

МОЛЕКУЛСКА ОСНОВА ДЕЛОВАЊА ГЛИКОКОРТИКОИДА

Невена РИБАРАЦ-СТЕПИЋ¹, Снежана ЂУРИЦА², Зорица ЖАКУЛА¹,
Горан КОРИЋАНАЦ¹, Драгослав П. МИЛОШЕВИЋ³

¹Лабораторија за молекуларну биологију и ендокринологију, Институт за нуклеарне науке „Винча”, Београд;

²Центар за болести штитасте жлезде и хормонски узроковану остеопорозу, Интерна клиника,

Клиничко-болнички центар „Звездара”, Београд; ³Клиника за геријатрију,

Клиничко-болнички центар „Звездара”, Београд

КРАТАК САДРЖАЈ

Гликокортикоидни хормони су укључени у регулацију ћелијских процеса који координирају физиолошке одговоре на различите сигнале. Ови хормони у комплексу са специфичним ћелијским рецепторима преко активације експресије мреже различитих гена учествују у координацији компоненти које су у основи физиолошких одговора. На тај начин комплекси хормона и рецептора функционишу као кључни фактор у регулацији специфичних ћелијских функција, а такође подстичу и процесе диференцијације у већ детерминисаним ћелијама. Анализе гликокортикоидних рецептора (ГР) су значајне, како за боље упознавање транскрипционе контроле, тако и за објашњење како поједини транскрипциони фактори, као што су ГР, доприносе идентитету ћелије и њеном функционисању. У овом раду су приказани општи принципи молекулског механизма деловања гликокортикоида, као и механизми који повезују комплексе хормона и рецептора са контролом различитог типа („позитивном” или „негативном”) генске експресије. Један од примера за сигналне путеве који супротно регулишу активност гена су нуклеусни фактор капа-В (NF-κB) и сигнални путеви посредовани са ГР. Ови путеви имају супротне улоге у регулацији функционисања имунског система. NF-κB је транскрипциони фактор који индукује експресију гена укључених у имунске и запаљенске процесе. ГР је такође транскрипциони фактор, али делује као антиинфламациони и имunosупресивни агенс. Њихове интеракције су значајне у ћелијама имунског система, иако још нису потпуно објашњене; оне су можда чак и примарне у механизму имунске хомеостазе. До сада није доказано да ћелијска сензитивност на деловање гликокортикоида зависи од механизма који не укључују промене количине и функционалних особина ГР. Међутим, новија истраживања показују да изоморфне рецептора и транскрипциони фактори могу да мењају ћелијски одговор на гликокортикоиде преко интеракције са рецепторним протеином или директно са местима везивања на ДНК. У овом раду су такође приказани подаци из литературе о кључној улози гликокортикоидних рецептора у механизму деловања гликокортикоида у регулацији ћелијских функција, укључујући и ћелије имунског система, као и подаци о клиничким аспектима молекулског деловања гликокортикоида.

Кључне речи: гликокортикоиди; гликокортикоидни рецептор; експресија гена; једарна транслокација; ефекторне ћелије; гликокортикоидна резистенција

УВОД

Интеракције које се остварују између молекулских механизма деловања различитих хормона координирају сложене ћелијске процесе који су у основи развоја, диференцијације и физиолошких одговора организма на различите стимулусе и сигнале. Током прошлог века, када су углавном откривене и описане поједине класе хормона, па до данас направљен је велики напредак у сазнањима о ендокриним органима, деловању хормона и различитим ћелијским и физиолошким процесима које они регулишу и координирају. Према структури и хемијском саставу, описане су три класе хормона: стероидни хормони, хормони протеинске и пептидне структуре и тиреоидни хормони, који представљају јединоване деривате аминокиселине тирозина. У класи стероидних хормона описани су, на основу њихових биолошких ефеката, адренални стероиди (гликокортикоиди, минералокортикоиди) и полни или сексуални стероиди (естрогени, прогестини, андрогени). Молекули свих ових хормона, преко везивања за специфичне интраћелијске рецепторе, координирају компоненте и механизме који регулишу понашање и физиолошке процесе, активирајући мрежу експресије гена [1, 2]. Стероидни хормони су веома значајни за правилан развој и физиологију човека, као и кичмењака уоп-

ште, па је стога сваки од њих у жижи, како фундаменталних, тако и клиничких изучавања и интересовања. На пример, адренални стероиди регулишу хомеостазу организма, контролишу минерални и интермедијерни метаболизам, а посредују и у одговору организма на стрес [3]. Имају такође значајне ефекте на имунски и нервни систем [4, 5].

Поставља се питање како тако релативно мале и једноставне молекуле могу да доведу до толико разноврсних ћелијских одговора који су у основи великог броја физиолошких манифестација организма. Први одговори на ово питање су добијени пре више од тридесет година, када су идентификовани рецептори за стероидне хормоне, користећи при том радиоактивно обележене стероиде. У свим случајевима стероидног деловања везивање стероида индукује структурну промену рецепторне молекуле, која омогућава његову реакцију са везујућим местима на хроматину означеним за реаговање са хормоном (*hormone-responsive element* – HRE). Удруженост комплекса хормона и рецептора са хроматином доводи до индукције или репресије одређене врсте и броја гена [6]. Значајан напредак у објашњењу молекулских механизма деловања гликокортикоидних хормона (ГХ) је омогућен изоловањем комплементарне ДНК (кДНК), која кодира протеин за гликокортикоидни рецептор (ГР) [7]. Клонирање рецепторских гена,

као и примена метода молекуларне биологије су омогућили добијање пречишћених рецепторних протеина и анализе њихових структурно-функционалних особина, које су показале да сваки рецептор, након везивања хормона, подлеже структурној промени (трансформацији) која омогућава везивање тако активiranог рецептора за специфичне секвенце ДНК које се налазе у промоторном региону гена чија се активност регулише помоћу ГР и означена су као гликокортикоидни респонсивни елементи (*GRE*) [6].

Гликокортикоиди имају значајну и клинички веома важну улогу у регулацији функционисања имунског система. Иако је општи механизам преко којег ГХ остварују своје ћелијске ефекте познат више од двадесет година, механизам имуносупресивног деловања ових хормона још није јасан. Наиме, иако гликокортикоиди смањују број лимфоцита, како редистрибуцијом лимфоцита у лимфним чворовима, тако и индукцијом апоптозе лимфоцита и супресије тимуса [8], ове функције су недовољне да објасне имуносупресивно деловање гликокортикоида. Међутим, иако тачан механизам лизе и смањења броја лимфоидних ћелија није јасан, доказано је да су и имуносупресивни ефекти гликокортикоида посредовани гликокортикоидним рецепторима [9, 10]. Показано је да је велики број рецептора у лимфоидним ћелијама у корелацији с позитивним клиничким одговором на гликокортикоидну терапију [11]. Поред тога, добро је познато да се антиинфламациони ефекти гликокортикоида и њихово деловање на ћелије имунског система (инволуција тимуса) остварују преко ћелијских ГР [12, 13]. На основу досадашњих сазнања може се закључити да су гликокортикоиди значајни регулатори многих физиолошких процеса, укључујући и имунски одговор, као и да се сви њихови ефекти остварују посредством специфичних ГР.

ГЛИКОКОРТИКОИДНИ РЕЦЕПТОРИ: АКТИВАЦИЈА И ФУНКЦИЈА

Деловања ГХ, као и величина, односно степен ћелијских одговора зависе не само од присуства, него и од концентрације ГР и ефикасности сигналне трансдукције која је зависна од рецептора [14, 15]. Трансдукција хормонског сигнала почиње интеракцијом гликокортикоида са специфичним рецептором, изазивајући промене у рецепторном протеину које му омогућавају удруживање са везујућим местима на хроматину [16]. Ови процеси доводе до индукције или репресије активности одређеног броја гена [17].

На основу досадашњих сазнања дефинисан је сада већ класичан механизам деловања стероидних хормона, према којем се биолошки ефекти гликокортикоида остварују кроз сложене интеракције са специфичним рецепторима ћелија. Стероидни хормони, укључујући и ГХ, јесу липофилни сигнални молекули који лако пролазе мембране ћелија и задржавају се у оним ћелијама које поседују специфичне рецепторе. Сваки стероидни рецептор након везивања подлеже структурној промени која је означена као „трансформација” рецептора у активну форму, која омогућава комплексу стероида и рецептора ве-

зивање за одговарајућа места на хроматину. Изаолвање и клонирање κДНК гена за ГР [7] омогућило је идентификацију функционалних домена на молекулима рецептора [18]. Секвенца аминокиселина и општа структура стероидних рецептора указују на сличност, односно хомологију појединих региона рецепторских молекула, као и присуство функционалних домена који обухватају трансактивациони домен на аминотерминалном делу протеинске молекуле, затим домен на ДНК и домен на карбоксилном крају рецептора који везује стероид [9]. Међутим, познато је да се ГР налази у цитоплазми у неактивној форми, која му омогућава удруживање с одређеним протеинима, укључујући и протеине топлотног шока (*heat shock proteine – HSP*) [19]. Везивање ГХ за ГР изазива конформациону промену мултимерног комплекса, при чему се ослобађају *HSP* и други протеини [20], а рецептор са везаним стероидним хормоном се транслоцира у једру, где се као комплекс стероида и рецептора удружује са другим рецептором везаним за хормон, формирајући хомодимер. Димеризован комплекс стероида и рецептора долази у интеракцију с одговарајућим секвенцама ДНК, познатим као *GRE* [21], омогућавајући ГР да директно или преко коактиватора интерагује са транскрипционим комплексом, мењајући при том брзину транскрипције гликокортикоид-сензитивних гена [1], те изазивајући повећање или смањење експресије одређених гена [17].

Иако је општи механизам преко којег ГР доводи до ћелијских ефеката познат више од двадесет година, још су недовољно изучене поједине етапе тог механизма, као што је функционисање комплекса хормона и рецептора у регулацији експресије гена. Једна од првих идентификованих функција гликокортикоида јесте њихова регулациона улога у интермедијерном метаболизму. Њихова главна улога у метаболизму јесте тзв. позитивна регулација процеса гликонеогенезе, као и метаболизма масти и протеина, која се остварује преко индукције активности гена оних ензима који су укључени у поменуте метаболичке процесе [22]. Међутим, иако процеси индуковане експресије гена под деловањем гликокортикоида нису довољно јасни, још мање су изучени механизми преко којих ГР смањује експресију оних гена који доводе до репресије неких физиолошких процеса. Наиме, познато је да су ГХ врло јаки супресори активности имунског система. Многи ефекти ових хормона на имунски систем су вероватно посредовани инхибицијом транскрипције гена различитих цитокина, нарочито оних који кодирају интерлеукин 1 (*IL-1*) и интерлеукин 6 (*IL-6*) у моноцитима, односно макрофагима [23], као и интерлеукин 2 (*IL-2*) у лимфоцитима [24]. Такође је познато да гликокортикоиди инхибирају експресију гена за проинфламационе цитокине, који су кључни регулатори имунских одговора. Ове ефекте ГХ остварују преко рецептора који функционишу као транскрипциони фактори који зависе од лиганда. Негативна регулација цитокина гликокортикоидима указује да су ови хормони врло значајни у процесима имуносупресије, имајући при том у виду и интеракцију ГР са другим транскрипционим факторима, као што

је нуклеусни фактор капа-В (*NF-κB*), који имају супротне активности и представљају физиолошке антагонисте [9]. Наиме, познато је да се *NF-κB* као регулатор експресије гена за цитокине инхибира деловањем ГХ, а да постоји и узајамни антагонизам између ГР и *NF-κB* фактора [17]. *NF-κB* је кључни проинфламациони и проимунски транскрипциони фактор, а лигандом активирани ГР је снажан супресор имунитета и запаљења. Негативне интеракције ова два транскрипциона фактора са супротним функцијама јасно указују на значај ова два транскрипциона модулятора у регулацији имунитета. На основу њихових ефеката на имунитет и запаљење, јасно је да антагонизам између ГР и *NF-κB* транскрипционих фактора обезбеђује примарну контролу механизма који одржава хомеостазу у ситуацијама када је активирана одбрана организма.

Имуносупресивно деловање ГХ може бити ефективно и на другим ћелијским функцијама, као што је, рецимо, гликокортикоидна регулација експресије других гена који могу бити укључени у раст и апоптозу ћелија имунског система [25]. Неколико путева сигналне трансдукције се остварује преко модулације активности гена изазване гликокортикоидом, као што је ген за ендонуклеазе које фрагментују ДНК, а затим настају апоптотичка дегенерација једра и дезинтеграција ћелија [26]. Апоптоза изазвана гликокортикоидима и смањење броја лимфоцита периферног имунског система су посредовани са ГР, који преко модулације генске експресије иницира смрт ћелије [14].

ПРОМЕНЕ ГЛИКОКОРТИКОИДНИХ РЕЦЕПТОРА И ЋЕЛИЈСКИХ ОДГОВОРА НА ДЕЛОВАЊЕ ГЛИКОКОРТИКОИДНИХ ХОРМОНА

Познавање основних принципа који управљају рецепторским функцијама има велики клинички значај због сазнања и бољег објашњења узрока за многе процесе који се налазе под регулацијом хормона, како у физиолошким стањима, тако и у болести. Већи број болести и поремећаја се могу објаснити не само променама у садржају и количини рецептора, него и променама у њиховим структурно-функционалним особинама.

Ефекти ГХ, слично другим стероидним хормонима, посредовани су специфичним интраћелијским протеинима рецептора. Ови протеини рецептора регулишу експресију специфичних циљних гена или мрежа гена преко транскрипционе активности рецептора зависне од хормона. ГР је структурно сличан рецепторима за друге стероидне хормоне у чијим структурама су идентификовани специфични функционални домени, као што је на аминотерминалном делу домен за активацију и нуклеусну транслокацију рецептора, као и домен који веже ДНК. Осим тога, ГР садржи и домене за специфичније друге функције, укључујући димеризацију, место удруживања са *HSP* и трансактивацију [1]. Одређена концентрација структурно-функционално неизмењених ГР је кључни услов за потпуни одговор ћелија на деловање ГХ.

Међутим, у литератури су познати клинички случајеви резистенције на деловање не само гликокортикоида, него и других стероида, па и тиреоидних хормона [15]. Синдроми стероидне резистенције су резултат мутација у домену који везује хормон или другом функционалном домену рецептора [27].

Значајан напредак у познавању и објашњењу механизма деловања ГХ је омогућен изоловањем кДНК, која кодира ГР протеин [7]. Касније студије, користећи природне мутације ГР забележене код особа с општом наследном гликокортикоидном резистенцијом, или мутирани ГР добијен у мутагенези *in vitro*, свакако су допринеле развоју и унапређењу молекуларске ендокринологије. Међутим, наследна гликокортикоидна резистенција је редак поремећај, који је до сада описан код релативно малог броја болесника. Функционалне студије о мутацијама у ГР дају податке о корелацији између клиничких синдрома и различитих поремећаја рецептора. До сада познати недостаци, односно поремећаји ГР код наследне гликокортикоидне резистенције имају за последицу смањен афинитет рецептора за гликокортикоиде, смањен број рецептора, смањено везивање рецептора за ДНК, односно повећану термолабилност рецептора [28]. Мутације гена за ГР које се преносе у структуру протеина рецептора одговорне су за промењену функцију рецептора која доводи до промењене сензитивности ћелија на деловање гликокортикоида. На пример, у случају такве мутације гена за ГР, која доводи до смањења количине иРНК, тј. смањења синтезе протеина рецептора, показан је директан однос између промена у количини синтетисаног рецептора и ћелијске сензитивности, односно резистенције на деловање гликокортикоида [29]. Поред мутација ГР, и други механизми могу бити у основи резистенције, односно промењене сензитивности на деловање гликокортикоида. Новије студије показују да изоформе рецептора и транскрипциони фактори могу модулирати гликокортикоидни одговор преко интеракције са протеином рецептора или директно конкурирајући за место везивања ГР за ДНК.

Поред генске мутације ГР, резистенција, односно смањена осетљивост на деловање ГХ може бити и због промена на нивоу рецептора које настају у неким патолошким стањима, као што су малигна трансформација, неоплазија, Кушингов (*Cushing*) синдром, сида, астма, реуматоидни артритис и др. Такође, у стањима као што су депресија, сепса и стрес долази до промена у концентрацији и особинама ГР које имају за последицу промењену сензитивност на деловање ГХ [15, 30]. Познати су и случајеви гликокортикоидне резистенције изазване фармаколошким средствима код терапијске примене гликокортикоида [10, 31], али и у стањима повећане концентрације циркулишућег кортизола [32]. Ова запажања су у сагласности с резултатима који показују да повећање гликокортикоида смањује концентрацију ГР [33, 34]. Ова негативна хомотропна регулација рецептора сопственим лигандом има значаја за физиолошку контролу, пошто је ћелијски одговор на деловање хормона директно зависан од концентрације рецептора [14], а не од нивоа гликокортикоида, који може бити повећан у извесним стањима.

То значи да степен хелијског одговора на деловање гликокортикоида зависи од функционалних ГР и њихове концентрације, промењене функције ГР, односно да је гликокортикоидна резистенција последица смањеног броја рецептора [33, 15]. Иако је молекулски механизам деловања гликокортикоида предмет многих студија, још нису довољно изучене поједине етапе тог механизма, нити фактори који на њих утичу.

КЛИНИЧКА ПРИМЕНА ГЛИКОКОРТИКОИДА

Егзогени гликокортикоиди имају значајну примену у лечењу бројних акутних и хроничних болести имунског система, као што су астма и реуматоидни артритис [35, 36], затим аутоимунских болести, као што су Грејвсов (*Graves*) и Хашимотов (*Hashimoto*) тиреоидитис [32, 37, 38], а такође значајно доприносе у спречавању одбацивања трансплантираних ткива и органа [39]. Осим тога, гликокортикоиди се примењују и као антиинфламациони агенси [40], у лечењу леукемије [41] и малигну обобољења крви [42].

Многа истраживања су показала да се модулатија имунског одговора под деловањем гликокортикоида остварује посредством функционалног ГР [14, 17]. Међутим, шира клиничка примена гликокортикоида је ограничена са два привидно различита аспекта њихових ефеката. Један од ограничавајућих фактора примене гликокортикоида су непредвидљиви нежељени ефекти, који се јављају током лечења хроничних болести [43]. Такође, постоје студије које показују да трајање лечења, величина примењених доза, као и укупна кумулативна доза ГХ могу бити значајни предикативни фактори за појаву нежељених ефеката [44]. Друго ограничење за примену гликокортикоида у лечењу болести имунског система су клинички и лабораторијски подаци, који показују да постоји индивидуална разлика у осетљивости на деловање стероида [45]. Према оваквим истраживањима, болеснике можемо сврстати у „стероид-сензитивне” и „стероид-резистентне”. Ова разлика је потврђена у лечењу астме [35], реуматоидног артритиса [43], као и код трансплантације бубрега [46, 47].

На крају, поставља се питање да ли је могуће за сваког болесника одредити одговарајућу дозу гликокортикоида која неће изазвати нежељене ефекте. Одговор на ово питање се налази у бројним студијама које показују да се ниво ГР смањује после примене гликокортикоида [1, 33], а такође долази до смањења нивоа иРНК за рецептор после примене хормонске терапије [1, 48, 49]. Промене ГР под дејством ГХ су симултане у хелијама различитих ефекторних ткива, укључујући и лимфоците [34, 10].

ЗАКЉУЧАК

У лимфоцитима се остварује регулација ГР као у другим ефекторним хелијама. Периферни лимфоцити могу бити модел за анализу и одређивање промена ГР током лечења гликокортикоидима, а такође и у болестима и поремећајима који могу бити повезани са деловањем ове врсте хормона.

ЗАХВАЛНИЦА

Ова изучавања се обављају у оквиру пројекта бр. 1999 Министарства науке и заштите животне средине Републике Србије.

ЛИТЕРАТУРА

- Bamberger CM, Schulte HM, Chrousos GP. Molecular determinants of glucocorticoid receptor function and tissue sensitivity to glucocorticoids. *Endocr Rev* 1996; 17(3):245-61.
- Ribarac-Stepić N. Transduction of hormonal signals on regulation of cell processes. In: Rakić Lj, Ribarac-Stepić N, Simić D, editors. *Molecular mechanisms of cell function*. Belgrade: SANU, „Vinča” Institute, Faculty of Biology, University of Belgrade; 1997; p.65-80.
- McEwen BS, Sapolsky RM. Stress and cognitive function. *Curr Opin Neurobiol* 1995; 5(2):205-16.
- Wick G, Hu Y, Schwarz S, Kroemer G. Immunoendocrine communication via the hypothalamo-pituitary-adrenal axis in autoimmune diseases. *Endocr Rev* 1993; 14(5):539-63.
- Munck A, Guyre PM, Holbrook NJ. Physiological functions of glucocorticoids in stress and their relation to pharmacological actions. *Endocr Rev* 1984; 5(1):25-44.
- Beato M. Gene regulation by steroid hormones. *Cell* 1989; 56(3):335-44.
- Hollenberg SM, Weinberger C, Ong ES, et al. Primary structure and expression of a functional human glucocorticoid receptor cDNA. *Nature* 1985-1986; 318(6047):635-41.
- Compton MM, Cidlowski JA. Identification of a glucocorticoid-induced nuclease in thymocytes. A potential „lysis gene” product. *J Biol Chem* 1987; 262(17):8288-92.
- McKay LL, Cidlowski JA. Molecular control of immune/inflammatory responses: interactions between nuclear factor-kappa B and steroid receptor-signaling pathways. *Endocr Rev* 1999; 20(4):435-59.
- Ribarac-Stepić N, Isenovic E, Naumovic R, et al. Glucocorticoid receptors in lymphocytes and stability of kidney graft function. *Clin Exp Med* 2001; 1(4):179-86.
- Gametchu B. Glucocorticoid receptor-like antigen in lymphoma cell membranes: correlation to cell lysis. *Science* 1987; 236(4800):456-61.
- Cohen JJ. Glucocorticoid-induced apoptosis in the thymus. *Semin Immunol* 1992; 4(6):363-9.
- Cupps TR, Fauci AS. Corticosteroid-mediated immunoregulation in man. *Immunol Rev* 1982; 65:133-55.
- Thompson EB. Mechanisms of T-cell apoptosis induced by glucocorticoids. *Trends Endocrinol Metab* 1999; 10(9):353-8.
- Werner S, Bronnegard M. Molecular basis of glucocorticoid-resistant syndromes. *Steroids* 1996; 61(4):216-21.
- Kanazir D, Ribarac-Stepić N, Trajkovic D, et al. The structure and regulatory function(s) of cortisol receptor-1: Extragenosomic effects dependent on the cortisol receptor activation. *J Steroid Biochem* 1979; 11(1B):389-400.
- Webster JC, Cidlowski JA. Mechanisms of glucocorticoid-receptor-mediated repression of gene expression. *Trends Endocrinol Metab* 1999; 10(10):396-402.
- Evans RM. The steroid and thyroid hormone receptor superfamily. *Science* 1988; 240(4854):889-95.
- Pratt WB. The role of heat shock proteins in regulating the function, folding, and trafficking of the glucocorticoid receptor. *J Biol Chem* 1993; 268(29):21455-8.
- Ribarac-Stepić N, Trajkovic D, Kanazir D. Cortisol-binding components of cytosol receptor in normal and adrenalectomized rat liver. *Arch Int Physiol Biochim* 1979; 87(3):543-55.
- Beato M, Chavez S, Truss M. Transcriptional regulation by steroid hormones. *Steroids* 1996; 61(4):240-51.
- Peeke PM, Chrousos GP. Hypercortisolism and obesity. *Ann N Y Acad Sci* 1995; 771:665-76.
- Almawi WY, Lipman ML, Stevens AC, Zanker B, Hadro ET, Strom TB. Abrogation of glucocorticoid-mediated inhibition of T cell proliferation by the synergistic action of IL-1, IL-6, and IFN-gamma. *J Immunol* 1991; 146(10):3523-7.
- Gillis S, Crabtree GR, Smith KA. Glucocorticoid-induced inhibi-

- tion of T cell growth factor production. I. The effect on mitogen-induced lymphocyte proliferation. *J Immunol* 1979; 123(4):1624-31.
25. Schwartzman RA, Cidrowski JA. Glucocorticoid-induced apoptosis of lymphoid cells. *Int Arch Allergy Immunol* 1994; 105(4):347-54.
 26. Cohen JJ, Duke RC, Fadok VA, Sellins KS. Apoptosis and programmed cell death in immunity. *Annu Rev Immunol* 1992; 10:267-93.
 27. Malchoff CD, Javier EC, Malchoff DM, et al. Primary cortisol resistance presenting as isosexual precocity. *J Clin Endocrinol Metab* 1990; 70(2):503-7.
 28. Brönnegård M and Carlstedt-Duke J. The genetic basis of glucocorticoid resistance. *Trends Endocrinol Metab* 1995; 6(5):160-4.
 29. Karl M, Lamberts SW, Detera-Wadleigh SD, et al. Familial glucocorticoid resistance caused by a splice site deletion in the human glucocorticoid receptor gene. *J Clin Endocrinol Metab* 1993; 76(3):683-9.
 30. Sevaljevic L, Isenovic E, Vulovic M, et al. The responses of rat liver glucocorticoid receptors and genes for tyrosine aminotransferase, alpha-2-macroglobulin and gamma-fibrinogen to adrenalectomy-, dexamethasone- and inflammation-induced changes in the levels of glucocorticoids and proinflammatory cytokines. *Biol Signals Recept* 2001; 10(5):299-309.
 31. Đurica S, Vulović M, Marković O, Ribarac-Stepić N. Biochemical and molecular-biological characteristics of glucocorticoid responsiveness in patients suffering from Graves Basedow orbitopathy. *Rev Roum Biochim* 1999; 36:33-8.
 32. Đurica S, Vulović M, Korićanac G, et al. Efikasnost kortikosteroida u lečenju endokrine orbitopatije. *Medicinska istraživanja* 1999; 33(4):73-8.
 33. Silva CM, Powell-Oliver FE, Jewell CM, Sar M, Allgood VE, Cidrowski JA. Regulation of the human glucocorticoid receptor by long-term and chronic treatment with glucocorticoid. *Steroids* 1994; 59(7):436-42.
 34. Andreae J, Tripmacher R, Weltrich R, et al. Effect of glucocorticoid therapy on glucocorticoid receptors in children with autoimmune diseases. *Pediatr Res* 2001; 49(1):130-5.
 35. Sher ER, Leung DY, Surs W, et al. Steroid-resistant asthma. Cellular mechanisms contributing to inadequate response to glucocorticoid therapy. *J Clin Invest* 1994; 93(1):33-9.
 36. Saag KG, Koehnke R, Caldwell JR, et al. Low dose long-term corticosteroid therapy in rheumatoid arthritis: an analysis of serious adverse events. *Am J Med* 1994; 96(2):115-23.
 37. Bartalena L, Marcocci C, Bogazzi F, Panicucci M, Lepri A, Pinchera A. Use of corticosteroids to prevent progression of Graves' ophthalmopathy after radioiodine therapy for hyperthyroidism. *N Engl J Med* 1989; 321(20):1349-52.
 38. Valensi P, Perret G, Attali JR, Sebaoun J. Reduction of anti-thyroid hormone autoantibodies through plasma exchange and corticosteroid therapy. *Pathol Biol (Paris)* 1994; 42(9):836-41.
 39. Boumpas DT, Chrousos GP, Wilder RL, Cupps TR, Balow JE. Glucocorticoid therapy for immune-mediated diseases: basic and clinical correlates. *Ann Intern Med* 1993; 119(12):1198-208.
 40. Chrousos GP. The hypothalamic-pituitary-adrenal axis and immune-mediated inflammation. *N Engl J Med* 1995; 332(20):1351-62.
 41. Lippman ME, Halterman RH, Leventhal BG, Perry S, Thompson EB. Glucocorticoid-binding proteins in human acute lymphoblastic leukemic blast cells. *J Clin Invest* 1973; 52(7):1715-25.
 42. Moalli PA, Rosen ST. Glucocorticoid receptors and resistance to glucocorticoids in hematologic malignancies. *Leuk Lymphoma* 1994; 15(5-6):363-74.
 43. Saag KG, Koehnke R, Caldwell JR, et al. Low dose long-term corticosteroid therapy in rheumatoid arthritis: an analysis of serious adverse events. *Am J Med* 1994; 96(2):115-23.
 44. Axelrod L. Glucocorticoid therapy. *Medicine (Baltimore)* 1976; 55(1):39-65.
 45. Lamberts SW, Huizenga AT, de Lange P, de Jong FH, Koper JW. Clinical aspects of glucocorticoid sensitivity. *Steroids* 1996; 61(4):157-60.
 46. Walker KB, Potter JM, House AK. Variable inhibition of mitogen-induced blastogenesis in human lymphocytes by prednisolone in vitro. *Transplant Proc* 1985; 17(2):1676-8.
 47. Langhoff E, Ladefoged J, Jakobsen BK, et al. Recipient lymphocyte sensitivity to methylprednisolone affects cadaver kidney graft survival. *Lancet* 1986; 1(8493):1296-7.
 48. Flood L, Lofberg R, Stierna P, Wikstrom AC. Glucocorticoid receptor mRNA in patients with ulcerative colitis: a study of responders and nonresponders to glucocorticosteroid therapy. *Inflamm Bowel Dis* 2001; 7(3):202-9.
 49. Catts VS, Farnsworth ML, Haber M, Norris MD, Lutze-Mann LH, Lock RB. High level resistance to glucocorticoids, associated with a dysfunctional glucocorticoid receptor, in childhood acute lymphoblastic leukemia cells selected for methotrexate resistance. *Leukemia* 2001; 15(6):929-35.

MOLECULAR BASIS OF GLUCOCORTICOID ACTION

Nevena RIBARAC-STEPIĆ¹, Snežana ĐURICA², Zorica ŽAKULA¹, Goran KORIĆANAC¹, Dragoslav P. MILOŠEVIĆ³¹Department for Molecular Biology and Endocrinology, „Vinča” Institute of Nuclear Sciences, Belgrade; ²Centre for Thyroid Gland Diseases and Hormones Induced Osteoporosis, Department of Internal Medicine, Clinical Hospital Centre „Zvezdara”, Belgrade;³Clinic for Geriatrics, Clinical Hospital Centre „Zvezdara”, Belgrade

ABSTRACT

Glucocorticoid hormones are involved in regulation of cell processes and coordinate physiological response to diverse signals. These hormones, through interaction with specific intracellular receptors, coordinate components of physiological repertoires by activating the expression of gene networks. Thus hormone-receptor complexes may function as key constituent in regulation of specific cell functions as well as in provoking differentiation in already determined cells. Analysis of steroid receptors are important for understanding of molecular details of transcriptional control as well as providing the insight as to how an individual transcriptional factor such as glucocorticoid receptor, contributes to cell identity and function. The purpose of this review is to establish the general molecular mechanism of glucocorticoid action and mechanism associated hormone-receptor complexes with the control of differential patterns (i.e. „positive” and „negative”) of gene expression. One of the examples of two signal pathways regulating opposite gene expression are NF- κ B and GR-mediated signal pathways. These pathways have important and opposite roles in the immune function. NF- κ B is transcription factor which induces the expression of many genes that participate in immune and inflammatory response, while GR is transcription factor that serves as anti-inflammatory agent and immune suppressor. Their interactions within the cell, although not yet completely understood,

appear to be an important, possibly even the primary mechanism of immune homeostasis. It has not been established that glucocorticoid sensitivity can be caused by mechanisms other than changes of GR number and properties, although recent studies have indicated that receptor isoforms and transcriptional factors may modulate glucocorticoid responsiveness by interacting with receptor protein or directly at the site of DNA binding. The aim of this review is also to describe the role of glucocorticoid receptors in mechanism of glucocorticoid action on cell functions, including immune responses, as well as to present emerging issues on clinical aspects of molecular mechanisms of glucocorticoid action.

Key words: glucocorticoids; glucocorticoid receptors; gene expression; nuclear translocation; target cells; glucocorticoid resistance

Nevena RIBARAC-STEPIĆ
Laboratorija za molekularnu biologiju i endokrinologiju
Institut za nuklearne nauke „Vinča”
Poštanski fah 522, 11001 Beograd
Tel: 011 244 2532
Faks: 011 245 5561
E-mail: nrs@rt270.vin.bg.ac.yu

* Рад је саопштен на семинару поводом континуиране медицинске едукације 15. јуна 2005. године.