

## Φυσικά και συνθετικά γλυκοκορτικοειδή – βιοχημεία

Βαρβάρα Βέργου, Αχιλλέας Γραβάνης

Εργαστήριο Φαρμακολογίας, Ιατρική Σχολή Πανεπιστημίου Κρήτης, Ηράκλειο

### ΒΙΟΣΥΝΘΕΣΗ ΤΩΝ ΓΛΥΚΟΚΟΡΤΙΚΟΕΙΔΩΝ

Τα επινεφρίδια του ανθρώπου αποτελούνται από δύο μοίρες: το φλοιό, που βρίσκεται εξωτερικά και αποτελεί το 90% του συνολικού τους βάρους και το μυελό, που καταλαμβάνει το εσωτερικό τους. Ο φλοιός των ενηλίκων διαχωρίζεται σε τρεις ζώνες: α) τη σπειροειδή ζώνη (*zona glomerulosa*) εξωτερικά, β) τη στηλιδωτή ζώνη (*zona fasciculata*) στο μέσον και γ) τη δικτυωτή ζώνη (*zona reticularis*) εσωτερικά σε άμεση επαφή με το μυελό. Η σύνθεση των γλυκοκορτικοειδών πραγματοποιείται κυρίως στη στηλιδωτή ζώνη, που αποτελεί το 75% του βάρους του αδένου (εικ.1).

Το πρόδρομο μόριο για τη σύνθεση της κορτιζόλης είναι η χοληστερόλη. Η χοληστερόλη που χρησιμοποιείται για την παραγωγή των ορμονών λαμβάνεται κυρίως από την κυκλοφορία του αίματος, παρά το γεγονός ότι ο φλοιός είναι ικανός για *de novo* βιοσύνθεση της ουσίας. Πρόκειται για δύο εναλλακτικές οδούς πρόσληψης της χοληστερόλης, που εξασφαλίζουν τη σταθερή βιοσύνθεση κορτιζόλης και αλδοστερόνης, ακόμα και στην περίπτωση αποκλεισμού της μίας εκ των δύο οδών. Ο φλοιός των επινεφριδίων προκειμένου να εξασφαλίσει αποτελεσματικά την απαραίτητη για τη στεροειδογένεση ποσότητα χοληστερόλης χρησιμοποιεί επομένως τρεις μηχανισμούς: α) προσλαμβάνει την κυκλοφορούσα στη συστηματική κυκλοφορία χοληστερόλη καθώς και τους εστέρες της μέσω μεμβρανικών υποδοχέων ειδικών για τις χαμηλής πυκνότητας (LDLR) και υψηλής πυκνότητας (HDLR) λιποπρωτεΐνες, β) απελευθερώνει χοληστερόλη από τους ενδογενείς εστέρες της με την ενεργοποίηση ειδικής εστεράσης και γ) αυξάνει τοπικά στο φλοιό του επινεφριδίου την *de novo* βιοσύνθεση της χοληστερόλης. Στα επινεφριδιακά κύτταρα του φλοιού η χοληστερόλη αποθηκεύεται σε λιποειδικά σταγονίδια του κυτταροπλάσματος με τη μορφή εστέρων. Η εστεροποιημένη χοληστερόλη υδρολύεται από την υδρολάση του εστέρα της χοληστερόλης, μεταφέρεται στο εσωτερικό των μιτοχονδρίων από μια φωσφοπρωτεΐνη μοριακού βάρους 30.000 dalton, ονόματι *steroidogenic acute regulatory protein*. Μεταλλάξεις στην ανωτέρω πρωτεΐνη έχουν περιγραφεί σε ασθενείς με συγγενή λιποειδή υπερπλασία των επινεφριδίων, στους οποίους παρατηρείται

λιποειδής εκφύλιση του αδένου λόγω συσσώρευσης χοληστερόλης. Στο μιτοχόνδριο η χοληστερόλη μετατρέπεται σε πρεγνενολόνη με τη βοήθεια του ενζύμου CYP11A1 (εικ.1). Η μετατροπή αυτή, που απαιτεί NADPH και οξυγόνο, περιλαμβάνει τα εξής βήματα: (α) την απόσπαση μέρους της πλάγιας αλυσίδας της χοληστερόλης (η πλάγια αλυσίδα ξεκινά από τον C17 του στεροειδικού δακτυλίου), (β) τη σύνδεση με διπλό δεσμό ενός ατόμου οξυγόνου στη θέση 20. Στη συνέχεια η πρεγνενολόνη μεταφέρεται στο λείο ενδοπλασματικό δίκτυο, όπου υδροξυλιώνεται από το ένζυμο 17α-υδροξυλάση (CYP17) προς 17α-υδροξυπρεγνενολόνη. Από την τελευταία σχηματίζεται η 17α-υδροξυπρογεστερόνη με αντικατάσταση του διπλού δεσμού 5-6 με διπλό δεσμό μεταξύ των θέσεων 4-5. Την αντίδραση καταλύει το ενζυμικό σύμπλοκο 3β-OH-δευδρογενάση/Δ5-ισομεράση. Ένα μικρό ποσοστό πρεγνενολόνης μετατρέπεται πρώτα σε προγεστερόνη και μετά υδροξυλιώνεται στη θέση 17 προς 17α-υδροξυπρογεστερόνη. Στη στηλιδωτή ζώνη η 17α-υδροξυπρογεστερόνη υφίσταται δύο διαδοχικές υδροξυλιώσεις. Αρχικά υδροξυλιώνεται από το ένζυμο 21-υδροξυλάση (CYP21, ευρισκόμενο στο ενδοπλασματικό δίκτυο) στον C21 προς 11-δεοξυκορτιζόλη ή ουσία S. Στη συνέχεια η ουσία S υδροξυλιώνεται από το ένζυμο 11β-υδροξυλάση (CYP11B1, ευρισκόμενο στο εσωτερικό των μιτοχονδρίων) στον C11 προς κορτιζόλη ή ουσία F. Στη σπειροειδή ζώνη, όπου απουσιάζει το ένζυμο 17α-υδροξυλάση, η πρεγνενολόνη μετατρέπεται σε προγεστερόνη και ακολουθεί τη βιοσυνθετική οδό της αλδοστερόνης.

Η σύνθεση και έκκριση της κορτιζόλης ελέγχονται από την κορτικοτροπίνη (ACTH) που εκκρίνει στη συστηματική κυκλοφορία η υπόφυση. Η κορτικοτροπίνη δρα μέσω ειδικού μεμβρανικού υποδοχέα του επινεφριδιακού φλοιού. Η ενεργοποίηση του υποδοχέα διεγείρει το σχηματισμό cAMP και οδηγεί σε αυξημένη μεταγραφή των ενζύμων που εμπλέκονται στη βιοσύνθεση της κορτιζόλης. Με τον τρόπο αυτό η ACTH αυξάνει τη σύνθεση και έκκριση της κορτιζόλης. Μία δεύτερη δράση της κορτικοτροπίνης αφορά στη διεγερτική επίδραση της στην ανάπτυξη του επινεφριδιακού φλοιού. Σε χρόνια ελάττωση των επιπέδων της στο πλάσμα παρατηρείται όχι μόνο μείωση της σύνθεσης και έκκρισης της κορτιζόλης, αλλά και προοδευτική ατροφία του επινεφριδιακού φλοιού. Η παραγωγή κορτικοτροπίνης από την υπόφυση αναστέλεται με χορήγηση εξωγενών γλυκοκορτικοειδών. Ο χειρισμός του συστήματος κατά τη θεραπευτική αγωγή απαιτεί ιδιαίτερη προσοχή, διότι η χρόνια χορήγηση εξωγενών γλυκοκορτικοειδών προκαλεί μειωμένη βιοσύνθεση τους και ατροφία του επινεφριδιακού φλοιού.

## ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΔΡΑΣΗΣ

Τα γλυκοκορτικοειδή δρουν μέσω ειδικού υποδοχέα των γλυκοκορτικοειδών (glucocorticoid receptor GR). Ο υποδοχέας αυτός ανήκει στη υπερ-οικογένεια των πυρηνικών υποδοχέων στεροειδών. Είναι μία πρωτεΐνη αποτελούμενη από 800 αμινοξέα, που βρίσκεται στο κυτταρόπλασμα στην ανενεργή της μορφή. Κάθε μόριο διακρίνεται σε τρεις περιοχές: 1) την περιοχή πρόσδεσης του γλυκοκορτικοειδούς στο καρβοξυτελικό άκρο. Αποκοπή αυτής της περιοχής προκαλεί τη βασική ενεργοποίηση του υποδοχέα κατά την απουσία προσδέτη, 2) την περιοχή πρόσδεσης στο DNA, που βρίσκεται στο εσωτερικό της πρωτεΐνης και αποτελείται από εννέα κυστεϊνικά τμήματα. Η περιοχή αυτή περιλαμβάνει μία δομή «δύο δακτύλων», που σταθεροποιείται με δεσμούς των κυστεϊνών με ιόντα ψευδαργύρου, ώστε να σχηματίζονται δύο τετράεδρα. Αυτά προσδένονται σε ειδικές θέσεις σύνδεσης στο DNA, τα σημεία πρόσδεσης των γλυκοκορτικοειδών (glucocorticoid responsive elements, GRE), που ρυθμίζουν τη δράση των γλυκοκορτικοειδών στα γονίδια. και τέλος 3) την περιοχή του αμινοτελικού άκρου του υποδοχέα. Η λειτουργία αυτής της περιοχής δεν είναι γνωστή, υπάρχουν όμως ενδείξεις ότι εμπλέκεται στη μετακίνηση του υποδοχέα στο εσωτερικό του πυρήνα και την εκεί αλληλεπίδρασή του με τη χρωματίνη.

Η ανενεργός μορφή του υποδοχέα των γλυκοκορτικοειδών εντοπίζεται στο κυτταρόπλασμα ως ετερομερές ενωμένο με συνοδούς (chaperon) πρωτεΐνες: α) την πρωτεΐνη θερμικού σοκ 90 (heat shock protein 90, HSP90), β) την πρωτεΐνη θερμικού σοκ 70 (heat shock protein 70, HSP70), και γ) την ανοσοφυλλίνη των 56-kDa, που συνδέεται με τους ανοσοκαταστολείς κυκλοσπορίνη και τακρόλιμο. Το ετερομερές αυτό δεν εμφανίζει δράση, είναι ανενεργό. Όταν το γλυκοκορτικοειδές συνδεθεί με τον υποδοχέα, αποσυνδέονται οι συνοδές πρωτεΐνες και ενεργοποιείται ο υποδοχέας. Η περιοχή πρόσδεσης στο DNA ελευθερώνεται και είναι πλέον δυνατή η αλληλεπίδραση του υποδοχέα με το DNA. Στη συνέχεια, το ενεργοποιημένο σύμπλοκο του υποδοχέα με τον προσδέτη μεταναστεύει στο εσωτερικό του πυρήνα (translocation). Εκεί, δύο ενεργοποιημένα μόρια ενώνονται (με δύο γέφυρες λευκίνης) σχηματίζοντας ένα ομοδιμερές, που συνδέεται στα ειδικά σημεία πρόσδεσης των γλυκοκορτικοειδών στο DNA (glucocorticoid responsive elements, GRE). Τα GRE είναι συγκεκριμένες αλληλουχίες DNA στην περιοχή του προαγωγέα (promoter) των γονιδίων που είναι ευαίσθητα στα γλυκοκορτικοειδή, ελέγχοντας το ρυθμό μεταγραφής τους. Περιέχουν κυρίως την ακόλουθη αλληλουχία νουκλεοτιδίων: GGTACA<sub>n</sub>TTGTTCT.

Το διαφορετικό μάτισμα (splicing) του πρόδρομου mRNA του υποδοχέα των γλυκοκορτικοειδών στον άνθρωπο καταλήγει σε δύο ισομερή υψηλής ομολογίας: τον ανθρώπινο υποδοχέα των γλυκοκορτικοειδών άλφα (human glucocorticoid receptor alpha, hGR alpha) και τον ανθρώπινο υποδοχέα των γλυκοκορτικοειδών βήτα (human glucocorticoid receptor beta, hGR beta). Ο υποδοχέας των γλυκοκορτικοειδών άλφα είναι ένας παράγοντας μεταγραφής, που ενεργοποιείται από την ορμόνη προσδέτη, συνδέεται στα ειδικά σημεία πρόσδεσης των γλυκοκορτικοειδών στο DNA (glucocorticoid responsive elements, GRE) και ρυθμίζει την έκφραση των γονιδίων που ανταποκρίνονται στα γλυκοκορτικοειδή. Αντίθετα, ο υποδοχέας των γλυκοκορτικοειδών βήτα (human glucocorticoid receptor beta, hGR beta) δεν συνδέεται με τα γλυκοκορτικοειδή, ούτε είναι μεταγραφικός παράγοντας. Διατηρεί το ρόλο του ενδογενούς αναστολέα των γλυκοκορτικοειδών και η δράση του αφορά στην αναστολή της επίδρασης του ενεργοποιημένου υποδοχέα hGR alpha επί των γονιδίων.

Κάποιες από τις δράσεις των γλυκοκορτικοειδών αποδίδονται στην πρόσδεσή τους στον υποδοχέα της αλδοστερόνης (aldosterone receptors, AR). Ο υποδοχέας αυτός προσδένει τις αλδοστερόνη και κορτιζόλη σχεδόν με την ίδια χημική συγγένεια. Ορισμένοι ιστοί, προκειμένου να αποφύγουν τις δράσεις της κορτιζόλης μέσω του υποδοχέα των αλατοκορτικοειδών, εκφράζουν την 11β-υδροξυστεροειδική δεϋδρογενάση. Το ένζυμο αυτό καταλύει τη βιομετατροπή της κορτιζόλης προς 11-κετο παράγωγα (κορτιζόνη), τα οποία έχουν μικρή συγγένεια με τον υποδοχέα της αλδοστερόνης και δεν εμφανίζουν δράσεις αλατοκορτικοειδών.

Εκτός από τις γενομικές τους δράσεις, τα γλυκοκορτικοειδή εμφανίζουν και ορισμένες μη γενομικές, άμεσες δράσεις, πιθανά μέσω μεμβρανικών υποδοχέων. Ο ακριβής μηχανισμός αυτών των ενεργειών δεν έχει ακόμα διασαφηνιστεί. Πρόσφατα ερευνητικά ευρήματα υποδεικνύουν την γρήγορη, εντός ολίγων λεπτών, επίδραση των γλυκοκορτικοειδών στα ενδοκυττάρια επίπεδα cAMP και στην ακτίνη του κυτταροσκελετού<sup>(4)</sup>.

Τα περισσότερα γλυκοκορτικοειδή, χάρη στο λιπόφιλο χαρακτήρα τους, απορροφώνται γρήγορα από το γαστρεντερικό σωλήνα. Επίσης, είναι δυνατή η αφομείωσή τους μετά από ενδομυϊκή ή ενδοφλέβια χορήγηση. Η διαδερμική χορήγηση δεν χρησιμοποιείται, αλλά εφαρμόζονται στο δέρμα όταν επιθυμείται τοπική δράση. Έν τούτοις, παρατεταμένη και έντονη τοπική εφαρμογή δύναται να καταλήξει σε επαρκή απορρόφηση και να παρουσιαστούν συστηματικές δράσεις. Η κορτιζόλη και η πρεδνιζολόνη έχουν ένα υδροξύλιο στον C11, απαραίτητο για τη γλυκοκορτικοειδική τους δράση. Η κορτιζόνη και η πρεδνιζόνη δια-

θέτουν μια κετοομάδα στον C11, η οποία χρειάζεται να υδροξυλιωθεί, προκειμένου να γίνουν βιολογικά ενεργές. Η υδροξυλίωση πραγματοποιείται κυρίως στο ήπαρ και για το λόγο αυτό αποφεύγεται η χορήγηση 11-κετο κορτικοειδών σε ασθενείς με μειωμένη ηπατική λειτουργία. Στο λόγο αυτό οφείλεται επίσης και η απουσία δράσης των 11-κετο κορτικοειδών όταν εφαρμόζονται τοπικά στο δέρμα.

Υπό φυσιολογικές συνθήκες το κλάσμα της κορτιζόλης, που κυκλοφορεί ελεύθερο στο αίμα, δεν υπερβαίνει το 3-10%. Το 90% της κορτιζόλης βρίσκεται συνδεδεμένο με τις πρωτεΐνες του πλάσματος τρανσκορτίνη ή CBG (Corticosteroid Binding Globulin) και αλβουμίνη. Η CBG είναι μία α2-σφαιρίνη που παράγεται στο ήπαρ και προσδένει τα γλυκοκορτικοειδή με υψηλή συγγένεια και χαμηλή χωρητικότητα. Η αλβουμίνη διαθέτει σχετικά μεγαλύτερη συνδετική ικανότητα, αλλά χαμηλή χημική συγγένεια σύνδεσης με τα γλυκοκορτικοειδή. Η CBG μπορεί να προσδέσει συνθετικά γλυκοκορτικοειδή, όπως την πρεδνιζόνη και την πρεδνιζολόνη. Αντίθετα, η δεξαμεθαζόνη δεν συνδέεται με την CBG και αποτελεί τον πλέον βιοδραστικό γλυκοκορτικοειδικό αγωνιστή, εφόσον σχεδόν όλη η συγκέντρωσή της στο πλάσμα βρίσκεται στην αδέσμευτη μορφή της. Η σύνθεση της CBG από το ήπαρ διεγείρεται από τα οιστρογόνα και καταστέλεται από τα ανδρογόνα. Συνεπώς, κατά τη διάρκεια θεραπείας με οιστρογόνα (αντιούλληψη, ορμονική θεραπεία υποκατάστασης) ή εγκυμοσύνης, τα επίπεδα της CBG αυξάνουν και σαν αποτέλεσμα αυτού αυξάνεται και η συνολική ποσότητα κορτιζόλης στο πλάσμα. Δεν έχει διασαφηνιστεί εάν αυτή η αύξηση έχει κάποια φυσιολογική σημασία.

Το ήπαρ και οι νεφροί είναι τα κύρια όργανα βιομετατροπής των γλυκοκορτικοειδών σε ανενεργούς υδατοδιαλυτούς μεταβολίτες. Η βιομετατροπή αυτή περιλαμβάνει τα εξής στάδια: αναγωγή του διπλού δεσμού στη θέση 4-5, αναγωγή της κετονικής ομάδας του C3 και προσθήκη ενός υδροξυλίου στον C6. Περίπου το 30% της απενεργοποιημένης κορτιζόλης μεταβολίζεται προς τετρα-υδρο-κορτιζόλη και τετρα-υδρο-δεοξυ-κορτιζόλη. Αυτές στη συνέχεια μεταφέρονται στο ήπαρ για να συζευχθούν, μέσω του υδροξυλίου της θέσης C3, με γλυκουρονικό ήθειικό οξύ και να απεκκριθούν στα ούρα σαν γλυκουρονίδια ή σουλφονουρίδια. Στον άνθρωπο η απομάκρυνση της κορτιζόλης μέσω της χολής και των κοπράνων είναι ελάχιστη. Εξίσου σημαντική οδός απενεργοποίησης της κορτιζόλης είναι η μετατροπή της σε κορτιζόνη στους νεφρούς. Η μετατροπή αυτή πραγματοποιείται από το ενζυμικό σύμπλοκο 11-κετοστερόειδο-αναγωγή/11β-δεϋδροξυστερόειδο-δεϋδρογενάση. Η κορτιζόνη δεν έχει δυνατότητα σύνδεσης με τον υποδοχέα των αλατοκορτικοειδών στους νεφρούς

και ως εκ τούτου δεν προκαλεί κατακράτηση αλάτων.

Φάρμακα επαγωγείς ή αναστολείς της μεταβολικής δραστηριότητας του ήπατος, όπως οι ριφαμπικίνη, φαινοβαρβιτάλη και φαινυντοΐνη, παρεμποδίζουν την εκεί βιομετατροπή των γλυκοκορτικοειδών. Για το λόγο αυτό, σε ασθενείς που υποβάλλονται σε τέτοιου τύπου φαρμακευτική αγωγή και κρίνεται απαραίτητη η συγχορήγηση γλυκοκορτικοειδών, πρέπει να γίνεται κατάλληλη προσαρμογή των δόσεων.

## ΑΝΤΑΓΩΝΙΣΤΕΣ ΤΩΝ ΓΛΥΚΟΚΟΡΤΙΚΟΕΙΔΩΝ

Η μακρά έρευνα για έναν αποτελεσματικό ανταγωνιστή του υποδοχέα των γλυκοκορτικοειδών κατέληξε στη μifeπριστόνη ή RU486 (11β-αμινοφαινυλ-υποκατεστημένο 19-νορστεροειδές). Το φάρμακο αυτό έχει ισχυρή δράση αντιπρογεσταγόνου και έχει προταθεί η χρήση του για τη φαρμακολογική διακοπή της κύησης <sup>(6)</sup>. Σε υψηλές συγκεντρώσεις η μifeπριστόνη είναι ισχυρό αντιγλυκοκορτικοειδές και αναστέλλει τη δράση του υποδοχέα των γλυκοκορτικοειδών. Συγκεκριμένα, προσδένεται στον GR με υψηλή συγγένεια και αλλάζει τη διαμόρφωσή του. Οι μετατροπές που επιφέρει στον υποδοχέα διαφέρουν από αυτές που ακολουθούν τη σύνδεση με ουσίες αγωνιστές του. Στο σύμπλοκο που προκύπτει, ο υποδοχέας παραμένει ενωμένος με τις *chaperone heat shock proteins* (πρωτεΐνες θερμικού σοκ), που κανονικά αποσυνδέονται όταν ενεργοποιείται από τα γλυκοκορτικοειδή. Υπάρχουν ενδείξεις ότι το σύμπλοκο μifeπριστόνης-γλυκοκορτικοειδικού υποδοχέα έχει μειωμένη συγγένεια πρόσδεσης στο DNA και συνεπώς προκαλεί ελάττωση της μεταγραφής των γονιδίων που είναι ευαίσθητα στην επίδραση των γλυκοκορτικοειδών.

Σε όλα τα είδη ο χρόνος ημιζωής της μifeπριστόνης είναι 20 ώρες <sup>(7)</sup>. Ο χρόνος αυτός είναι μεγαλύτερος από τους αντίστοιχους χρόνους των γλυκοκορτικοειδικών αγωνιστών, ενδεικτικά αναφέρεται ότι η δεξαμεθαζόνη έχει ημιζωή 5 ώρες. Οι νεφροί έχουν μικρή συμμετοχή στην απομάκρυνση της μifeπριστόνης από τον οργανισμό και μόνο το 1% αυτής απεκκρίνεται από τα ούρα. Η ένωση συνδέεται ισχυρά με τις πρωτεΐνες του πλάσματος και σε ελεύθερη μορφή ανιχνεύεται σε ποσοστό μικρότερο του 5%, γεγονός που εξηγεί τον αυξημένο χρόνο ημιζωής της. Προσδένεται στην αλβουμίνη και στην α1-οξυ γλυκοπρωτεΐνη, ενώ δεν παρουσιάζει συγγένεια προς την CBG.

Στον άνθρωπο η μifeπριστόνη προκαλεί γενικευμένη αντοχή στα γλυκοκορτικοειδή. Το σύνδρομο Cushing χαρακτηρίζεται από την υπερπαραγωγή κορτιζόλης, που οφείλεται σε υπερέκκριση ACTH από την υπόφυση ή σε επινεφριδιακό καρκίνωμα. Η χορήγηση μifeπριστόνης *per os* προκαλεί αναστροφή του



μη φυσιολογικού φαινότυπου και εξαφανίζει τα συμπτώματα της υπερέκκρισης. Παρατηρούνται μείωση της δυσανεξίας στους υδατάνθρακες, διακοπή της υπερπαραγωγής φυλετικών και θυροειδικών ορμονών, ελάττωση της υπέρτασης και επαναφορά της κανονικής φυσιολογίας των ασθενών. Το φάρμακο αυτό προκαλεί γενική βελτίωση της κλινικής εικόνας του συνδρόμου. Σε μακροχρόνια χορήγηση η μφαιπριστόνη διεγείρει τον υποθαλαμο-υποφυσιακό άξονα (HPA axis), γεγονός που περιορίζει τη χρήση της στις περιπτώσεις ασθενών μη επιδεχόμενων χειρουργική επέμβαση, που δεν ανταποκρίνονται στους εναλλακτικούς θεραπευτικούς χειρισμούς.

Πρόσφατες πειραματικές μελέτες περιέγραψαν λεπτομερώς τους μοριακούς μηχανισμούς μέσω των οποίων τα γλυκοκορτικοειδή ρυθμίζουν τη γονιδιακή μεταγραφή. Δύο ιδιαίτερα σημαντικές ιδιότητές τους, η ανοσοκαταστολή και η ανάδρομη ρύθμιση του HPA άξονα, διαμεσολαβούνται από παρεμπόδιση της μεταγραφής των κατάλληλων γονιδίων. Η σιώπηση των γονιδίων επιτυγχάνεται μέσω ανταγωνισμού των γλυκοκορτικοειδικών υποδοχέων με μεταγραφικούς παράγοντες για την πρόσδεση στην προαγωγό περιοχή των γονιδίων. Οι συγκεκριμένοι παράγοντες μεταγραφής αποτελούν στόχους για την ανάπτυξη νέων γλυκοκορτικοειδικών ανταγωνιστών. Τα φάρμακα αυτά θα δρουν επί της προαγωγού περιοχής των ευαίσθητων στα γλυκοκορτικοειδή γονιδίων και όχι στο επίπεδο πρόσδεσης στον υποδοχέα. Υποψήφιους στόχους της σχετικής έρευνας αποτελούν οι μεταγραφικοί παράγοντες Nur77 και NF kappaB διότι: α) ο πυρηνικός υποδοχέας Nur77, που μέχρι τώρα ήταν άγνωστη η λειτουργία του, ταυτοποιήθηκε ως μεταγραφικός επαγωγέας της προ-οπιομελανοκορτίνης (POMC) από την CRH. Συνεπώς, τα γλυκοκορτικοειδή πιθανώς να ανταγωνίζονται αυτή την επαγωγό δράση του Nur77, μέσω πρόσδεσής τους στον GR και σύνδεσης του σχηματιζόμενου συμπλόκου στα ειδικά σημεία πρόσδεσης του Nur77 στο γονίδιο της προ-οπιομελανοκορτίνης <sup>(9)</sup>. Ο συνδιασμός των διεγερτικών δράσεων του Nur77 επί του γονιδίου και των κατασταλτικών δράσεων των γλυκοκορτικοειδών, προσφέρει μια νέα φαρμακολογική προσέγγιση του ανταγωνισμού των γλυκοκορτικοειδών. β) η ενεργοποίηση του πυρηνικού μεταγραφικού παράγοντα NF kappaB επάγει την έκφραση προ-άνοσων και προ-φλεγμονωδών γονιδίων, σε αντίθεση με τα γλυκοκορτικοειδή που καταστέλλουν το ανοσοποιητικό σύστημα και την απάντηση φλεγμονής. Η χημική αλληλεπίδραση του υποδοχέα των γλυκοκορτικοειδών και του NF kappaB οδηγεί σε αμοιβαίο ανταγωνισμό των δυο μορίων <sup>(10,11)</sup>. Ο μεταγραφικός παράγοντας NF kappaB είναι ένα ετεροδιμερές, που αποτελείται από δύο λειτουργικές υπομονάδες, τις p50 και p65. Ο υποδοχέας των γλυκοκορτικοειδών ανταγωνίζεται

ειδικά την p65 υπομονάδα, δεδομένου ότι πολλαπλές περιοχές του υποδοχέα είναι απαραίτητες για την καταστολή την ενεργοποίησης του NF kappaB από την p65.

Η έρευνα για φάρμακα που ανταγωνίζονται τη δράση των γλυκοκορτικοειδών στρέφεται και προς τις ενώσεις εκείνες, που μπορούν να αποτρέψουν την ενεργοποίηση του υποδοχέα των γλυκοκορτικοειδών (GR). Ο GR είναι ένας μεταγραφικός παράγοντας, που ενεργοποιείται όταν προσδεθεί με κάποιο γλυκοκορτικοειδές. Η προσδετική του ικανότητα ελέγχεται από μια πρωτεΐνη θερμικού σοκ 90-kDa (heat shock protein 90, hsp90). Εξετάζεται η δυνατότητα δημιουργίας ενός τύπου του γλυκοκορτικοειδικού υποδοχέα, που να παραμένει ενωμένος με την hsp90, χάνοντας έτσι την ικανότητα πρόσδεσης με την ορμόνη. Πράγματι, όταν κανονικά κύτταρα υποβληθούν σε αγωγή με τον ανταγωνιστή της καλμοδουλίνης φαινοξυβενζαμίνη (POBA), αναστέλλονται οι δομικές αλλαγές, που προκαλεί η πρόσδεση της ορμόνης στον υποδοχέα και η ακόλουθη μετανάστευσή του στον πυρήνα <sup>(12)</sup>. Τα αποτελέσματα αυτά φωτίζουν την πιθανή θεραπευτική χρήση της φαινοξυβενζαμίνης και άλλων αναστολέων της καλμοδουλίνης, ως γλυκοκορτικοειδικών ανταγωνιστών.

Η κινάση JNK (c-Jun N-terminal kinase) φωσφορυλιώνει *in vitro* τον γλυκοκορτικοειδικό υποδοχέα. Η κύρια θέση φωσφορυλίωσης είναι η Ser-246. Η επιλεκτική ενεργοποίηση της JNK *in vivo* αναστέλλει τη μεταγραφή γονιδίων, που προκαλείται από το γλυκοκορτικοειδικό υποδοχέα. Η αναστολή αυτή εξαρτάται από την άμεση φωσφορυλίωση του υποδοχέα στη Ser-246, που εμποδίζει τη μεταγραφική του ικανότητα <sup>(13, 14)</sup>. Η φωσφορυλίωση του GR από τη JNK κινάση προσφέρει ένα πιθανό μηχανισμό άμεσης αναστολής της γλυκοκορτικοειδικής επίδρασης στα γονίδια, όταν αυτό είναι επιθυμητό, σε περιπτώσεις μιτωγόνων και προφλεγμονωδών σημάτων.



## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Margioris A, Gravanis A, Chrousos G 1994. Glucocorticoids and Mineralocorticoids. In "Human Pharmacology: molecular to clinical" 2th edition, Brondy G, Larner J, Minneman K, Neu H (eds), Mosby, New York (publs) pp 473-481
2. Bamberger CM, Schulte HM, Chrousos GP 1996. Molecular determinants of glucocorticoid receptor function and tissue sensitivity to glucocorticoids. *Endocr Rev* 17:245-261
3. Bamberger CM, Bamberger AM, de Castro M, Chrousos GP 1995. Glucocorticoid receptor beta, a potential endogenous inhibitor of glucocorticoid action in humans. *J Clin Invest* 95:2435-2441
4. Koukouritaki E, Theodoropoulos P, Margioris A, Gravanis A, Stournaras C. 1996. Dexamethasone alters rapidly actin polymerization dynamics in human endometrial cells: evidence for non-genomic actions involving cAMP turnover. *J Cell Biochem*, 64:251-261
5. Schimmer B, Parker K. 1996. Adrenocorticotrophic hormone: adrenocortical steroids and their synthetic analogs: inhibitors of the synthesis and actions of adrenocortical hormones. In "The pharmacological basis of therapeutics" 9th edition, Hardman J, Limbird L (eds) McGraw-Hill, New York (publs) pp1459-1485
6. Gravanis A, Schaison G, George M, Satyaswaroop P, Baulieu EE, Robel P. 1985. Endometrial and Pituitary responses to the steroidal antiprogestin RU486 in post-menopausal women. *J Clin Endocrinol.Metab* 60:156-163
7. Kawal SL, Nieman L, Brandon D, Udelsman R, Loriaux DL, Chrousos GP. 1987. Pharmacokinetic properties of the antiglucocorticoid and antiprogestin steroid RU 486 in man. *J Pharmacol Exp Ther* 241:401-406
8. Nieman L, Chrousos GP, Kellner C, Spitz IM, Nisula B, Cutler G, Merriam GR, Ba4rdin W, Loriaux DL. 1985. Successful treatment of Cushing's syndrome with the glucocorticoid antagonist RU 486. *J Clin Endocrinol Metab* 61:536-540
9. Philips A, Maira M, Mullick A, Chamberland M, Lesage S, Hugo P, Drouin J 1997 Antagonism between Nurr77 and glucocorticoid receptor for control of transcription. *Mol Cell Biol* 17:5952-5959
10. Ray A, Prefontaine KE 1994 Physical association and functional antagonism between the p65 subunit of transcription factor NF-kappa B and the glucocorticoid receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A* 91:752-756
11. McKay LI, Cidlowski JA 1998 Cross-talk between nuclear factor-kappa B and the steroid hormone receptors: mechanisms of mutual antagonism. *Mol Endocrinol* 12:45-56
12. Ning YM, Sanchez ER 1996 In vivo evidence for the generation of a glucocorticoid receptor-heat shock protein-90 complex incapable of binding hormone by the calmodulin antagonist phenoxybenzamine. *Mol Endocrinol* 10:14-23
13. Rogatsky I, Logan SK, Garabedian MJ 1998 Antagonism of glucocorticoid receptor transcriptional activation by the c-Jun N-terminal kinase. *Proc Natl Acad Sci U S A* 95:2050-2055
14. Caelles C, Gonzalez-Sancho JM, Munoz A 1997 Nuclear hormone receptor antagonism with AP-1 by inhibition of the JNK pathway. *Genes Dev* Dec 11:3351-3364

*Πίνακας 1: Βιοχημικές δράσεις των γλυκοκορτικοειδών*

<b>ΣΥΣΤΗΜΑ</b>	<b>ΕΠΙΔΡΑΣΗ</b>	<b>ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΔΡΑΣΗΣ</b>
Μεταβολισμός υδατανθράκων και πρωτεϊνών	-Αύξηση των επιπέδων γλυκόζης στο αίμα	-Ενεργοποίηση της ηπατικής βιοσύνθεσης γλυκόζης από αμινοξέα και γλυκερόλη -Καταβολισμός πρωτεϊνών και προμήθεια με τα απαραίτητα αμινοξέα -Ενεργοποίηση της λιπόλυσης για προμήθεια γλυκερόλης -Απόθεση γλυκόζης στο γλυκογόνο του ήπατος -Μείωση της περιφερικής κατανάλωσης γλυκόζης
Μεταβολισμός λιπιδίων	-Ανακατανομή του σωματικού λίπους -Λιπόλυση	-Διευκόλυνση της λιπολυτικής δράσης των β-αδρενεργικών αγωνιστών και των αυξητικών ορμονών
Ισορροπία ύδατος και ηλεκτρολυτών	-Μείωση του συνολικού σωματικού ασβεστίου -Επαναπορόφηση νατρίου, κατακράτηση ύδατος	-Μείωση της εντερικής πρόσληψης ασβεστίου, αύξηση της έκκρισης ασβεστίου στους νεφρούς -Πρόσδεση στους υποδοχείς αλδοστερόνης
Καρδιαγγειακό σύστημα	-Υπέρταση	-Ίσως μέσω αύξησης της ευαισθησίας του αγγειακού τοιχώματος σε αγγειοδραστικούς παράγοντες, με επαγωγή της έκφρασης των γονιδίων των αδρενεργικών υποδοχέων
Σκελετικοί μύς	-Κεντρική μυϊκή αποδυνάμωση (στεροειδική μυοπάθεια)	-Ίσως εξαιτίας υπερβολικού καταβολισμού των πρωτεϊνών
Κότταρα του αίματος	-Μειωμένος αριθμός λεμφοκυττάρων, μονοκυττάρων, ηωσινοφίλων, βασεόφιλων -Αυξημένος αριθμός πολυμορφοπύρηνων λεμφοκυττάρων	-Επαγωγή της κυτταρικής απόπτωσης -Διέγερση της έκκρισης από το μυελό των οστών
Ανοσολογική απάντηση/απάντηση φλεγμονής	-Περιορισμός της απάντησης φλεγμονής -Μείωση της ανοσολογικής απάντησης	-Αναστέλλει την παραγωγή αγγειοδραστικών και χημειοτακτικών παραγόντων (προσταγλανδίνες, ισταμίνη, λευκοτριένια) -Αυξάνει την έκκριση λιπολυτικών και πρωτεολυτικών ενζύμων -Μειώνει την εξαγγείωση των λεμφοκυττάρων και την ιστική ίνωση -Μειώνει την παραγωγή και έκκριση κυτταροκινών (IL-1, IL-2, IL-3, IL-6, TNF-α, IFN-γ, GM-CSF)

Εικόνα 1: Βιοσύνθεση των γλυκοκορτικοειδών Τα επινεφρίδια του ανθρώπου αποτελούνται από δύο μοίρες: το φλοιό, που βρίσκεται εξωτερικά και αποτελεί το 90% του συνολικού τους βάρους και το μυελό, που καταλαμβάνει το εσωτερικό τους. Ο φλοιός των ηνθλίκων διαχωρίζεται σε τρεις ζώνες: α) τη σπειροειδή ζώνη (zona glomerulosa) εξωτερικά, β) τη στηλιδωτή ζώνη (zona fasciculata) στο μέσον και γ) τη δικτυωτή ζώνη (zona reticularis) εσωτερικά σε άμεση επαφή με το μυελό. Η σύνθεση των γλυκοκορτικοειδών πραγματοποιείται κυρίως στη στηλιδωτή ζώνη, που αποτελεί το 75% του βάρους του αδένα. Το πρόδρομο μόριο για τη σύνθεση της κορτιζόλης είναι η χοληστερόλη. Η εστεροποιημένη χοληστερόλη υδρολύεται από την υδρολάση του εστέρα της χοληστερόλης, μεταφέρεται στο εσωτερικό των μιτοχονδρίων από μια πρωτεΐνη φορέα στερολών και μετατρέπεται σε πρεγνενολόνη (εικ.1). Στη συνέχεια η πρεγνενολόνη υδροξυλιώνεται από το ένζυμο 17α-υδροξυλάση προς 17α-υδροξυπρεγνενολόνη. Από την τελευταία σχηματίζεται η 17α-υδροξυπρογεστερόνη με αντικατάσταση του διπλού δεσμού 5-6 με διπλό δεσμό μεταξύ των θέσεων 4-5. Την αντίδραση καταλύει το ενζυμικό σύμπλοκο 3β-OH-δενδρογενάση/Δ5-ισομεράση. Ένα μικρό ποσοστό πρεγνενολόνης μετατρέπεται πρώτα σε προγεστερόνη και μετά υδροξυλιώνεται στη θέση 17 προς 17α-υδροξυπρογεστερόνη. Στη στηλιδωτή ζώνη η 17α-υδροξυπρογεστερόνη υφίσταται δύο διαδοχικές υδροξυλιώσεις. Αρχικά υδροξυλιώνεται από το ένζυμο 21-υδροξυλάση (ευρισκόμενο στο ενδοπλασματικό δίκτυο) στον C21 προς 11-δεοξυκορτιζόλη ή ουσία S. Στη συνέχεια η ουσία S υδροξυλιώνεται από το ένζυμο 11β-υδροξυλάση (ευρισκόμενο στο εσωτερικό των μιτοχονδρίων) στον C11 προς κορτιζόλη ή ουσία F. Στη σπειροειδή ζώνη, όπου απουσιάζει το ένζυμο 17α-υδροξυλάση, η πρεγνενολόνη μετατρέπεται σε προγεστερόνη και ακολουθεί τη βιοσυνθετική οδό της αλδοστερόνης.

