działają nie tylko w jądrze i cytoplazmie, ale także w błonie komórkowej. Ta wielopoziomowość ich działania jest jednym z elementów wpływających na szeroki zakres efektów leczniczych GK.

Adres do korespondencji: dr n. med. Alicja Grzanka, Katedra i Oddział Kliniczny Chorób Wewnętrznych, Dermatologii i Alergologii SUM, ul. M. Curie-Skłodowskiej 10, 41–800 Zabrze, tel./faks: (032) 271 31 65, e-mail: alicjag@mp.pl

Praca wpłynęła do Redakcji: 9.10.2008 r.
 Copyright © 2009 Via Medica
 ISSN 0867–7077



Rycina 1. Model strukturalnych i czynnościowych domen receptora glikokortykosteroidowego; domena wiążąca DNA (DBD, *DNA binding domain*) w regionie C; domena wiążąca ligand (LBD, *ligand binding domain*) w regionie E; domeny aktywacyjne: AF₁ (region A/B) i AF₂ (region F); domena regionu D warunkująca ujawnienie się sygnału translokacji receptora do jądra (NLS, *nuclear localization signal*)

Figure 1. Model of structural and functional domains of the glucocorticoid receptor

Receptor dla glikokortykosteroidów

Jak wiadomo, większość działań fizjologicznych i farmakologicznych GK odbywa się przez swoisty receptor (ryc. 1). Receptor dla glikokortykosteroidów (GKR) nie tylko uczestniczy w przekazywaniu informacji zawartej w cząsteczce hormonu — jego rola jest szersza, gdyż jest ważnym czynnikiem transkrypcyjnym. Cząsteczka receptora ma miejsca wiążące dla GK, DNA i białek opiekuńczych, a także dla innych czynników transkrypcyjnych, jak AP-1 (*activator protein 1*), NFκB (*nuclear factor κB*), CREB (*cyclic AMP response element binding protein*), białka STAT (*signal transducers and activators of transcription*) oraz receptorów jądrowych rodziny Nur 77.

Początkowo uważano, że miejscem, gdzie pierwotnie znajdują się GKR, jest cytoplazma (cGKR), a do jądra przemieszcza się on tylko po połączeniu z ligandem w celu oddziaływania z DNA, aby nasilać lub hamować transkrypcję genów. Okazało się jednak, że jądro jest również miejscem pobytu receptora (nGKR). Receptor dla glikokortykosteroidów występuje tu wyłącznie w postaci dimeru. Z kolei w cytoplazmie występuje jako monomer, co umożliwia mu oddziaływanie typu białko-białko z innymi pozajądrowymi białkami regulacyjnymi i pośrednio, modyfikację transkrypcji genów. Oba mechanizmy działania — cytoplazmatyczny i jądrowy — określa się jako genomowe, gdyż odbywają się poprzez regulację czynności genów. Od dawna zwracano również uwagę na możliwość występowania GKR w błonie komórkowej (mGKR), jednak jego obecność w tym obszarze potwierdzono dopiero w 2004 roku dzięki specjalnemu barwieniu immunofluorescencyjnemu z zastosowaniem liposomów [1]. Poprzez receptory błonowe GK działają w mechanizmie niegenomowym, inicjując szybkie zmiany w czynności różnych ścieżek sygnałowych.

Genomowy mechanizm działania glikokortykosteroidów

Klasyczny model działania GK uwzględnia ich wpływ (bezpośredni lub pośredni) na transkrypcję i translację genów kodujących mediatory procesu zapalnego. Rezultaty tych działań pojawiają się najwcześniej po kilkudziesięciu minutach. Zrozumienie, że efekty biologiczne genomowego działania GK wymagają czasu, doprowadziło przed laty do weryfikacji ich stosowania w stanach nagłych.

Nieaktywny receptor występuje w cytoplazmie, w kompleksie z białkami opiekuńczymi. Glikokortykosteroid po wnikięciu do komórki łączy się z receptorem, co prowadzi do zmiany konformacji przestrzennej receptora i dysocjacji kompleksu białka opiekuńcze-GKR. Kompleks GK-GKR zostaje w ten sposób aktywowany i może przemieszczać się do jądra, gdzie dimeryzuje. Dopiero jako homodimer może przyłączyć się do sekwencji regulatorowych DNA, nazywanych elementami oddziałującymi z GK (GRE, *glucocorticoid response element*). Te sekwencje zawarte są w części regulatorowej genów kodujących białka syntetyzowane w odpowiedzi komórek na GK. Jeśli przyłączenie kompleksu GK-GKR prowadzi do aktywacji genu, to sekwencję GRE określamy jako pozytywną (*positive GRE*). Działanie GK w astmie związane jest z transaktywacją genów wymienionych w tabeli 1. Z kolei hamujący wpływ GK na syntezę białek określany jest jako transrepresja bezpośrednia, pośredniczy w nim negatywny GRE (*negative GRE*). Jak dotąd istnienie negatywnych GRE w regionie promotorowym udowodniono dla niewielu genów (tab. 1).

Łączenie się homodimeru GK-GKR z DNA jest sygnałem dla białek koaktywatorowych CBP (*CREB binding protein*) i pCAF (*p300-CBP associated factor*) oraz SRC-1 (*steroid receptor coactivator-1*). To ostatnie połączone jest z sekwencją domeny AF₂ receptora GK. Białka koaktywatorowe, posiadając wewnętrzną aktywność acetylazy histonowej (HAT, *histone acetyltransferase*), rozluźniają nić DNA i ułatwiają działanie polimerazy II RNA i białka wiążącego TATA (TBP, *TATA-box binding protein*), co warunkuje rozpoczęcie transkrypcji [2]. Wpływ GK na procesy acetylacji i deacetylacji histonów został szeroko omówiony w tomie 75. „Pneumonologii i Alergologii Polskiej” [3].

Glikokortykosteroidy wpływają na wiele genów bez bezpośredniego oddziaływania z DNA (tab. 1). Odbywa się to poprzez związanie czynników odgrywających rolę w rozwoju procesu zapalnego, często koaktywatorów lub korepresorów transkrypcji innych genów. Na terenie cyto-

Tabela 1. Molekularny mechanizm działania glikokortykosteroidów**Table 1. Molecular mechanisms of glucocorticoids action****Niegenomowy**

Wpływ na błonowe kanały elektrolitowe
 Potencjalizowanie działania noradrenaliny
 Aktywacja szlaków sygnałowych kinaz
 Oddziaływanie z GPCR

Genomowy**Transaktywacja***

Pobudzenie transkrypcji genów dla lipokortyny-1, β 2AR, inhibitora NF κ B: I- κ B α , inhibitora elastazy: SLP-1 (antyleukoproteaza), białka komórki Klara (CC10), antagonisty receptora IL-1, fosfatazy 1 kinaz białkowych aktywowanych mitogenami (MKP-1), GILZ

Transrepresja

Zahamowanie transkrypcji genów cytokin: IL-1, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-11, IL-13, IL-16, IL-17, IL-18, TNF- α , GM-CSF; chemokin: RANTES, MIP-1 α , eotaksyny; enzymów: indukowanej syntazy tlenu azotu, indukowanej COX 2; receptorów: NK1, receptora bradykininowego β 2 oraz innych białek: endoteliny 1

- bezpośrednia**, GK-GKR łączy się z sekwencjami nukleotydów (*negative GRE*) odpowiedzialnymi za zahamowanie transkrypcji odpowiednich genów, np. osteokalcyny, proopiomelanokortyny, kortykoliberyny
- pośrednia, GK-GKR wywiera efekt hamujący na ekspresję genów poprzez:
 - bezpośrednie związanie czynników transkrypcyjnych AP-1, NF κ B, Nur77 lub białek koaktywatorowych posiadających wewnętrzną aktywność transacetylazy histonowej — pCAF, CBP, hamują pośrednio ich wpływ na ekspresję genów
 - nasilenie syntezy białek wiązających czynniki transkrypcyjne (np. I- κ B α dla NF κ B)
 - nasilenie syntezy MKP-1 — destabilizacja mRNA dla mediatorów prozapalnych zawierających AURE, np. GM-CSF, COX-2

*Jest to również mechanizm występowania większości działań niepożądanych; **mechanizm występowania osteoporozy i supresji osi podwzgórze-przysadka-nadnercza; GPCR (*G protein coupled receptors*) — receptory błonowe sprzężone z białkiem G; NF κ B (*nuclear factor κ B*) — czynnik jądrowy κ B; I- κ B α (*inhibitor κ B α*) — białko hamujące czynnik NF κ B; MKP-1 (*mitogen-activated protein kinase phosphatase 1*) — fosfataza-1 kinaz białkowych aktywowanych mitogenami; GILZ (*glucocorticoid-induced leucine zipper protein*) — suwak leucynowy; TNF- α (*tumor necrosis factor alpha*) — czynnik martwicy nowotworów α ; GM-CSF (*granulocyte-macrophage colony-stimulating factor*) — czynnik stymulujący granulocyty i makrofagi; RANTES (*regulated on activation, normal T-cell expressed and secreted*) — chemokina β syntetyzowana przez limfocyty T; COX-2 (*cyclooxygenase 2*) — cykooksygenaza; MIP-1 α (*macrophage inflammatory protein 1 alpha*) — białko zapalne makrofagów α ; NK-1 (*neurokinin 1 receptor*) — receptor neurokininowy; pCAF (*p300/CBP associated factor*) — białko koaktywatorowe; CBP (*CREB binding protein*) — białko koaktywatorowe; AURE (*AU-rich elements*) — sekwencje mRNA bogate w adeninę i uracyl

plazmy aktywny kompleks GK-GKR działa wyłącznie jako monomer i wchodzi w bezpośrednie interakcje z białkami szlaków sygnałowych kinaz, czynnikami transkrypcyjnymi, białkami koaktywatorowymi, nie dopuszczając do ich oddziaływania w jądrze komórkowym. Glikokortykosteroidy hamują w ten sposób ekspresję wielu genów, na przykład poprzez neutralizację na terenie cytoplazmy czynników transkrypcyjnych AP-1 i NF κ B [2]. Wymienione czynniki transkrypcyjne aktywują ekspresję genów kodujących białka odpowiedzialne za procesy zapalne, genów antyapoptotycznych i genów kodujących białka regulujące proliferację komórki. Interakcja z kompleksem GK-GKR typu białko-białko znosi wymienione efekty regulacyjne na ekspresję genów. Kompleks GK-GKR na terenie cytoplazmy może również wiązać białka mające aktywność HAT (np. pCAF, CBP). Glikokortykosteroidy nasilają w ten sposób deacetylację histonów, co modyfikuje strukturę histonów na bardziej skondensowaną, ograniczając dostęp czynników transkrypcyjnych do DNA („wyciszenie genów”) [2–4].

Ten proces hamowania transkrypcji genów bez udziału DNA nazywamy transrepresją pośrednią. Najważniejsze efekty przeciwzapalne GK u chorych na astmę przebiegają w tym mechanizmie (tab. 1).

Potranskrypcyjne mechanizmy działania glikokortykosteroidów

Glikokortykosteroidy destabilizują mRNA dla mediatorów prozapalnych zawierających sekwencje bogate w adeninę i uracyl, czyli tak zwane AURE (*AU-rich elements*). Degradują w ten sposób między innymi TNF- α (*tumor necrosis factor alpha*), IL-1 β (*interleukin 1 beta*), IL-6, GM-CSF (*granulocyte-macrophage colony-stimulating factor*), COX-2 (*cyclooxygenase 2*) i eotaksynę [2, 4]. Te potranskrypcyjne mechanizmy działania wiążą się z wpływem GK na kaskadę kinaz białkowych aktywowanych mitogenami (MAPK, *mitogen activated protein kinase*) poprzez aktywację fosfatazy-1 MAPK (MKP-1), która jest naturalnym inhibitorem p38MAPK, enzymu odpowiadającego za stabilizację mRNA (*messenger ribonucleic acid*) cytokin poza-

palnych [4]. Chociaż destabilizacja mRNA ma miejsce po zakończeniu transkrypcji, to potranskrypcyjne mechanizmy zaliczane są do genomowych działań GK, stanowiąc ważny element kontroli regulacji ekspresji genów [4].

Niegenomowy mechanizm działania glikokortykosteroidów

Opisane efekty GK na poziomie transkrypcji genów były do niedawna uznawane jako jedyny mechanizm ich działania. Związane z tym opóźnienie działania (rozpoczęcie syntezy swoistych białek regulacyjnych następuje przynajmniej po 30 minutach od ekspozycji komórek na GK, a potem dopiero stopniowo rozwija się ich działanie) nie zawsze było zgodne z obserwacjami klinicznymi. Z codziennej praktyki klinicznej oraz z badań *in vitro* i *in vivo* znane były przykłady efektów GK-terapii występujących szybko (od kilkunastu sekund do kilkunastu minut), w czasie wykluczającym produkcję białek *de novo*. I tak, zastosowanie wysokich dawek systemowych GK w zaostrzeniu astmy czy w uszkodzeniu rdzenia kręgowego może dać pierwsze korzystne efekty już w czasie podawania dożylnego wlewu kroplowego. Pierwszy opis szybkiego działania steroidów pojawił się już w 1942 roku [5]. Niemniej, zrozumienie mechanizmu tego efektu dokonało się dopiero w ostatnich latach.

Na modelach doświadczalnych można stosunkowo łatwo zróżnicować genomowe i niegenomowe mechanizmy działania GK. Należy sprawdzić, czy badane działania można również obserwować po podaniu inhibitorów transkrypcji (aktynomycyna D), czy translacji (cykloheksamid) albo przeprowadzać doświadczenia w materiale pozbawionym jąder komórkowych. Sam czas wystąpienia efektów biologicznych nie do końca precyzyjnie różnicuje obydwa mechanizmy, ponieważ nie można wykluczyć niegenomowych działań ujawniających się również po dłuższym czasie (tab. 2).

W mechanizmie niegenomowym GK uruchamiają system wtórnych przekaźników (jony wapnia Ca^{2+} , IP_3 , diacyloglicerol DAG oraz cykliczne nukleotydy cAMP i cGMP). Wzrost aktywności określonego wtórnego przekaźnika indukuje zależną od niego kinazę (lub kilka kinaz), co w konsekwencji zmienia bieg niektórych procesów komórkowych. Zasadniczą rolę w przekazywaniu sygnałów nietranskrypcyjnych GK odgrywają szlaki kinaz aktywowanych mitogenami (MAPK), w tym głównie białko ERK1/2 i p38 oraz szlaki innych kinaz: kinazy białkowej A (PKA) i C (PKC), kinaz tyrozynowych (np. Src) i lipidowych (np. trifosforanu inozytolu — PI3K), a także szlaki sygnałowe związane z białkiem G i kanałami jonowymi [4, 6].

Za niegenomowe działania GK odpowiada receptor zlokalizowany w błonie komórkowej, rzadziej w cytoplazmie. Nietranskrypcyjny przekaz sygnału może odbywać się również bez udziału receptora. Wykazano, że niektóre szybkie działania GK nie są hamowane przez antagonistów jego receptora.

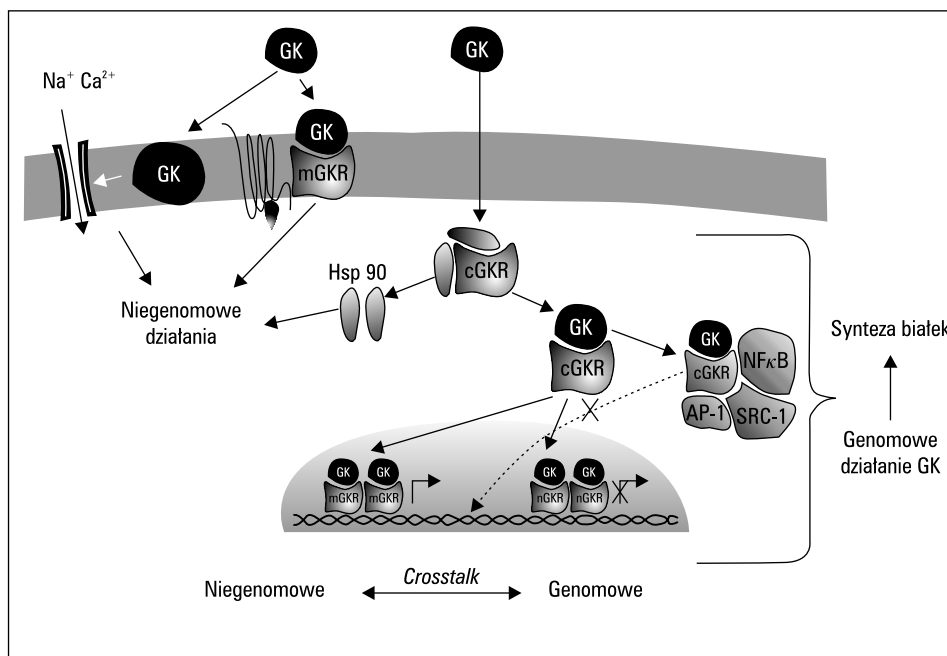
Niegenomowe działania glikokortykosteroidów przebiegające bez udziału receptora

Droga przekazywania sygnału bez udziału receptora jest najmniej poznana. Glikokortykosteroidy jako związki silnie lipofilne łatwo i szybko penetrują do obszaru lipidowej błony komórkowej, włączając się w jej struktury i wpływając na jej właściwości fizykochemiczne. To nieswoiste działanie GK wiąże się przede wszystkim z regulacją błonowych kanałów jonowych: wapniowych, sodowo-potasowych, chlorkowych, czego rezultatem ma być zachowanie płynności i ciągłości błony komórkowej. Wykazano, że megadawki GK, w mechanizmie niezależnym od jakiegokolwiek receptora, w ciągu 5 minut mogą zahamować degranulację neutrofilów [7]. Z kolei deksametazon, odwracając proces wewnątrzkomórkowej akumulacji jonów wapnia, może zmniejszyć sekrecję jonów

Tabela 2. Główne różnice między genomowymi i niegenomowymi działaniami glikokortykosteroidów

Table 2. The main differences between genomic and nongenomic effects of glucocorticoids

	Genomowy	Niegenomowy
Działanie	Receptorowe	Receptorowe i niereceptorowe
Lokalizacja receptora	Cytoplazma, jądro	Błona komórkowa, cytoplazma
Czas ujawnienia efektów klinicznych	Wolny (godziny, dni)	Szybki (sekundy, minuty)
Występowanie po podaniu inhibitorów transkrypcji i translacji	Nie	Tak
Mechanizm	Bezpośredni/pośredni wpływ na transkrypcję genów	Aktywacja szlaków sygnałowych kinaz, białek G, kanałów jonowych



Rycina 2. Schematyczny diagram genomowych i niegenomowych działań glikokortykosteroidów

Figure 2. Schematic diagram of genomic and nongenomic actions of glucocorticoids

chlorkowych przez komórki nabłonka oskrzelowego [8]. Ostatnio udokumentowano, że GK w mechanizmie niegenomowym, niezależnym od receptora, umożliwiają adaptację organizmu do warunków przewlekłego stresu, hamując reakcję „walki i ucieczki”. Glikokortykosteroidy zmniejszają nadmierne uwalniania katecholamin przez rdzeń nadnerczy poprzez zahamowanie fosforylacji i translokacji do cytoplazmy mirystylowanego bogatego w alaninę substratu kinazy C (MARCKS, *myristoylated alanine-rich C kinase substrate*) [9]. Sugeruje się, że GK mogą także wchodzić w bezpośrednie interakcje z niektórymi strukturami lub białkami enzymatycznymi błony komórkowej, na przykład podjednostką Ca^{2+} ATP-azy [8, 10].

Niegenomowe działania glikokortykosteroidów przebiegające z udziałem błonowego receptora glikokortykosteroidowego

Na poziomie błony komórkowej GK działają także poprzez zlokalizowane w tym obszarze receptory (mGKR). Aktywacja mGKR stymuluje syntezę wtórnych przekazańników. Konsekwencją indukcji IP_3 może być wzrost aktywności śródbłonkowej syntazy tlenu azotu. Aktywacja syntazy tlenu azotu w szybkim, niegenomowym mechanizmie działania GK została potwierdzona na modelu zwierzęcym w zawale mięśnia sercowego oraz udarze niedokrwiennym mózgu. Duże dawki GK powodowały natychmiastową poprawę przepływu krwi w obszarze niedokrwienia (nawet do całko-

witej reperfuzji) oraz zmniejszenie reakcji zapalnej w obrębie naczyń. Tych efektów nie obserwowano po zastosowaniu inhibitorów receptora GK i śródbłonkowej syntazy tlenu azotu [11, 12]. Istnieją również dowody, że szybkie działanie GK odbywa się przez interakcje z receptorami błonowymi sprzężonymi z białkiem G (GPCR, *G protein coupled receptors*). Glikokortykosteroidy bezpośrednio lub za pośrednictwem mGKR mogą łączyć z podjednostką α białka G_s aktywującego cyklazę adenylową, przyczyniając się do uruchomienia ścieżki sygnałowej G_s -cAMP-PKA, która między innymi uruchamia syntezę endokannabinoidów o działaniu przeciwzapalnym [13]. Sugeruje się również możliwość interakcji pomiędzy GK-mGKR a inhibitorowym białkiem G (białkiem G_i) wrażliwym na toksynę krztuśca [14]. Możemy więc przypuszczać, że nietranskrypcyjne ścieżki sygnałowe zależą również od spadku aktywności cAMP. Błonne GKR zaangażowane są także w interakcje z białkami kanałów jonowych [6].

Niegenomowe działania glikokortykosteroidów przebiegające z udziałem cytoplazmatycznego receptora glikokortykosteroidowego

W niegenomowym mechanizmie działania mogą brać również udział receptory dla GK zlokalizowane w cytoplazmie. Croxtall i wsp. [15] wykazali szybkie zahamowanie uwalniania kwasu arachidonowego przez deksametazon, które było zależne od receptora, ponieważ reakcja nie występ-

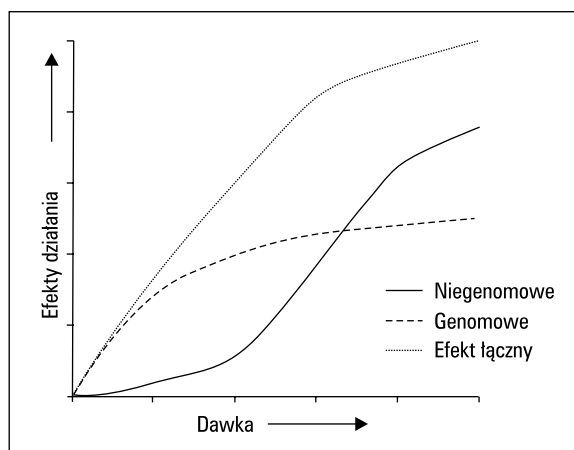
powołała po ekspozycji komórek na substancję blokującą receptor (RU 486). Z kolei na jej przebieg nie miał wpływu inhibitor transkrypcji (aktynomycyna D). Okazało się, że przyłączenie deksametazonu do receptora powodowało nie tylko dysocjację receptora od białek opiekuńczych Hsp 90, ale również uwolnienie kinaz tyrozynowych Src z kompleksu z Hsp 90, co według autorów zahamowało uwalnianie kwasu arachidonowego szybką ścieżką sygnałową bez oddziaływania na transkrypcję.

Niegenomowe mechanizmy działania GK ujawniają się szczególnie przy wyższym dawkowaniu GK i wyższym stężeniu miejscowym ligandu w komórce oraz być może zależą od powinowactwa GK ze swoim receptorem. Zależności między efektami genowymi i niegenomowymi oraz zastosowaną dawką przedstawiono na rycinie 3. Według Buttgerit i wsp. [16] genomowe mechanizmy mogą się ujawniać się przy stężeniu powyżej 10^{-12} M, zaś niegenomowe przynajmniej przy stężeniu 10^{-9} M. Z kolei inni autorzy wykazują, że zachowanie płynności błony komórkowej oraz integracji białek tworzących błonę komórkową (np. białek kanałów jonowych, transportujących i receptorowych) wymaga stężenia GK powyżej 10^{-4} M [17]. Zwraca się także uwagę, że niegenomowe mechanizmy stanowią pierwszy etap działania GK, który wzmacnia genomowe efekty występujące w dalszej kolejności. Genomowe oddziaływania GK natomiast dostarczają białek koniecznych do nietranskrypcyjnego przekazu sygnału [4].

Wagę mechanizmów pozajądrowych, zachodzących w cytoplazmie i błonie komórkowej, najlepiej podkreślają badania Reichardt i wsp. [18]. Wykazali oni, że zmutowane transgeniczne myszy pozbawione możliwości produkowania receptorów GKR, tak zwane szczepy $GR^{null/null}$, rozwijają wady letalne (w tym dotyczące płuc) i giną zaraz po urodzeniu. Z kolei myszy $GR^{dim/dim}$ z mutacją punktową A458T w obrębie pętli dimeryzacyjnej, uniemożliwiająca dimeryzację GKR, a w konsekwencji oddziaływanie receptora z DNA (bo w jądrze GKR występuje wyłącznie w formie homodimeru), osiągały dojrzałość. A zatem, mechanizmy działania GK związane z ich wpływem na transaktywację i bezpośrednią transrepresję nie są niezbędne do funkcjonowania ssaków. Co więcej, to właśnie działania genomowe przyczyniają się do objawów niepożądaných GK-terapii (tab. 1).

Niegenomowo-genomowy mechanizm działania glikokortykosteroidów

Pośredni wpływ na transkrypcję genów, omówiony wcześniej jako efekt genomowy, w rzeczywistości obejmuje także niegenomowe działania



Rycina 3. Proponowane zależności dawka-odpowiedź dla genomowych i niegenomowych działań glikokortykosteroidów [16, modyfikacja własna]

Figure 3. Putative dose-effect dependency of genomic and nongenomic effects of glucocorticoids [16, modified]

GK, czyli interakcje białko-białko, których dalszą konsekwencją jest odpowiedź genomowa. Dlatego niektórzy autorzy zaliczają oddziaływania kompleksu GK-GKR z różnymi czynnikami na terenie cytoplazmy do działań niegenomowych [2]. Wy różnienie niegenomowo-genomowego sposobu przekazywania sygnału łączy powyższe poglądy.

Podsumowanie

Wyniki badań z ostatnich lat obaliły dogmat o wyłącznie receptorowym mechanizmie działania GK i ścisłej zależności ich efektów od regulacji czynności genów oraz o powolnym początku działania. Zwróciły uwagę, że nietranskrypcyjny przekaz sygnału, ujawniający się przy wyższych dawkach GK, może wiązać się z dodatkowymi korzyściami klinicznymi. Niegenomowe i genomowe mechanizmy działania wzajemnie oddziałują na siebie i nie tylko uzupełniają się, ale również mogą się wzajemnie potencjalizować, a zatem można mówić o efekcie addycyjnym i synergistycznym obu mechanizmów (ryc. 3) [4, 16]. Działania niegenomowe GK, wiążące się przede wszystkim z ich oddziaływaniem na poziomie błony komórkowej, są również określane jako sygnalizacja inicjowana z błony (MISS, *membrane-initiated steroid signaling*) dla odróżnienia sygnalizacji inicjowanej z jądra komórkowego (NISS, *nuclear-initiated steroid signaling*) [19]. Wiele aspektów niegenomowego działania GK wymaga dalszych badań. Najważniejsze są odpowiedzi na pytania dotyczące warunków uruchomienia nietranskrypcyjnej ścieżki sygnałowej oraz możliwości jej pełnego wykorzystania w kli-

nice. Nie znamy też dokładnego działania i znaczenia receptora dla GK zlokalizowanego w błonie komórkowej. Niegenomowy mechanizm działania na pewno jednak stanowi element wpływający na wszechstronniejsze działanie tej grupy leków.

Piśmiennictwo

1. 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.
2. Barnes P.J. How corticosteroids control inflammation: Quintiles Prize Lecture 2005. *Br. J. Pharmacol.* 2006; 148: 245–254.
3. Mróz R.M., Norparlik J., Chyczewska E., Braszko J.J., Hołownia A. Sygnalizacja zależna od histonów w farmakoterapii przewlekłej obturacyjnej choroby płuc. *Pneumonol. Alergol. Pol.* 2007; 75: 375–382.
4. Stellato C. Post-transcriptional and nongenomic effects of glucocorticoids. *Proc. Am. Thorac. Soc.* 2004; 1: 255–263.
5. Selye H. Correlation between the chemical structure and the pharmacological actions of the steroids. *Endocrinology* 1942; 30: 437–453.
6. 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.
7. Liu L., Wang Y.X., Zhou J. i wsp. Rapid non-genomic inhibitory effects of glucocorticoids on human neutrophil degranulation. *Inflamm. Res.* 2005; 54: 37–41.
8. Urbach V., Walsh D.E., Mainprice B., Bousquet J., Harvey B.J. Rapid non-genomic inhibition of ATP-induced Cl⁻ secretion by dexamethasone in human bronchial epithelium. *J. Physiol.* 2002; 545: 869–878.
9. Park Y.S., Choi Y.H., Park C.H., Kim K.T. Non-genomic glucocorticoid effects on activity-dependent potentiation of catecholamine release in chromaffin cells. *Endocrinology* 2008; 149: 4921–4927.
10. Buttgerit F., Scheffold A. Rapid glucocorticoid effects on immune cells. *Steroids* 2002; 67: 529–534.
11. Hafezi-Moghadam A., Simoncini T., Yang E. i wsp. Acute cardiovascular protective effects of corticosteroids are mediated by non-transcriptional activation of endothelial nitric oxide synthase. *Nat. Med.* 2002; 8: 473–479.
12. Limbourg F.P., Huang Z., Plumier J.C. i wsp. Rapid nontranscriptional activation of endothelial nitric oxide synthase mediates increased cerebral blood flow and stroke protection by corticosteroids. *J. Clin. Invest.* 2002; 110: 1729–1738.
13. Malcher-Lopes R., Di S., Marcheselli V.S. i wsp. Opposing crosstalk between leptin and glucocorticoids rapidly modulates synaptic excitation via endocannabinoid release. *J. Neurosci.* 2006; 26: 6643–6650.
14. Tasker J.G., Di S., Malcher-Lopes R. Rapid glucocorticoid signaling via membrane-associated receptors. *Endocrinology* 2006; 147: 5549–5556.
15. Croxtall J.D., Choudhury Q., Flower R.J. Glucocorticoids act within minutes to inhibit recruitment of signalling factors to activated EGF receptors through a receptor-dependent, transcription-independent mechanism. *Br. J. Pharmacol.* 2000; 130: 289–298.
16. Buttgerit F., Silva J.A., Boers M. i wsp. Standardised nomenclature for glucocorticoid dosages and glucocorticoid treatment regimens: current questions and tentative answers in rheumatology. *Ann. Rheum. Dis.* 2002; 61: 718–722.
17. Haller J., Makara G., Mikics E. The effects of non-genomic glucocorticoid mechanisms on bodily functions and the central neural system. A critical evaluation of findings. *Front. Neuroendocrinol.* 2008; 29: 273–291.
18. Reichardt H.M., Kaestner K.H., Tuckermann J. i wsp. DNA binding of the glucocorticoid receptor is not essential for survival. *Cell* 1998; 93: 531–541.
19. Farach-Carson M.C., Davis P.J. Steroid hormone interactions with target cells: cross talk between membrane and nuclear pathways. *J. Pharmacol. Ex. Ther.* 2003; 307: 839–845.