

Received: 2005.03.01  
Accepted: 2005.08.03  
Published: 2005.09.13

## Mechanizm niewrażliwości na glukokortykosteroidy w stwardnieniu rozsianym

### The mechanism of glucocorticoid resistance in multiple sclerosis

**Beata Rzążewska-Mąkosa**

Katedra i Klinika Neurologii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi

#### Streszczenie

Glukokortykosteroidy (GS) wprowadzono do leczenia stwardnienia rozsianego (SM) i innych chorób autoimmunologicznych ze względu na silne właściwości przeciwzapalne i immunosupresyjne. W stwardnieniu rozsianym GS stosuje się przede wszystkim do zwalczania rzutów choroby. Większość chorych wykazuje dobrą odpowiedź na GS. Spotyka się jednak osoby, które są niewrażliwe na ich działanie, co stanowi znaczny problem kliniczny. W SM zjawisko niewrażliwości na GS nie zostało dotychczas wyczerpująco opracowane. W początkowym okresie choroby pacjentów niewrażliwych na GS jest poniżej 5%. Określa się ich jako pierwotnie niewrażliwych na GS. Istnieje też grupa chorych, u której pomimo początkowo dobrej odpowiedzi terapeutycznej, kolejne zastosowanie GS nie przynosi korzyści. Ta grupa jest liczniejsza i takich chorych może być nawet do 30%. Mechanizm niewrażliwości pierwotnej ma podłoże genetyczne i jest związany z mutacją w obrębie genu receptora GS (GR). Bardziej zróżnicowane są mechanizmy niewrażliwości wtórnej. Znany jest tylko jeden GR, ale występuje on w trzech izoformach: GR alfa, GR beta i GR gamma. Prawidłową izoformą receptora jest GR alfa i tylko on zapewnia indukcję czynników przeciwzapalnych. Izoformy beta i gamma wiążą GS, ale nie aktywują transkrypcji zależnej od GS. Izoformy te powstają częściej w komórkach znajdujących się w ogniskach zapalnych. Mechanizm niewrażliwości wtórnej jest związany także z indukowanymi zaburzeniami immunologicznymi, w tym przede wszystkim zależy od zwiększonego wytwarzania interleukiny IL-2, IL-4 i IL-13. Mechanizm ten tłumaczy się tym, iż interleukiny indukują powstawanie czynnika transkrypcyjnego AP-1, który konkuruje z kompleksem GS/GR o miejsca wiązania na DNA. Ponadto IL-2 opóźnia przemieszczanie się kompleksu do jądra komórkowego. W ocenie niewrażliwości na GS należy uwzględnić czynniki dodatkowe, w tym m.in. wiarygodność stosowania leku przez chorych.

#### Słowa kluczowe:

stwardnienie rozsiane • niewrażliwość na glukokortykosteroidy • receptor glukokortykosteroidów • pierwotna i wtórna niewrażliwość

#### Summary

Glucocorticoids (GCs) are used in the treatment of multiple sclerosis (MS) and other autoimmune diseases due to their significant anti-inflammatory and immunosuppressive effects. In MS, GCs are mainly used in the treatment of clinical relapses. Most patients benefit from GCs, except for some who are resistant. These patients pose a serious clinical problem. GC resistance in MS has not been widely elaborated. Less than 5% of MS patients do not respond to GCs in the early phase of the disease, and these are considered as having primary resistance to GCs. There is also a group of patients who develop GC resistance later, after a good therapeutic response at the beginning of therapy. This secondary type of resistance is more common and may

apply to as many as 30% of all patients. Primary GC resistance has a genetic origin and is associated with a mutation within the GR. The mechanisms of secondary GC resistance are more diverse. There is only one receptor for GCs, but it can occur in three isoforms: GR alpha, GR beta, and GR gamma. GR alpha secures the appropriate GC signaling transmission, whereas GR beta and gamma bind to GC, but prevent the GC/GR complex from DNA activation. Thus both these latter forms of GR inhibit GC activity. The beta and gamma isoforms of GR become more common in cells at the inflammatory foci. Another mechanism of secondary GC resistance depends on the induction of cytokines during inflammatory processes. Interleukins 2, 4, and 13 are over-produced and lead to the induction of transcriptional factor AP-1. AP-1 competes with the GC/GR complex for the binding site on DNA. In addition, IL-2 slows the transport of the GC/GR complex to cell nuclei. In assessing GC resistance it is important to consider additional factors, such as patient compliance with the treatment.

**Key words:** multiple sclerosis • glucocorticosteroid resistance • glucocorticosteroid receptors • primary resistance • secondary resistance

**Full-text PDF:** [http://www.phmd.pl/pub/phmd/vol\\_59/8122.pdf](http://www.phmd.pl/pub/phmd/vol_59/8122.pdf)

**Word count:** 2568

**Tables:** –

**Figures:** 2

**References:** 55

**Adres autorki:** mgr farm. Beata Rządewska-Mąkosa, Klinika Neurologii UM, ul. Kopcińskiego 22, 90-153 Łódź; e-mail: beata.rzazewska@schering.de

**Wykaz skrótów:** **AP-1** – czynnik transkrypcyjny AP-1; **CBP** – białko łączące CREB; **DBD** – domena wiążąca DNA; **Ets** – czynnik transkrypcyjny; **GR** – receptor glukokortykosteroidowy; **GRE** – element odpowiedzi na glukokortykosteroid; **GS** – glukokortykosteroidy; **hsp 90** – białko szoku cieplnego 90; **IL** – interleukina; **INF** – interferon; **JNK** – kinaza c-jun; **MIP** – białko zapalne makrofagów; **NF-κB** – czynnik transkrypcyjny κB; **NL 1** – sygnał lokalizacji jądrowej 1; **NL 2** – sygnał lokalizacji jądrowej 2; **RANTES** – regulowany przez aktywację, ekspresja i wydzielanie przez prawidłowe limfocyty T; **Oct** – czynnik transkrypcyjny; **Pol II** – polimeraza RNA II; **SM** – stwardnienie rozsiane (sclerosis multiplex); **SRC** – koaktywator receptora steroidowego; **STAT** – transduktory sygnału i aktywatory transkrypcji; **TBP** – białko wiążące kasetę TATA; **TF** – czynnik przenoszenia; **TNF** – czynnik martwicy nowotworu

## WSTĘP

Glukokortykosteroidy (GS) należą do najbardziej powszechnie stosowanej grupy leków w chorobach autoimmunologicznych [16,28,32,46]. Działają one przeciwzapalnie i immunosupresyjnie. Mechanizm działania jest wielokierunkowy. Udowodniono, że zmniejszają one syntezę cytokin prozapalnych: m.in. interleukin IL-1, IL-2 i IL-6, czynnika martwicy nowotworów alfa (TNF-α), interferonu gamma (INF-γ). Udowodniono również, że zwiększają ekspresję cytokin immunoregulacyjnych, takich jak IL-4 i IL-10. Przede wszystkim jednak GS hamują proliferację limfocytów T stymulowanych antygenem lub mitogenem. W dużych dawkach GS powodują również apoptozę limfocytów T [18,38]. Wszystkie te mechanizmy prowadzą do zahamowania reakcji immunologicznej.

W związku z tak dużą różnorodnością mechanizmów działania oraz silnymi właściwościami przeciwzapalnymi, GS zostały wprowadzone do farmakoterapii wielu chorób zapalnych i autoimmunologicznych, w tym do leczenia stwardnienia rozsianego (SM). Chociaż większość chorych na choroby autoimmunologiczne wykazuje dobrą odpowiedź na stosowanie GS, to jednak spotyka się osoby, u których po-

mimo stosowania dużych dawek GS, nie obserwuje się zahamowania patologicznych reakcji autoimmunologicznych [16,28,32,46]. Zjawisko to, określane jako niewrażliwość na działanie GS, stanowi bardzo poważny problem kliniczny, ponieważ zastosowanie najsilniej działających leków przeciwzapalnych spośród środków leczniczych nie przynosi spodziewanego efektu terapeutycznego. Mechanizmy niewrażliwości na GS są wielorakie i ciągle nie do końca wyjaśnione. Stąd zagadnienie niewrażliwości na kortykosteroidy budzi duże zainteresowanie współczesnej medycyny.

## NIEWRAŻLIWOŚĆ NA GS W STWARDNIENIU ROZSIANYM

Zjawisko niewrażliwości na glukokortykosteroidy zostało dość dobrze poznane w różnych chorobach autoimmunologicznych, np. w astmie, w chorobie Crohna i przewlekłym zapaleniu zatok. Jednak tylko nieliczne publikacje dotyczą tego zagadnienia w SM [12,14,29,48]. Steroidy w SM są stosowane przede wszystkim do zwalczania zaostrzeń (rzutów) choroby. Mimo że nigdy nie zostało to ocenione w badaniu kontrolowanym, powszechnie zaakceptowano podawanie w tej sytuacji metyloprednizolonu w dawce 1,0 g dożylnie przez 3–5 dni. W wyjątkowo ciężkich rzutach stosuje się metyloprednizolon dłużej. Po okresie podawania leku dożylnie zazwy-

czaj kontynuuje się podawanie metyloprednizolonu doustnie, w dawkach zmniejszających od 32 do 8 mg w okresie 10–14 dni. Wcześniej, w leczeniu rzutów SM stosowano doustnie prednizon w dawce 60 mg na dzień, w dawkach zmniejszających przez miesiąc. Z obserwacji klinicznych wynika, że wyżej wymieniony sposób leczenia istotnie skraca czas rzutu i zmniejsza nasilenie objawów neurologicznych u większości chorych na SM. Istnieje jednak podgrupa chorych, u których pomimo zastosowania kuracji GS, nie obserwuje się poprawy klinicznej [12,14,30]. W SM nie ma jednoznacznie ustalonych kryteriów niewrażliwości na GS. W niektórych innych chorobach autoimmunologicznych np. w astmie, kryteria niewrażliwości na GS są dokładnie określone, z wykorzystaniem wymiernej oceny GS na rozkurcz oskrzeli [10]. Można jednak przyjąć, że w SM obniżona wrażliwość na GS (lub jej brak) występuje wtedy, gdy kuracja metyloprednizolonem, która ma na celu złagodzenie nowych lub zmniejszenie nasilenia już istniejących objawów neurologicznych występujących w związku z rzutem choroby, nie przynosi spodziewanego efektu terapeutycznego. Zjawisko niewrażliwości na steroidy może mieć płynny charakter i u pacjenta niereagującego na dawkę standardową można osiągnąć poprawę stanu klinicznego, stosując dawkę znacznie większą. W praktyce klinicznej czasami można to zjawisko zaobserwować, gdy po niepowodzeniu zastosowania standardowej kuracji metyloprednizolonem w czasie rzutu SM ponawia się kurację i osiąga chociaż częściową poprawę stanu neurologicznego. W początkowym okresie SM pacjentów niewrażliwych na GS jest poniżej 5% (obserwacje własne). Takich pacjentów, przez analogie do innych chorób autoimmunologicznych [21,23,28,32], określa się jako pierwotnie niewrażliwych na GS. Istnieje jednak druga grupa chorych, u których początkowo obserwuje się dobrą odpowiedź terapeutyczną na GS, ale po kilkukrotnym ich zastosowaniu kolejna terapia metyloprednizolonem nie przynosi żadnej korzyści. Takich pacjentów określa się jako wtórnie niewrażliwych na GS. Ta grupa jest znacznie liczniejsza i według obserwacji klinicznych takich chorych może być nawet 20–30%. Niewrażliwość na GS w innych chorobach autoimmunologicznych oceniana jest również na 25–30% [10,24,43]. Bardzo niewiele wiadomo na temat mechanizmów doprowadzających do pierwotnej lub wtórnej niewrażliwości na GS w SM. Ostatnio, stosując test hamowania przez deksametazon proliferacji limfocytów osób zdrowych, stwierdzono w 30% przypadków niedostateczne jego działanie. Wskazuje to, iż problem niewrażliwości na GS może być zauważalny nie tylko u osób chorych, ale również może istnieć w populacji osób zdrowych.

#### **MOLEKULARNE PODSTAWY DZIAŁANIA GLUKOKORTYKOSTEROIDÓW**

Molekularny mechanizm działania GS został w dużej mierze wyjaśniony. GS po dyfuzji przez błonę komórkową przyłączają się do receptora steroidowego (GR), który jest umiejscowiony w cytoplazmie. Następnie powstały aktywny kompleks receptorowy przemieszcza się z udziałem białek transportowych do jądra komórkowego. Jednym z istotnych składników kompleksu jest białko szoku cieplnego hsp 90. Uważa się, że dysocjacja tego białka z kompleksu, spowodowana wiązaniem z GS, wpływa na ujawnienie się sekwencji sygnału lokalizacji jądrowej 1 (NL1) i 2 (NL2), które umożliwiają przemieszczenie kompleksu do jądra. Do tej samej nadrodziny co GR należą też receptory mineralokortykosteroidów, androgenów, estrogenów, progesteronu, witaminy D i hormonów tarczycy. W istocie kompleks GS z recepto-

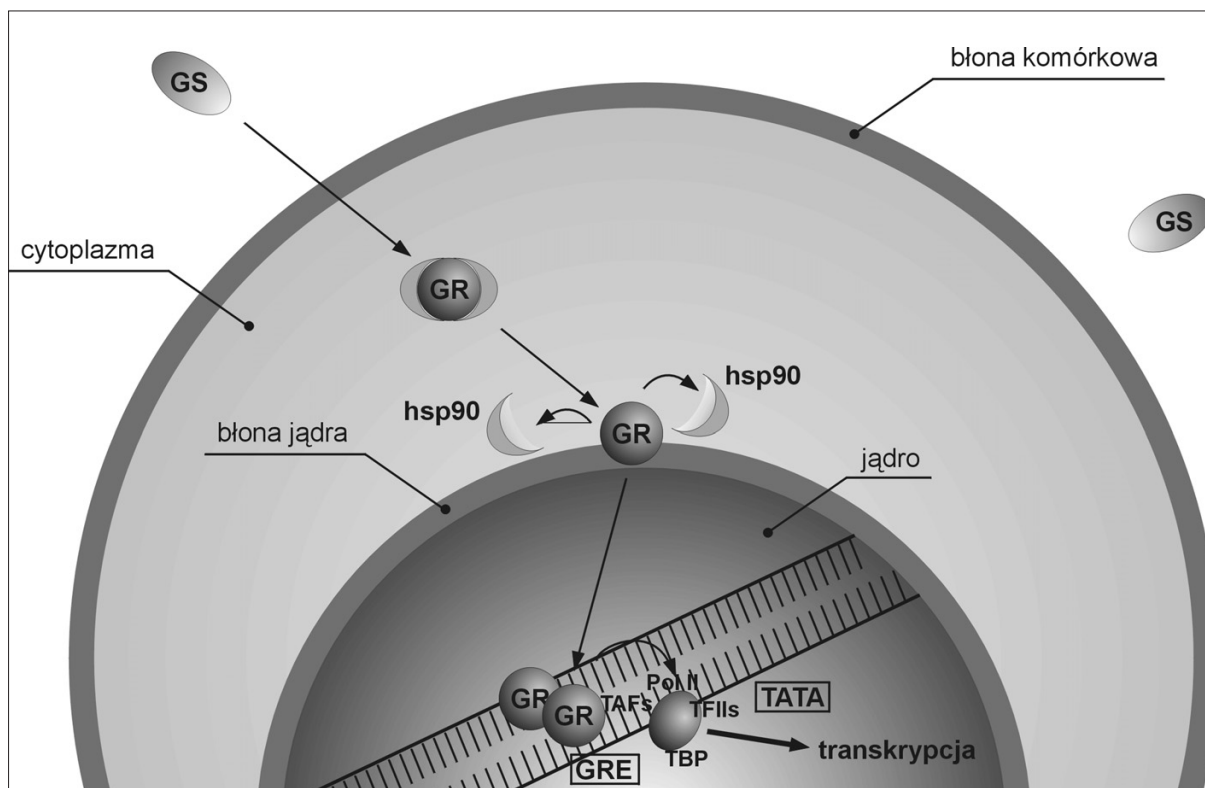
rem działa na zasadzie czynnika transkrypcyjnego. W jądrze komórkowym kompleks ten przyłącza się do określonej sekwencji DNA – elementu odpowiedzi na GS, utworzonego przez 15 par zasad i wpływa na aktywność transkrypcyjną genów związanych z aktywacją GS i wpływa na wzmocnienie działania mechanizmów transkrypcji [37]. Istotny element w mechanizmie działania białek koaktywatorowych polega na acetylacji histonów i umożliwieniu interakcji GR z sekwencjami promotorowymi genów aktywowanych przez GS [2,47]. Istnieją też białka deacetylujące histony i hamujące działanie transkrypcyjne GR [1,50]. Ostatnio zwrócono również uwagę na to, że GR może indukować transkrypcję nie tylko poprzez interakcję ze swoim swoistym elementem odpowiedzi na GS, ale również może wpływać na ten proces w sposób nieswoisty, poprzez stymulację innych czynników transkrypcyjnych, takich jak STAT5, STAT3, Oct i Ets [8,15,33,39,40,55]. Dodatkowym mechanizmem kontrolującym działanie GR jest jego fosforylacja po połączeniu z GS. Istnieje kilka miejsc fosforylacji, z których część powoduje szybsze przemieszczanie kompleksu GR do jądra, ale fosforylacja w innych powoduje hamowanie działania transkrypcyjnego przez GR [6].

Podstawową rolę w mechanizmie działania GS odgrywa indukcja genów hamujących zapalenie. Identyfikacja tych genów nie została jednak ciągle ukończona. Początkowo działanie GS łączono z aktywacją genu lipokortyny 1, będącej inhibitorem fosfolipazy A2, enzymu odgrywającego istotną rolę w procesach zapalnych [17]. Wydaje się jednak, że ważniejsze znaczenie w przeciwzapalnym działaniu GS odgrywa hamowanie genów kodujących prozapalne cytokiny, np. poprzez indukcję ekspresji niefunkcjonalnego receptora IL-1 oraz hamowanie genów inhibitorów proteinaz [42]. GS hamują ekspresję bardzo wielu genów cytokin prozapalnych, takich jak IL-1, IL-6, IL-11, IL-13, IL-16, TNF oraz chemokin, takich jak IL-8, RANTES, eotaksyny, MIP1 $\alpha$  i molekuł adhezyjnych [3,51,52]. Represja genów prozapalnych może odbywać się na zasadzie utrudniania dostępu czynników transkrypcyjnych dla czynników zapalnych, które indukują ich ekspresję. Do takich czynników transkrypcyjnych należy AP-1 i NF- $\kappa$ B. Interakcja kompleksu GS z AP-1 i NF- $\kappa$ B doprowadza do zahamowania ich aktywności transkrypcyjnej. Należy pamiętać, że AP-1 i NF- $\kappa$ B są zaangażowane w transkrypcję bardzo wielu czynników odgrywających rolę w zapaleniu. Mechanizm zahamowania działania AP-1 i NF- $\kappa$ B odbywa się poprzez ich interakcję z domeną niewiążącą się z DNA receptora GS [5,31].

Tak więc, molekularny mechanizm działania przeciwzapalnego GS w tkankach i komórkach jest bardzo różnicowany, co powoduje jego skuteczność i wszechstronność.

#### **TYPY NIENRAŻLIWOŚCI NA GLUKOKORTYKOSTEROIDY**

Mechanizm niewrażliwości na GS dzieli się na pierwotny i wtórny. Podział ten nawiązuje do obserwacji klinicznych



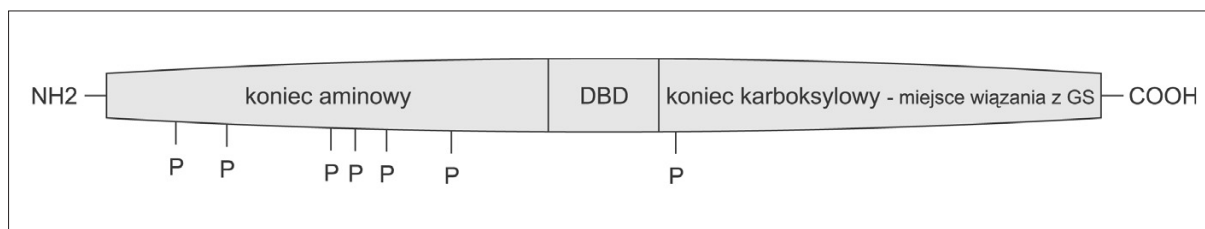
Ryc. 1. Schemat przekazywania sygnału indukowanego przez GS do jądra komórkowego. GS – glukokortykosteroidy, GR – receptor glukokortykosteroidów, GRE – element odpowiedzi na glukokortykosteroid, TBP – białko wiążące kasetę TATA, Pol II – polimeraza RNA II, TF – czynnik transkrypcyjny

wskazujących, że jedną grupę stanowią chorzy, którzy po pierwszym zastosowaniu GS nie reagują na to leczenie. Inną, zdecydowanie licniejszą grupę stanowią chorzy, u których niewrażliwość na glukokortykosteroidy rozwija się dopiero po kilkukrotnym zastosowaniu GS. Uważa się, iż niewrażliwość pierwotna (typ I) ma podłoże genetyczne i jest związana z mutacją w obrębie genu GR, natomiast niewrażliwość wtórna (typ II) wiąże się z indukowanymi zaburzeniami immunologicznymi, które tworzą takie warunki, że działanie GS nie jest możliwe. Mechanizm niewrażliwości wtórnej, może też mieć komponentę genetyczną, warunkującą łatwiejsze powstawanie czynników, które osłabiają działanie GS (patrz niżej) [44]. Typ II często jest określany jako zależny od działania cytokin.

W typie II wyróżnia się podtyp II A, który ma podłoże genetyczne i podtyp II B, który jest związany wyłącznie z czynnikami zapalnymi lub działaniem samych GS. W obu podtypach mechanizm niewrażliwości jest związany z aktywacją immunologiczną, w wyniku której powstają warunki znoszące działanie GS. W typie II niewrażliwości na GS, który stanowi co najmniej 95% przypadków, niewrażliwość dotyczy tylko tkanek zmienionych zapalnie. Zdrowe tkanki reagują prawidłowo na GS, w związku z tym często u tych chorych obserwuje się objawy niepożądane związane ze stosowaniem GS. Dlatego ten typ niewrażliwości bywa też określany jako indukowany przez GS. W typie I niewrażliwości nie obserwuje się objawów niepożądanych stosowania GS, ponieważ wszystkie tkanki, te zmienione zapalnie, jak i zdrowe, nie reagują na GS z powodu defektu genetycznego GR.

Mechanizm niewrażliwości typu II polega na tym, iż w środowisku zapalnym, przede wszystkim w limfocytach, występuje utrudnione łączenie się GS z GR i również osłabione łączenie się kompleksu GS/GR z DNA. Stąd aktywność prozapalna limfocytów nie jest skutecznie hamowana przez GS. Podstawową rolę w tym zjawisku odgrywa działanie cytokin IL-2, IL-4 i IL-13 [26]. Powodują one aktywację kinazy JNK, co prowadzi do zwiększonej fosforylacji czynnika transkrypcyjnego AP-1 [45]. Z kolei AP-1 konkuruje z kompleksem GS/GR o miejsca wiązania na DNA. Szczególną rolę w powstawaniu niewrażliwości na GS pełni IL-2, ponieważ dodatkowo powoduje ona zahamowanie przemieszczania się kompleksu GS/GR do jądra komórki. Mechanizm hamowania przemieszczania się kompleksu GS/GR polega na tym, że IL-2 indukuje powstanie czynnika transkrypcyjnego STAT5, który łączy się z kompleksem GS/GR i zatrzymuje go w cytoplazmie [19].

Niedawno wykazano jednak zupełnie nowy mechanizm molekularny niewrażliwości na GS w typie II. Jest on związany z nieprawidłową postacią GR. Istnieje tylko jeden receptor glukokortykosteroidów, ale występuje w trzech izoformach: GR alfa, GR beta i GR gamma [20,49]. Prawidłową postacią receptora to GR alfa, ma odpowiednią strukturę przestrzenną umożliwiającą wiązanie się z GS [4,35,36]. Nieprawidłowa postać izomeryczna GR beta odróżnia się od postaci GR alfa końcem karboksylowym w domenie wiążącej hormon. W związku z tym nie następuje wiązanie GR z GS [13]. Zachowana jest natomiast zdolność wiązania GR z DNA i w wyniku tego dochodzi do blokowania wiązania prawidłowej izoformy GR alfa z DNA na zasadzie dominującego



Ryc. 2. Funkcjonalna mapa GR

efektu ujemnego (dominant negative effect) [34]. Ponadto GR beta ma co najmniej dwukrotnie wydłużony okres półtrwania w porównaniu z GR alfa, przez co zdolność blokowania miejsc wiążących GR alfa do DNA jest odpowiednio wydłużona i prowadzi do akumulacji nieprawidłowej postaci GR beta [54]. Wykazano ponadto, że GR beta łączy się w jądrze komórkowym bezpośrednio z GR alfa w heterodimer i w ten dodatkowy sposób uniemożliwia łączenie się GR alfa z DNA [34,54]. Istnieje jeszcze jedna nieprawidłowa postać izomeryczna GR, GR gamma, która odróżnia się od GR alfa dodatkową resztą argininową w części łączącej się z DNA – domenę wiążącą DNA. Zmiana ta powoduje, że ta postać izomeryczna ma zmniejszoną aktywność transkrypcyjną [20]. Obie nieprawidłowe izoformy GR powstają w wyniku zaburzonego alternatywnego składania GR. Wykazano, iż w środowisku zapalnym IL-2, IL-4, IL-8 i TNF aktywują mechanizmy alternatywnego składania (cis-splicing) zależne m.in. od białek bogatych w serynę i argininę, które doprowadzają do zwiększonego powstawania mRNA kodującego – izoformy GR beta i GR gamma. W konsekwencji prowadzi to do wtórnej niewrażliwości na glukokortykosteroidy [20,28]. Ponadto TNF za pośrednictwem NF- $\kappa$ B aktywuje główny promotor genu GR i nasila transkrypcję GR, a ponieważ izoforma GR beta ma dwukrotnie dłuższy czas półtrwania niż prawidłowa izoforma GR alfa, dlatego ilość GR beta zwiększa się w komórce w warunkach zapalnych. Zwiększone stężenie GR beta stwierdzono m.in. u pacjentów z niewrażliwością na GS z astmą [10], z chorobą Crohna [23], z przewlekłym zapaleniem zatok [21].

### CZYNNIKI SPRZYJAJĄCE NIEWRAŻLIWOŚCI NA GS

Istnieją dodatkowe czynniki, które sprzyjają rozwojowi niewrażliwości na GS. Należy do nich nadmierne wytwarzanie IL-4. Istnieje polimorfizm promotora genu IL-4, który jest związany ze znacznym wytwarzaniem tej cytokiny. U osób z genotypem, w którym w pozycji 589 genu występuje cytozyna zamiast tyminy, transkrypcja IL-4 następuje szybciej [7,41]. Osoby te częściej wykazują oporność na działanie GS [41]. Ponadto istnieje też polimorfizm receptora IL-4, który jest związany z większą wrażliwością na IL-4.

Zaobserwowano, iż wrażliwość na GS może zmniejszać się w czasie infekcji. Badając to zagadnienie, stwierdzono, że pacjenci z obniżoną wrażliwością na GS mają znacznie częściej rearanżację genu receptora limfocyty T (TCR) o typie BV8, tzn. dominuje łańcuch beta 8. Taka rearanżacja cechuje limfocyty reagujące na superantygen. Natomiast proliferacja limfocytów stymulowanych superantygenem w mniejszym stopniu jest hamowana przez GS niż po stymulacji mitogenem lub antygenem. Wskazuje to, że bakterie i wirusy wykorzystując superantygeny mogą

zmniejszać działanie przeciwzapalne GS. Ostatnio wykazano także, iż superantygen indukuje powstawanie izoformy GR beta [22,27].

### POSTĘPOWANIE Z NIEWRAŻLIWOŚCIĄ NA GLUKOKORTYKOSTEROIDY

Postępowanie z niewrażliwością na glukokortykosteroidy u chorych z chorobami autoimmunologicznymi jest dużym wyzwaniem dla klinicystów. W przypadku SM konieczna jest wnikliwa ocena diagnostyczna w celu wykluczenia innych przyczyn objawów neurologicznych. Bardzo ważnym elementem w ocenie wrażliwości na GS w SM jest stwierdzenie, czy stan neurologiczny uległ pogorszeniu w wyniku nasilenia procesu zapalnego w obrębie ośrodkowego układu nerwowego, czy pogorszenie ma bardziej trwałe charakter związany z procesami neurodegeneracyjnymi (aksonopatia). Ważnym elementem różnicowym w tym zakresie jest dynamika objawów neurologicznych.

Ponadto należy upewnić się, że chory rzeczywiście przyjmuje leki. Niezwykle ważnym elementem w postępowaniu z niewrażliwością na GS jest wpływ czynników psychicznych i społecznych. Na skutek np. ciężkich przeżyć psychicznych chory może zapominać o przyjmowaniu leku. Innym problemem jest brak możliwości finansowych, które uniemożliwiają regularne stosowanie leku. Rozpoznanie tych problemów jest istotne, aby obrać właściwą taktykę. Czasami edukacja pacjenta, bądź pisemny plan działania mogą być pomocne.

Kolejnym etapem postępowania jest ocena potencjalnego wpływu infekcji na wrażliwość związaną ze stosowaniem GS (patrz niżej). W szczególności należy zwrócić uwagę na infekcje oportunistyczne wywołane przez mikoplazmy lub *Chlamydia*. W takich przypadkach należy rozważyć odpowiednią antybiotykoterapię.

W postępowaniu z niewrażliwością na GS istotną rolę odgrywa ocena farmakokinetyczna glukokortykosteroidów i stwierdzenie, czy np. absorpcja kortykosteroidów jest całkowita lub czy nie następuje zbyt szybka ich eliminacja. Pomocne w tej ocenie może być określenie poziomu prednizonu w surowicy, w czasie takiej oceny należy rozważyć zmianę sposobu dawkowania GS.

Ostatecznie należy wziąć pod uwagę alternatywną terapię przeciwzapalną. Możliwość są w tym zakresie ograniczone, ale do zwalczania rzutu SM można próbować zastosować dożylnie immunoglobuliny, czy ewentualnie plazmaferezę [30].

### PODSUMOWANIE

Problem niewrażliwości na glukokortykosteroidy jest trudnym zagadnieniem o poważnych konsekwencjach klinicz-

nych. Niewrażliwość na GS obserwuje się w wielu chorobach autoimmunologicznych, w tym w stwardnieniu rozsianym. Zagadnienie niewrażliwości na GS w stwardnieniu rozsianym było mniej badane w porównaniu do innych chorób (np. astma). Obserwacje kliniczne wskazują, że niewrażliwość na GS w stwardnieniu rozsianym, podobnie jak w innych jednostkach chorobowych, ma charakter pierwotny i wtórny. Mechanizmy molekularne doprowadzające do niewrażliwości na GS są zróżnicowane i nie do końca wyjaśnione. Ostatnio szczególną uwagę zwraca się na to, że przyczyną niewrażliwości na GS może być nadmierne powstawanie nieprawidłowej postaci izomerycznej

receptora GR, GR beta. Ta postać izomeryczna receptora blokuje wiązanie GR alfa z DNA na zasadzie dominującego efektu ujemnego. Konieczne są dalsze badania, w tym w stwardnieniu rozsianym, nad weryfikacją hipotezy o głównym znaczeniu GR beta w niewrażliwości na glukokortykosteroidy. W postępowaniu z chorymi, u których występuje niewrażliwość na GS należy pamiętać o wykluczeniu kilku zewnętrznych czynników, takich jak współistniejące infekcje, przyjmowanie leków, prawidłowość rozpoznania. W przypadku stwardnienia rozsianego również jest bardzo ważne rozpoznanie nieodwracalnych zmian aksonalnych, ponieważ zmiany te nie reagują na działanie GS.

## PIŚMIENICTWO

- [1] Agarwal S., Viola J.P., Rao A.: Chromatin-based regulatory mechanisms governing cytokine gene transcription. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 1999; 103: 990-999
- [2] Allfrey V.G., Faulkner R., Mirsky A.E.: Acetylation and methylation of histones and their possible role in the regulation of RNA synthesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1964; 51: 786-794
- [3] Atsuta J., Plitt J., Bochner B.S., Schleimer R.P.: Inhibition of VCAM-1 expression in human bronchial epithelial cells by glucocorticoids. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.*, 1999; 20: 643-650
- [4] Bamberger C.M., Bamberger A.M., de Castro M., Chrousos G.P.: Glucocorticoid receptor beta, a potential endogenous inhibitor of glucocorticoid action in humans. *J. Clin. Invest.*, 1995; 95: 2435-2441
- [5] Barnes P.J., Karin M.: Nuclear factor-kappaB: a pivotal transcription factor in chronic inflammatory diseases. *N. Engl. J. Med.*, 1997; 336: 1066-1071
- [6] Bodwell J.E., Webster J.C., Jewell C.M., Cidlowski J.A., Hu J.M., Munck A.: Glucocorticoid receptor phosphorylation: overview, function and cell cycle-dependence. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, 1998; 65: 91-99
- [7] Burchard E.G., Silverman E.K., Rosenwasser L.J., Borish L., Yandava C., Pillari A., Weiss S.T., Hasday J., Lilly C.M., Ford J.G., Drazen J.M.: Association between a sequence variant in the IL-4 gene promoter and FEV(1) in asthma. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 1999; 160: 919-922
- [8] Cella N., Groner B., Hynes N.E.: Characterization of Stat5a and Stat5b homodimers and heterodimers and their association with the glucocorticoid receptor in mammary cells. *Mol. Cell. Biol.*, 1998; 18: 1783-1792
- [9] Chan H.M., La Thangue N.B.: p300/CBP proteins: HATs for transcriptional bridges and scaffolds. *J. Cell Sci.*, 2001; 114: 2363-2373
- [10] Chan M.T., Leung D.Y., Szefer S.J., Spahn J.D.: Difficult-to-control asthma: clinical characteristics of steroid-insensitive asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 1998; 101: 594-601
- [11] Cheung J., Smith D.F.: Molecular chaperone interactions with steroid receptors: an update. *Mol. Endocrinol.*, 2000; 14: 939-946
- [12] Correale J., Gilmore W., Li S., Walsh J., Bassani M.M., Lund B., Arias M., Weiner L.P.: Resistance to glucocorticoid-induced apoptosis in PLP peptide-specific T cell clones from patients with progressive MS. *J. Neuroimmunol.*, 2000; 109: 197-210
- [13] de Castro M., Elliot S., Kino T., Bamberger C., Karl M., Webster E., Chrousos G.P.: The non-ligand binding beta-isoform of the human glucocorticoid receptor (hGR beta): tissue levels, mechanism of action, and potential physiologic role. *Mol. Med.*, 1996; 2: 597-607
- [14] DeRijk R.H., Eskandari F., Sternberg E.M.: Corticosteroid resistance in a subpopulation of multiple sclerosis patients as measured by *ex vivo* dexamethasone inhibition of LPS induced IL-6 production. *J. Neuroimmunol.*, 2004; 151: 180-188
- [15] Doppler W., Windegger M., Soratroi C., Tomasi J., Lechner J., Rusconi S., Cato A.C., Almlöf T., Liden J., Okret S., Gustafsson J.A., Richard-Foy H., Starr D.B., Klocker H., Edwards D., Geymayer S.: Expression level-dependent contribution of glucocorticoid receptor domains for functional interaction with STAT5. *Mol. Cell. Biol.*, 2001; 21: 3266-3279
- [16] Farrell R.J., Kelleher D.: Glucocorticoid resistance in inflammatory bowel disease. *J. Endocrinol.*, 2003; 178: 339-346
- [17] Flower R.J.: Eleventh Gaddum memorial lecture. Lipocortin and the mechanism of action of the glucocorticoids. *Br. J. Pharmacol.*, 1988; 94: 987-1015
- [18] Gayo A., Mozo L., Suarez A., Tunon A., Lahoz C., Gutierrez C.: Glucocorticoids increase IL-10 expression in multiple sclerosis patients with acute relapse. *J. Neuroimmunol.*, 1998; 85: 122-130
- [19] Goleva E., Kisich K.O., Leung D.Y.: A role for STAT5 in the pathogenesis of IL-2 induced glucocorticoid resistance. *J. Immunol.*, 2002; 169: 5934-5940
- [20] Haarman E.G., Kaspers G.J., Pieters R., Rottier M.M., Veerman A.J.: Glucocorticoid receptor alpha, beta and gamma expression *in vitro* glucocorticoid resistance in childhood leukemia. *Leukemia*, 2004; 18: 530-537
- [21] Hamilos D.L.: Chronic sinusitis. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2000; 106: 213-227
- [22] Hauk P.J., Hamid Q.A., Chrousos G.P., Leung D.Y.: Induction of corticosteroid insensitivity in human PBMCs by microbial superantigens. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2000; 105: 782-787
- [23] Hearing S.D., Norman M., Probert C.S., Haslam N., Dayan C.M.: Predicting therapeutic outcome in severe ulcerative colitis by measuring *in vitro* steroid sensitivity of proliferating peripheral blood lymphocytes. *Gut*, 1999; 45: 382-388
- [24] Hearing S.D., Norman M., Smyth C., Foy C., Dayan C.M.: Wide variation in lymphocyte steroid sensitivity among healthy human volunteers. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1999; 84: 4149-4154
- [25] Jenster G.: Coactivators and corepressors as mediators of nuclear receptor function: an update. *Mol. Cell. Endocrinol.*, 1998; 143: 1-7
- [26] Kam J.C., Szefer S.J., Surs W., Sher E.R., Leung D.Y.: Combination IL-2 and IL-4 reduces glucocorticoid receptor-binding affinity and T cell response to glucocorticoids. *J. Immunol.*, 1993; 151: 3460-3466
- [27] Kotzin B.L., Leung D.Y., Kappler J., Marrack P.: Superantigens and their potential role in human disease. *Adv. Immunol.*, 1993; 54: 99-166
- [28] Leung D.Y., Bloom J.W.: Update on glucocorticoid action and resistance. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2003; 111: 3-22
- [29] Marchetti B., Morale M.C., Brouwer J., Tirolo C., Testa N. et al.: Exposure to a dysfunctional glucocorticoid receptor from early embryonic life programs the resistance to experimental autoimmune encephalomyelitis via nitric oxide-induced immunosuppression. *J. Immunol.*, 2002; 168: 5848-5859
- [30] Marchioni E., Marinou-Aktipi K., Uggetti C., Bottanelli M., Pichiecchio A., Soragna D., Piccolo G., Imbesi F., Romani A., Ceroni M.: Effectiveness of intravenous immunoglobulin treatment in adult patients with steroid-resistant monophasic or recurrent acute disseminated encephalomyelitis. *J. Neurol.*, 2002; 249: 100-104
- [31] Miner J.N., Yamamoto K.R.: The basic region of AP-1 specifies glucocorticoid receptor activity at a composite response element. *Genes Dev.*, 1992; 6: 2491-2501
- [32] Morale C., Brouwer J., Testa N., Tirolo C., Barden N., Dijkstra C.D., Amor S., Marchetti B.: Stress, glucocorticoids and the susceptibility to develop autoimmune disorders of the central nervous system. *Neurol. Sci.*, 2001; 22: 159-162
- [33] Mullick J., Anandatheerthavarada H.K., Amuthan G., Bhagwat S.V., Biswas G., Camasamudram V., Bhat N.K., Reddy S.E., Rao V., Avadhani N.G.: Physical interaction and functional synergy between glucocorticoid receptor and Ets2 proteins for transcription activation of the rat cytochrome P-450c27 promoter. *J. Biol. Chem.*, 2001; 276: 18007-18017

- [34] Oakley R.H., Jewell C.M., Yudit M.R., Bofetiado D.M., Cidlowski J.A.: The dominant negative activity of the human glucocorticoid receptor beta isoform. Specificity and mechanisms of action. *J. Biol. Chem.*, 1999; 274: 27857–27866
- [35] Oakley R.H., Sar M., Cidlowski J.A.: The human glucocorticoid receptor beta isoform. Expression, biochemical properties, and putative function. *J. Biol. Chem.*, 1996, 271: 9550–9559
- [36] Oakley R.H., Webster J.C., Sar M., Parker C.R.Jr., Cidlowski J.A.: Expression and subcellular distribution of the beta-isoform of the human glucocorticoid receptor. *Endocrinology*, 1997; 138: 5028–5038
- [37] Onate S.A., Tsai S.Y., Tsai M.J., O'Malley B.W.: Sequence and characterization of a coactivator for the steroid hormone receptor superfamily. *Science*, 1995; 270: 1354–1357
- [38] Pachner A.R.: Immunosuppressive therapy; targeting the autoantigen in neurologic disease. *Adv. Neurol.*, 1997; 4: 3–8
- [39] Pfitzner E., Jahne R., Wissler M., Stoecklin E., Groner B.: p300/CREB-binding protein enhances the prolactin-mediated transcriptional induction through direct interaction with the transactivation domain of Stat5, but does not participate in the Stat5-mediated suppression of the glucocorticoid response. *Mol. Endocrinol.*, 1998; 12: 1582–1593
- [40] Prefontaine G.G., Walther R., Giffin W., Lemieux M.E., Pope L., Hache R.J.: Selective binding of steroid hormone receptors to octamer transcription factors determines transcriptional synergism at the mouse mammary tumor virus promoter. *J. Biol. Chem.*, 1999; 274: 26713–26719
- [41] Rosenwasser L., Klemm J.D., Klemm D.J., Drazen J.M., Burchard E.G., Leung D.Y.: Association of asthmatic steroid insensitivity with an IL-4 gene promoter polymorphism (abstract 771). *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2001; 107: S235
- [42] Sallenave J.M., Shulmann J., Crossley J., Jordana M., Gauldie J.: Regulation of secretory leukocyte proteinase inhibitor (SLPI) and elastase-specific inhibitor (ESI/elafin) in human airway epithelial cells by cytokines and neutrophilic enzymes. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.*, 1994; 11: 733–741
- [43] Seki M., Ushiyama C., Seta N., Abe K., Fukazawa T., Asakawa J., et al.: Apoptosis of lymphocytes induced by glucocorticoids and relationship to therapeutic efficacy in patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.*, 1998; 41: 823–830
- [44] Sher E.R., Leung D.Y., Surs W., Kam J.C., Zieg G., Kamada A.K., Szefer S.J.: Steroid-resistant asthma. Cellular mechanisms contributing to inadequate response to glucocorticoid therapy. *J. Clin. Invest.*, 1994; 93: 33–39
- [45] Sousa A.R., Lane S.J., Soh C., Lee T.H.: *In vivo* resistance to corticosteroids in bronchial asthma is associated with enhanced phosphorylation of JUN N-terminal kinase and failure of prednisolone to inhibit JUN N-terminal kinase phosphorylation. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 1999; 104: 565–574
- [46] Sternberg E.M.: Neuroendocrine regulation of autoimmune/inflammatory disease. *J. Endocrinol.*, 2001; 169: 429–435
- [47] Struhl K.: Histone acetylation and transcriptional regulatory mechanisms. *Genes Dev.*, 1998; 12: 599–606
- [48] Then Bergh F., Grasser A., Trenkwalder C., Backmund H., Holsboer F., Rupprecht R.: Binding characteristics of the glucocorticoid receptor in peripheral blood lymphocytes in multiple sclerosis. *J. Neurol.*, 1999; 246: 292–298
- [49] Torrego A., Pujols L., Roca-Ferrer J., Mullol J., Xaubet A., Picado C.: Glucocorticoid receptor isoforms alpha and beta in *in vitro* cytokine-induced glucocorticoid insensitivity. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 2004; 170: 420–425
- [50] Tyler J.K., Kadonaga J.T.: The “dark side” of chromatin remodeling: repressive effects on transcription. *Cell*, 1999; 99: 443–446
- [51] Umland S.P., Schleimer R.P., Johnston S.L.: Review of the molecular and cellular mechanisms of action of glucocorticoids for use in asthma. *Pulm. Pharmacol. Ther.*, 2002; 15: 35–50
- [52] van de Stolpe A., Caldenhoven E., Raaijmakers J.A., van der Saag P.T., Koenderman L.: Glucocorticoid-mediated repression of intercellular adhesion molecule-1 expression in human monocytic and bronchial epithelial cell lines. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.*, 1993; 8: 340–347
- [53] van Schaardenburg D., Valkema R., Dijkmans B.A., Papapoulos S., Zwiderman A.H., Han K.H., Pauwels E.K., Breedveld F.C.: Prednisone treatment of elderly-onset rheumatoid arthritis. Disease activity and bone mass in comparison with chloroquine treatment. *Arthritis Rheum.*, 1995; 38: 334–342
- [54] Webster J.C., Oakley R.H., Jewell C.M., Cidlowski J.A.: Proinflammatory cytokines regulate human glucocorticoid receptor gene expression and lead to the accumulation of the dominant negative beta isoform: a mechanism for the generation of glucocorticoid resistance. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2001; 98: 6865–6870
- [55] Zhang Z., Jones S., Hagood J.S., Fuentes N.L., Fuller G.M.: STAT3 acts as a co-activator of glucocorticoid receptor signaling. *J. Biol. Chem.*, 1997; 272: 30607–30610