

Mecanismos moleculares de los glucocorticoides

B.G. Cosío^a, A. Torrego^b e I.M. Adcock^b

^aServicio de Neumología. Hospital Universitario Son Dureta. Palma de Mallorca. Baleares. España.

^bDepartment of Thoracic Medicine. National Heart and Lung Institute. Imperial College. Londres. Reino Unido.

Introducción

La inflamación es el hallazgo central de muchas afecciones respiratorias, como el asma, la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), la fibrosis quística o muchas enfermedades pulmonares intersticiales difusas. Las características específicas de la respuesta inflamatoria y sitio de inflamación difieren entre estas enfermedades, pero todas presentan reclutamiento y activación de diferentes células inflamatorias y cambios en las células estructurales del pulmón. Los glucocorticoides (GC) son, en el momento actual, los fármacos disponibles con mayor actividad antiinflamatoria. De hecho los GC son, bien por vía sistémica, bien por vía inhalada, el fármaco de primera línea en el tratamiento de muchos de estos procesos inflamatorios¹.

Desde la identificación de la primera molécula con actividad glucocorticoidea en 1937² hasta nuestros días, han sido numerosas las aplicaciones farmacológicas y las mejoras químicas de estos compuestos. Desde los años cincuenta se conocen sus propiedades antiinflamatorias, inicialmente observadas en la artritis reumatoide. Sin embargo, no ha sido hasta recientemente que hemos avanzado en el conocimiento del mecanismo molecular de acción de estos fármacos gracias al desarrollo de nuevas técnicas de biología molecular.

Las enfermedades mencionadas se caracterizan por una expresión aumentada de múltiples proteínas que están implicadas en complejas cascadas inflamatorias. Estas proteínas incluyen citocinas, quimiocinas, enzimas que producen mediadores inflamatorios, receptores de mediadores inflamatorios y moléculas de adhesión. El aumento de la expresión de estas proteínas inflamatorias es el resultado de una mayor transcripción de genes inflamatorios, genes que las células afectadas no expresan normalmente, pero que se expresan en los procesos inflamatorios de una forma específica para cada célula³. Un mejor conocimiento del mecanismo de acción de estos fármacos ayuda a hacer un uso más racional de ellos y a favorecer el desarrollo de nuevos compuestos con efectos específicos.

Glucocorticoides: estructura y funciones

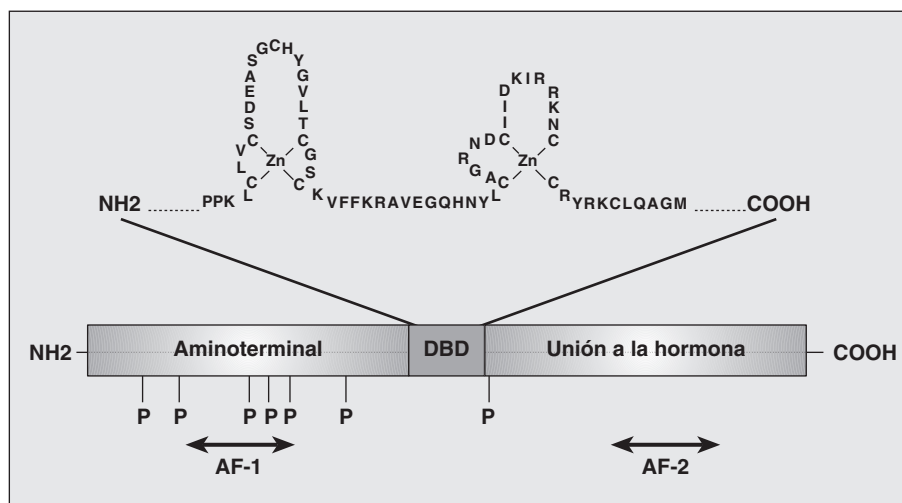
La mayor parte de la actividad glucocorticoidea está relacionada con la molécula de cortisol (o hidrocortisona). El uso de la cortisona en el tratamiento de la artritis reumatoide le valió a Hensch el Premio Nobel de Medicina en 1950. En ese mismo año empezó a emplearse la cortisona en el tratamiento del asma. Actualmente disponemos de diversas moléculas de GC para uso clínico, la mayoría de origen sintético, con estructuras químicas basadas en los corticoides naturales en las que se introducen cambios dirigidos a optimizar su potencia antiinflamatoria local, a menudo a través de incrementos en su liposolubilidad, lo que favorece su penetración en los tejidos, y, por otro lado, a reducir la bioviabilidad sistémica y, por lo tanto, a minimizar los efectos adversos. Algunas de estas moléculas, como, por ejemplo, la budesonida, el dipropionato de beclometasona, el acetato de triamcinolona, el propionato de fluticasona, la flunisolida o el furoato de mometasona, son o han sido ampliamente usadas en el tratamiento de enfermedades inflamatorias de las vías respiratorias como el asma o la rinitis, y derivan principalmente de modificaciones del anillo D de la molécula de cortisol⁴. Además, los nuevos conocimientos sobre los mecanismos de actuación de los GC, especialmente sobre la regulación de la transcripción genética, y la estructura y dominios de unión del receptor de GC han permitido diseñar nuevas estructuras moleculares de GC con propiedades disociadas, que podrían tener una gran relevancia clínica en el futuro⁵ y que trataremos más detenidamente en esta revisión.

Los GC son los fármacos más potentes y efectivos en la prevención y supresión de la inflamación causada por estímulos mecánicos, químicos, infecciosos e inmunológicos. La aparición de los GC inhalados revolucionó el tratamiento del asma por su eficacia y seguridad. Sin embargo, existen algunos pacientes que presentan una respuesta pobre o nula al tratamiento antiinflamatorio. Estos pacientes con "corticorresistencia" o "corticodpendencia" representan una minoría de los pacientes con asma (< 5-7%), pero suponen el mayor reto por los costes sanitarios y complicaciones clínicas que representan, así como por la escasez de alternativas terapéuticas eficaces disponibles. Por otro lado, en la EPOC la utilización de los GC inhalados aporta pocos beneficios clínicos y no puede prevenir el deterioro de la función

Correspondencia: Dr. B.G. Cosío.
Servicio de Neumología. Hospital Universitario Son Dureta.
Andrea Doria, 55. 07014 Palma de Mallorca. Baleares. España.
Correo electrónico: bcosio@hisd.es

Recibido: 14-4-2004; aceptado para su publicación: 27-4-2004.

Fig. 1. Estructura funcional del receptor de glucocorticoides. La proteína del receptor de glucocorticoides tiene 3 dominios: el aminoterminal, el de unión al ADN (DBD, de *DNA binding domain*) y el carboxiterminal para unión a la hormona. En la zona central se encuentran los 2 anillos de cinc. También se muestran los lugares de fosforilación, así como las zonas de unión independiente del ligando (AF-1) y dependiente del ligando (AF-2) relacionadas con las funciones de activación transcripcional.



respiratoria. En este sentido, conocer los mecanismos moleculares de actuación de los GC, así como las posibles causas de insensibilidad a ellos, tiene un gran interés científico y probablemente importantes implicaciones clínicas.

El principal efecto antiinflamatorio de los GC se basa en la inhibición de la transcripción genética de numerosos genes que codifican proteínas proinflamatorias, entre las que se incluyen numerosas citocinas –las interleucinas (IL) 1, 2, 3, 4, 5, 6, 11 y 13, el factor de necrosis tumoral alfa, el factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF)–, quimiocinas (IL-8, RANTES, proteína I α inflamatoria de los macrófagos, proteínas quimiotácticas de monocitos 1, 2, 3 y 4, eotaxina), moléculas de adhesión (molécula 1 de adhesión intracelular, molécula 1 de adhesión de células vasculares, E-selectina) y enzimas reguladoras de la síntesis de mediadores (óxido nítrico sintetasa inducible, ciclooxigenasa 2, fosfolipasa A₂ [PLA₂] citoplasmática)^{6,7}. Los diferentes mecanismos moleculares (genómicos y no genómicos) a través de los cuales se sabe que los GC pueden regular la transcripción genética se describirán ampliamente en esta revisión más adelante.

Además de la respuesta inmunitaria humoral, los GC tienen importantes efectos en la respuesta celular. Disminuyen la supervivencia de eosinófilos y reducen de forma significativa las células dendríticas (presentadoras de antígenos), lo cual contribuye al efecto antiinflamatorio que se observa en las enfermedades alérgicas. Los GC también inhiben la exudación de plasma y la secreción mucosa glandular, además de disminuir la presencia de otras células como los linfocitos o los basófilos, especialmente cuando se utilizan durante largos períodos o a dosis elevadas. Otras células, como macrófagos o neutrófilos, no parecen verse tan influidas *in vivo* en los tratamientos tópicos de la rinitis y el asma, por lo que la respuesta antibacteriana no parece verse tan alterada. Los GC también ejercen acciones sobre otros grupos celulares como son las células endoteliales (regulando la permeabilidad) y las epiteliales o glandulares (inhibiendo la secreción mucosa)⁸⁻¹⁰.

Receptor glucocorticoideo

Los GC realizan sus acciones a través de la unión a un receptor intracitoplasmático específico (RG). El código genético del RG se encuentra en el brazo largo del cromosoma 5 (región 5q31-32), tiene una estructura genómica constituida por 9 exones y existen evidencias de 3 promotores distintos del gen¹¹. Aunque no está clara la razón del uso de diferentes promotores según el tipo celular, esta heterogeneidad podría estar relacionada con diferentes formas de regulación específicas del RG según el tipo celular.

El RG pertenece a una superfamilia de receptores que, además, incluye el receptor de los mineralcorticoides, hormona tiroidea, hormonas sexuales, ácido retinoico y vitamina D. Todos estos receptores tienen en común el dominio de unión al ADN, que es una zona central corta, flanqueada por un dominio o extremo N-terminal (o aminoterminal) variable y un extremo C-terminal (o carboxiterminal) relativamente variable (fig. 1). El dominio N-terminal contiene la región AF-1 (o independiente de la hormona), que se ha relacionado con la actividad transcripcional y la unión con proteínas coactivadoras y factores transcripcionales. Por otro lado, el extremo C-terminal contiene la región AF-2, que es responsable de la unión a la hormona, aunque existen crecientes evidencias de que también tiene capacidad de interaccionar con otros factores y coactivadores implicados en la transcripción genética^{6,11}.

El RG puede presentarse en 2 isoformas moleculares diferentes, el RG α y el RG β , con 777 y 742 aminoácidos, respectivamente¹². Ambas isoformas se han encontrado juntas en casi todos los tejidos humanos. El RG α es la isoforma predominante y la única que tiene capacidad para unirse a la hormona y, por lo tanto, para realizar funciones de activación o represión. La RG β se forma por un mecanismo alternativo de maduración (corte y empalme) del pre-ARN mensajero del RG (*alternative splicing*), y difiere de la isoforma α tan sólo en los últimos aminoácidos del extremo C-terminal (fig. 2). Esta diferencia podría hacer que el RG β fuera incapaz para unirse a la hormona. La posibilidad de que un

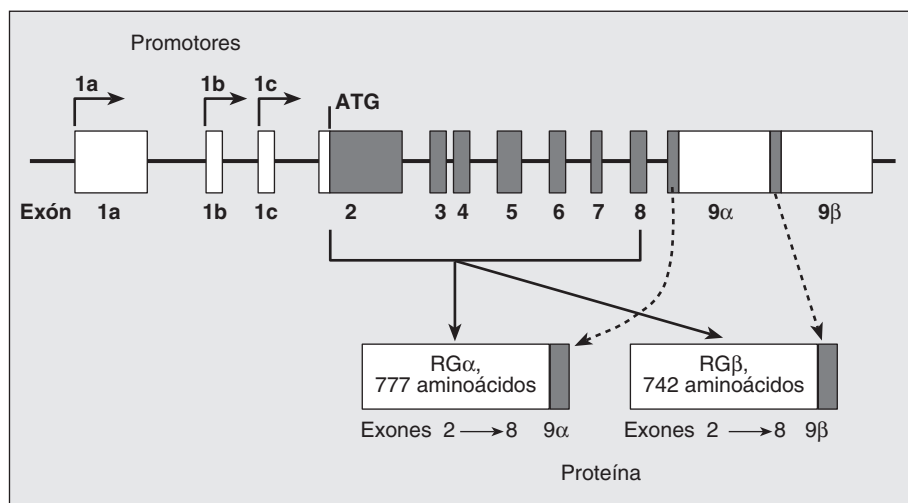


Fig. 2. Organización genómica del gen del receptor de glucocorticoides (RG) y las diferentes isoformas que genera. Las secuencias de los exones que se traducen se muestran como áreas oscuras, mientras que los extremos 5' y 3' no traducidos de los exones 1 y 9 se muestran como zonas más claras. Los intrones se representan como líneas. Existen evidencias de 3 promotores en el extremo 5' de la región no traducida del exón 1. Las estructuras proteicas de las 2 isoformas α y β son idénticas desde el aminoácido 1 al 727, y difieren sólo en el extremo carboxiterminal como resultado de un proceso de corte y empalme (*splicing*) alternativo del exón 9.

aumento de la isoforma β pudiera actuar como potente inhibidor de la isoforma activa por un mecanismo competitivo, y con ello reducir la eficacia de los GC, ha generado un debate científico sobre el peso que la isoforma β podría tener realmente en la respuesta clínica a los GC. Sin embargo, la disparidad en los datos obtenidos, los diferentes métodos usados y el gran predominio de isoformas α respecto a β han llevado a poner en duda la repercusión funcional de la isoforma β ¹³.

El RG inactivo está en el citoplasma unido, a través del extremo C-terminal, a un complejo oligomérico con algunas proteínas como las 2 subunidades de proteínas activadas por calor o hsp90 (90 kDa *heat shock protein*), la inmunofilina p59 y la pequeña p23 fosfoproteína. La interacción entre el RG y las hsp90 es importante para mantener oculta la señal de localización nuclear necesaria en la posterior migración nuclear del RG activado, así como para conservar la configuración del dominio C-terminal para la unión al ligando. Además, las hsp90 y otras proteínas asociadas al receptor son probablemente necesarias para la correcta maduración de los RG recién sintetizados¹⁴.

Cuando el RG se une a la hormona, se libera de sus interacciones con las hsp90 y esto induce un cambio en la conformación del receptor que tiene como resultado la activación del mismo, que se transloca al núcleo celular, donde se unirá al ADN a través de su dominio central en forma de dímeros. Este dominio central del RG responsable de su unión al ADN está constituido por 2 anillos de cinc. No obstante, existen novedosas evidencias de que también se producen fenómenos de transporte citoplasmiconuclear de RG no unido a hormona a través de la señal de localización nuclear¹⁵.

Los lugares de unión al ADN son secuencias palindrómicas de 15 pares de bases que se denominan "elementos de respuesta a los GC" (ERG; GGTACAnnnTGTTCT) y están situados en la región 5' promotora de los genes diana. La interacción de los dímeros de RG-GC con la doble hélice de ADN en estas regiones ERG, junto con determinados coactivadores, dará lugar a la inducción o represión de la transcripción genética (transactivación)⁶. La in-

teracción de un solo homodímero de RG activado con un ERG normalmente da lugar a un incremento de la transcripción, que provoca una mayor síntesis de proteína. De todas formas, todavía no se conoce del todo bien cómo puede variar parte de este proceso en función de la dosis o tipo de GC o del tipo de célula en el que esté actuando. Asimismo, esta unión de GC-RG al ADN parece relacionada, al menos en parte, con los aspectos endocrinos de los GC, lo cual incluye efectos secundarios como, por ejemplo, la osteoporosis, el retraso de crecimiento infantil o las alteraciones metabólicas. Sin embargo, los mecanismos moleculares responsables de estos efectos todavía no se conocen bien¹⁶.

El número de genes regulados directamente por los GC se estima entre 10 y 100. Además existen evidencias de que el complejo GC-RG es capaz de actuar también regulando genes indirectamente a través de la síntesis de proteínas antiinflamatorias o, lo que es más importante, por mecanismos de transrepresión. Por ejemplo, inhibiendo directamente factores transcripcionales proinflamatorios como el factor nuclear kappa B (NK- κ B) o la proteína activadora 1 (AP-1), o reduciendo la estabilidad de enzimas relacionadas con la expresión genética y proliferación celular que tiene lugar en el proceso inflamatorio como las MAPK (*mitogen-activated protein kinases*), así como participando en el reclutamiento y actividad de las enzimas histona acetiltransferasa (HAT) e histona deacetiltransferasa, responsables de la configuración de la cromatina, como veremos más adelante^{11,17}.

Mecanismos moleculares de acción

Represión de la transcripción de genes inflamatorios

Aunque todavía no se conocen con exactitud los aspectos más críticos de las propiedades antiinflamatorias de los GC, parece claro que los efectos inhibitorios sobre la síntesis de citocinas y quimiocinas son particularmente importantes. Los GC inhiben la síntesis de varias citocinas y quimiocinas que son particularmente importantes en enfermedades inflamatorias del pulmón, como

TABLA I
Efecto de los glucocorticoides sobre la transcripción genética

Incremento de la transcripción genética
Lipocortina 1
Receptores β_2
SLPI (<i>serum leukoprotease inhibitor</i>)
Proteína de células claras (CC10, inhibidor de la fosfolipasa A_2)
Antagonista del receptor de la IL-1
I κ B- α (inhibidor del factor nuclear kappa B)
IL-10
Disminución de la transcripción genética
Citocinas (IL-1, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-11, IL-13, factor de necrosis tumoral alfa, factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos)
Quimioquinas (RANTES, eotaxina, proteína I α inflamatoria de los macrófagos [MIP-1 α], proteínas quimiotácticas de monocitos 1 y 3)
Enzimas (óxido nítrico sintetasa inducible, ciclooxigenasa 2, fosfolipasa A_2 citoplasmática [cPLA $_2$])
Moléculas de adhesión (molécula 1 de adhesión intracelular, molécula 1 de adhesión de células vasculares)
Receptores (receptor de la IL-2, receptor de la taquicinina 1 [NK-1])

IL: interleucina.

el factor de necrosis tumoral alfa, GM-CSF, IL-1 β , IL-4, IL-5, IL-8 y eotaxina (tabla I)¹⁸.

Inicialmente se pensaba que este efecto era debido a la unión del GR a los elementos de respuesta a GC (ERG) en el ADN con función represora de la transcripción. Sin embargo, pocos de los genes que son desactivados por los GC parecen tener ERG negativos en sus secuencias promotoras, lo que induce a pensar que deben existir mecanismos inhibitorios menos directos. Un ejemplo de ERG negativo sería el gen de la osteocalcina. Los GC inhiben la producción de osteocalcina mediante un ERG que bloquea la unión del complejo de transcripción al ADN y, por tanto, no se produce ARN mensajero¹⁹.

El efecto inhibitorio de los GC parece ser en gran medida secundario a interacciones proteína-proteína entre un GR activado y factores de transcripción nuclear, tipo AP-1²⁰, NF- κ B²¹ o algunas proteínas STAT (*signal transducer and activator of transcription*) como la STAT-3²², STAT-5²³ y STAT-6²⁴. Recientes estudios apuntan a que los GC pueden tener efectos sobre la estructura de la cromatina del ADN. La estructura cromatínica es dinámica. En la célula en reposo, el ADN está firmemente enrollado alrededor de los residuos de histona del núcleo y, durante la activación celular, este compacto e inaccesible ADN se hace accesible a los factores de transcripción iniciando la transcripción genética²⁵. La cromatina está compuesta de nucleosomas, que están formados por un octómero de 4 histonas. Los extremos N-terminales de las histonas contienen lisinas altamente conservadas (K) que son los sitios de acetilación. La acetilación de los residuos K se correlaciona con la activación de la transcripción y está regulada por enzimas como la HAT y por la histona deacetilasa (HDAC)²⁶. Varios factores de transcripción como el NF- κ B y el AP-1 se unen a grandes moléculas de coactivación, como la proteína de fijación CREB (CBP), la cual

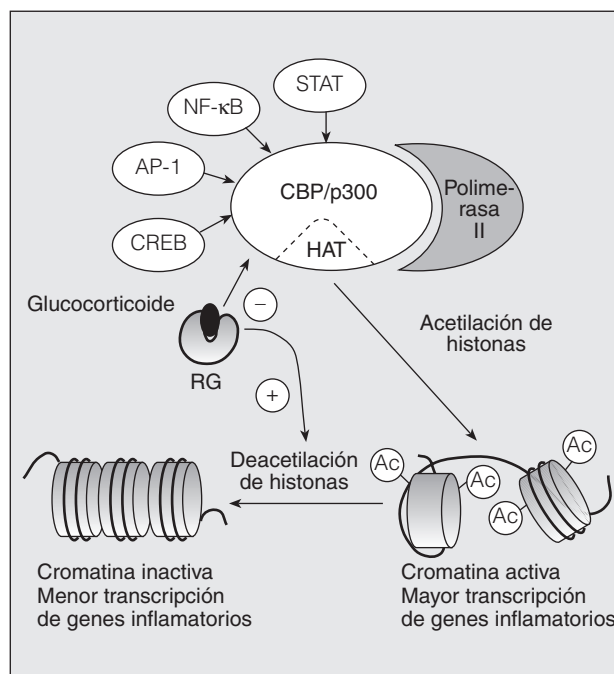


Fig. 3. Efecto de los glucocorticoides sobre la estructura de la cromatina. Los factores de transcripción como las STAT (*signal transducer and activator of transcription*), factor proteína activadora 1 (AP-1) y factor nuclear kappa B (NF- κ B) se unen a moléculas coactivadoras, como la proteína de fijación CREB (CBP) o p300, las cuales tienen actividad intrínseca de histona acetiltransferasa (HAT), lo que origina la acetilación de los residuos de histonas. Esto produce que la cromatina se despliegue, lo cual permite a los factores de transcripción unirse a la cromatina y que se produzca la transcripción de genes inflamatorios. Tras la activación por los glucocorticoides, el receptor de glucocorticoides (RG) también se une al CBP inhibiendo su actividad HAT y recluta histona deacetilasas, que aumenta el repliegue del ADN en torno a las histonas, de modo que resulta inaccesible a los factores de transcripción, lo que inhibe la transcripción.

tiene actividad intrínseca de HAT²⁷ y forma un puente con la maquinaria de transcripción basal y la ARN polimerasa II para iniciar la transcripción²⁸. Los factores de transcripción unidos a la CBP llevan a la acetilación de la histona e incrementan la transcripción genética (fig. 3). El RG puede competir con los sitios de unión de otros factores de transcripción en la CBP o, alternativamente, activar moléculas correpresoras de la transcripción que tienen actividad HDAC. Ito et al^{29,30} han demostrado que los GC inhiben la actividad HAT de la fracción p65 del NF- κ B y que el RG recluta HDAC2 para inhibir la acetilación de la histona H4 en las lisinas 8 y 12 inducida por IL-1 β . En consecuencia, todo ello da lugar a la deacetilación de las histonas nucleares, lo que modifica de nuevo la configuración de la cromatina haciendo que ésta se compacte alrededor de las histonas. Esto reduce el acceso de los factores de transcripción como el NF- κ B y el AP-1 a sus *locus* de unión en el ADN, lo que produce, en consecuencia, una represión de la transcripción inflamatoria, también denominada transrepresión. Es decir, los GC ejercerían su acción antiinflamatoria por un doble mecanismo: inhibiendo la acetilación de las histonas mediada por los factores transcripcionales con actividad intrínseca HAT y reclutando HDAC a los sitios de transcripción.

Otros mecanismos no genómicos propuestos incluyen el antagonismo de factores de transcripción dependientes de la vía de señales JNK (*C-Jun N-terminal kinasas*), como demuestra el bloqueo de la cascada de activación de las señales JNK mediante la inhibición de la fosforilación en la serina 63/73 por el RG³¹. El RG también inhibe la síntesis de proteínas reduciendo la vida media del ARN mensajero mediante una mayor transcripción de ribonucleasas específicas que tienen como diana las regiones ricas en AU de algunos genes, como los que regulan el GM-CSF³² o la ciclooxigenasa 2³³.

Inducción de la transcripción de genes antiinflamatorios

Los GC también pueden realizar su efecto inhibitorio sobre la inflamación incrementando la síntesis de proteínas antiinflamatorias, como la lipocortina 1, la SLPI (*serum leukoprotease inhibitor*), IL-10 o el antagonista de los receptores de IL-1. Este efecto está mediado vía ERG en las regiones promotoras de estos genes¹. El RG también puede incrementar la transcripción genética mediante su unión a factores coactivadores como la CBP, que actúa como puente para la activación de la ARN polimerasa II, y dar lugar así a la formación de ARN mensajero. Esta unión entre un RG activado y CBP también origina una mayor acetilación de las histonas nucleares, lo cual es esencial para la activación de la ARN polimerasa II. Por ejemplo, concentraciones elevadas de GC aumentan la secreción de SLPI en células epiteliales, lo cual se asocia a una acetilación selectiva de los residuos de lisina 5 y 16 de la histona H4²⁹. Los GC también han sido implicados en el incremento de I κ B α (inhibidor de NF- κ B), que puede inducir una inhibición del NF- κ B en los linfocitos³⁴, aunque esto no se ha demostrado en otras líneas celulares³⁵.

La lipocortina 1 es una proteína de 37 kDa que tiene efectos inhibitorios sobre el PLA₂ y, por tanto, inhibe la producción de mediadores lipídicos como los leucotrienos, prostaglandinas y factor activador de plaquetas en células epiteliales y leucocitos³⁶. La inhibición de la lipocortina se consideró en otros tiempos el principal efecto de los GC, aunque ahora sabemos que sus efectos no son muy específicos³⁷ y que la habilidad de los GC a la hora de inducir su producción puede variar de unas células a otras. Otro ejemplo de proteína antiinflamatoria incrementada por los GC es la IL-10, que está reducida en los macrófagos alveolares de pacientes con asma y cuya síntesis aumenta con el tratamiento esteroideo³⁸, o el antagonista del receptor de IL-1, que inhibe la unión de la proteína inflamatoria IL-1 a su receptor celular.

Otros genes diana

Enzimas inflamatorias. Los GC inhiben la síntesis de la óxido nítrico sintetasa, que es producida por citocinas proinflamatorias, así como de otras enzimas implicadas en la inflamación asmática, como la ciclooxigenasa 2 o la PLA₂ citosólica.

Moléculas de adhesión. Las moléculas de adhesión cumplen un papel primordial en el tráfico de células ha-

cia el sitio de inflamación. Muchas citocinas inflamatorias inducen la expresión de moléculas de adhesión en la superficie de las células endoteliales, y los GC pueden influir en dicha expresión bien indirectamente, mediante la reducción en estas citocinas inflamatorias, bien directamente en la transcripción genética de genes que codifican estas moléculas, como la molécula 1 de adhesión intracelular, la E-selectina o la molécula 1 de adhesión de células vasculares³⁹.

Receptores inflamatorios. Los GC reducen la expresión de genes que codifican algunos receptores de mediadores inflamatorios. Así, se han demostrado efectos inhibitorios de los GC sobre los receptores de taquicininas (receptores NK-1 y NK-2) y bradicininas (B1 y B2), que son importantes mediadores de inflamación y broncoconstricción en el asma⁴⁰.

Apoptosis. Los GC disminuyen la vida media de algunas células inflamatorias como los eosinófilos. La supervivencia de estas células es dependiente de la presencia de citocinas como la IL-5 y el GM-CSF⁴¹. Los GC bloquean la síntesis de estas citocinas, lo que desencadena la muerte programada de estas células, o apoptosis. Sin embargo, el mecanismo molecular de este efecto está aún por dilucidar. Por otro lado, los GC prolongan la supervivencia de los neutrófilos y disminuye su apoptosis⁴².

Adrenorreceptores β . Los GC aumentan la expresión de los adrenorreceptores β incrementando el ritmo de transcripción, que puede llegar a ser el doble del habitual. Esto se ha demostrado *in vitro* e *in vivo*⁴³, y puede ser de gran relevancia en el asma, ya que puede prevenir los fenómenos de taquifilaxia en pacientes tratados con betaagonistas.

Implicaciones clínicas

Glucocorticoides disociados

Muchos de los efectos antiinflamatorios de los GC son debidos a la inhibición de los factores de transcripción (transrepresión), mientras que los efectos endocrinológicos y metabólicos están mediados por la unión a los ERG del ADN (transactivación). Este hecho ha llevado a los investigadores a buscar moléculas de GC que tengan una función selectiva transrepresora para así evitar los efectos secundarios debidos a la actividad transactivadora. La unión a los ERG del ADN requiere la unión del RG activado en forma de homodímero, mientras que la interacción con los factores de transcripción como AP-1 y NF- κ B se produce con el RG en forma de monómero. Estos efectos disociados se han demostrado mediante la creación de mutaciones del RG en células en las que se infecta con un vector viral. Varias moléculas glucocorticoideas, como la RU24858, RU486 y ZK98299, tienen mayor efecto de transrepresión que de transactivación⁴⁴. De hecho, los GC inhalados utilizados para el tratamiento del asma hoy día, como el propionato de fluticasona o la budesonida, tienen un mayor efecto transrepresor, lo que explica su potencia antiinflamatoria.

Recientemente se ha descrito una nueva clase de GC donde existe una potente actividad transrepresora con una mínima actividad transactivadora. Estos esteroides disociados, como el RU2458, el RU40066 o el activador selectivo no esteroideo ZK216348⁴⁵, muestran una potente actividad antiinflamatoria, que puede llegar a ser comparable a la prednisona, y un perfil de efectos adversos mucho menor que los GC habituales. Esto indica que el desarrollo de nuevas moléculas de GC con mayor margen de seguridad es posible y que ello puede conducir al descubrimiento de esteroides orales sin efectos adversos significativos.

Resistencia a glucocorticoides

Aunque los GC son muy efectivos en el control de la inflamación en el asma, así como en otras enfermedades inflamatorias o inmunológicas, un pequeño porcentaje de pacientes asmáticos no responden siquiera a dosis elevadas de GC⁴⁶. Otras enfermedades como la artritis reumatoide o la enfermedad inflamatoria intestinal también presentan casos en que las dosis terapéuticas de los GC no son efectivas. Este hecho, aunque poco frecuente, constituye un problema importante en el manejo clínico de estos pacientes.

El asma corticorresistente se caracteriza por la incapacidad de incrementar el volumen espiratorio forzado en el primer segundo o el pico de flujo espiratorio por encima del 15% tras 2 semanas de tratamiento con prednisona oral a dosis de 30-40 mg/día durante 2 semanas. Estos pacientes no presentan síntomas de Addison, y tampoco anomalías en las hormonas sexuales, y tienen una respuesta de cortisol plasmático y de supresión adrenal normal en respuesta a cortisol exógeno, por lo que sufren los efectos secundarios de los GC. La resistencia total a los GC es muy rara, con una prevalencia de un caso por cada 1.000 asmáticos. Sin embargo, la resistencia parcial, con una respuesta reducida a los GC que requiere dosis altas de éstos para el control de la enfermedad, es mucho más común y constituye el asma corticodependiente.

Se han propuesto varios mecanismos para intentar explicar la resistencia a los GC observada en estos pacientes. Los monocitos y los linfocitos T aislados de estos pacientes tienen una respuesta disminuida a los GC *in vitro*. En algunos de ellos, existe una disminución en la afinidad del RG por el GC, circunstancia que puede reproducirse incubando las células T con IL-2 e IL-4, lo que lleva a una inhibición funcional de los efectos del GC⁴⁷. También existe una disminución del número de RG activados dentro del núcleo, después de exponer células mononucleares a un GC *in vitro*, cuando se compara a asmáticos con individuos normales. En estos mismos pacientes existe una disminución de los efectos inhibitorios de los GC sobre la activación de factor AP-1 y la expresión de citocinas, probablemente secundaria a una activación aumentada de las vías de la AP-1 y JNK⁴⁸. La mayor activación de la AP-1 puede derivar en un secuestro del RG, lo que impide su interacción con otras proteínas y, por tanto, produce resistencia a los GC. Esta resistencia tendría lugar en el sitio de inflama-

ción, pero no en los sitios donde no hay inflamación, lo que explicaría por qué estos pacientes son resistentes a los efectos antiinflamatorios pero no a los efectos secundarios de los GC⁴⁹.

En la mayoría de los pacientes asmáticos existe una correlación directa entre la capacidad del RG para translocarse en el núcleo de las células mononucleares y la capacidad de acetilación de residuos de histonas que se traduce en una mayor transcripción de proteína. Sin embargo, en un pequeño porcentaje de estos pacientes se produce la translocación nuclear del RG, pero ésta no es capaz de producir acetilación de histonas. Utilizando anticuerpos específicos antihistona este defecto fue localizado en un residuo concreto de lisina, la lisina 5 en la histona H4¹⁷. Este residuo es de importancia crucial para las acciones de los GC, ya que regula la secreción de SLPI y la apoptosis de células T. Todo esto apunta a que en un pequeño grupo de pacientes con asma corticorresistente existe un defecto en la interacción del RG con la maquinaria de transcripción celular.

Corticorresistencia en la EPOC

Los GC son poco efectivos para controlar la inflamación crónica que subyace en la etiopatogenia de la EPOC. Varios estudios han demostrado que los GC no suprimen las células, las citocinas ni las proteasas implicadas en su desarrollo^{50,51}. Los mecanismos están todavía por aclarar, aunque en los últimos años se han producido importantes avances. Los GC prolongan la supervivencia de los neutrófilos, lo que contribuye a la inflamación neutrofílica característica de la EPOC. Aunque algunos autores han postulado que el estrés oxidativo puede disminuir la translocación nuclear del RG^{52,53}, nuestros datos *in vitro* no han demostrado este efecto⁵⁴. Otro efecto demostrado del humo del tabaco es la disminución de la actividad de las HDAC, lo que podría explicar, al menos en parte, la resistencia a los efectos antiinflamatorios de los GC en pacientes con EPOC y asmáticos fumadores^{55,56}.

Conclusiones

El cada vez mayor conocimiento de los mecanismos moleculares de acción de los GC ha aportado una mejor comprensión de la fisiopatología de los procesos inflamatorios, pero también ha abierto una puerta para la investigación y el desarrollo de nuevos tratamientos antiinflamatorios. Se están desarrollando nuevos fármacos basados en las interacciones del RG con las distintas proteínas implicadas en la transcripción o sus diferentes vías de activación como, por ejemplo, inhibidores de la MAPK, inhibidores del NF-κB o inhibidores de la acetilación de las histonas. Una de las más importantes consecuencias de estas investigaciones sobre las acciones de los GC es que permiten conocer y actuar sobre las complejas interacciones entre los factores de transcripción y las distintas vías de activación que pueden actuar sinérgicamente, con lo que se podrían conseguir efectos más selectivos bloqueando estas interacciones a distintos niveles⁵⁷.

BIBLIOGRAFÍA

1. Barnes PJ. Anti-inflammatory actions of glucocorticoids: molecular mechanisms. *Clin Sci (Lond)*. 1998;94:557-72.
2. Reichstein T, Von Euw J. Constituents of the adrenal cortex: isolation of substance Q (desoxycorticosterone) and R with other materials. *Helvet Chim Acta*. 1938;21:1181.
3. Barnes PJ. Inhaled glucocorticoids for asthma. *N Engl J Med*. 1995;332:868-75.
4. Umland SP, Schleimer RP, Johnston SL. Review of the molecular and cellular mechanisms of action of glucocorticoids for use in asthma. *Pulm Pharmacol Ther*. 2002;15:35-50.
5. Adcock IM. Glucocorticoids: new mechanisms and future agents. *Curr Allergy Asthma Rep*. 2003;3:249-57.
6. Pelaia G, Vatrella A, Cuda G, Maselli R, Marsico SA. Molecular mechanisms of corticosteroid actions in chronic inflammatory airway diseases. *Life Sci*. 2003;72:1549-61.
7. Adcock IM, Ito K. Molecular mechanisms of corticosteroid actions. *Monaldi Arch Chest Dis*. 2000;55:256-66.
8. Holm AF, Godthelp T, Fokkens WJ, Severijnen EA, Mulder PG, Vroom TM, et al. Long-term effects of corticosteroid nasal spray on nasal inflammatory cells in patients with perennial allergic rhinitis. *Clin Exp Allergy*. 1999;29:1356-66.
9. Barnes PJ. Molecular mechanisms of steroid action in asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1996;97:159-68.
10. Barnes PJ, Pedersen S, Busse WW. Efficacy and safety of inhaled corticosteroids. New developments. *Am J Respir Crit Care Med*. 1998;157:S1-S53.
11. Leung DY, Bloom JW. Update on glucocorticoid action and resistance. *J Allergy Clin Immunol*. 2003;111:3-22.
12. Oakley RH, Sar M, Cidlowski JA. The human glucocorticoid receptor beta isoform. Expression, biochemical properties, and putative function. *J Biol Chem*. 1996;271:9550-9.
13. Torrego A, Pujols L, Picado C. Respuesta a tratamiento con glucocorticoides en asma. Papel de las isoformas alfa y beta del receptor glucocorticoideo. *Arch Bronconeumol*. 2002;38:436-40.
14. Smith DF, Toft DO. Steroid receptors and their associated proteins. *Mol Endocrinol*. 1993;7:4-11.
15. Reichardt HM, Tuckermann JP, Gottlicher M, Vujic M, Weih F, Angel P, et al. Repression of inflammatory responses in the absence of DNA binding by the glucocorticoid receptor. *EMBO J*. 2001;20:7168-73.
16. Adcock IM, Lane SJ. Corticosteroid-insensitive asthma: molecular mechanisms. *J Endocrinol*. 2003;178:347-55.
17. Kagoshima M, Ito K, Cosio B, Adcock IM. Glucocorticoid suppression of nuclear factor-kappa B: a role for histone modifications. *Biochem Soc Trans*. 2003;31:60-5.
18. Adcock IM. Molecular mechanisms of glucocorticosteroid actions. *Pulm Pharmacol Ther*. 2000;13:115-26.
19. Meyer T, Carlstedt-Duke J, Starr DB. A weak TATA box is a prerequisite for glucocorticoid-dependent repression of the osteocalcin gene. *J Biol Chem*. 1997;272:30709-14.
20. Jonat C, Rahmsdorf HJ, Park KK, Cato AC, Gebel S, Ponta H, et al. Antitumor promotion and antiinflammation: down-modulation of AP-1 (Fos/Jun) activity by glucocorticoid hormone. *Cell*. 1990;62:1189-204.
21. Ray A, Prefontaine KE. 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*. 1994;91:752-6.
22. Zhang Z, Jones S, Hagood JS, Fuentes NL, Fuller GM. STAT3 acts as a co-activator of glucocorticoid receptor signaling. *J Biol Chem*. 1997;272:30607-10.
23. Stocklin E, Wissler M, Gouilleux F, Groner B. Functional interactions between Stat5 and the glucocorticoid receptor. *Nature*. 1996;383:726-8.
24. Moriggl R, Berchtold S, Friedrich K, Standke GJ, Kammer W, Heim M, et al. Comparison of the transactivation domains of Stat5 and Stat6 in lymphoid cells and mammary epithelial cells. *Mol Cell Biol*. 1997;17:3663-78.
25. Wolffe AP, Hayes JJ. Chromatin disruption and modification. *Nucleic Acids Res*. 1999;27:711-20.
26. Grunstein M. Histone acetylation in chromatin structure and transcription. *Nature*. 1997;389:349-52.
27. Sheppard KA, Phelps KM, Williams AJ, Thanos D, Glass CK, Rosenfeld MG, et al. Nuclear integration of glucocorticoid receptor and nuclear factor-kappa B signaling by CREB-binding protein and steroid receptor coactivator-1. *J Biol Chem*. 1998;273:29291-4.
28. Ogryzko VV, Schiltz RL, Russanova V, Howard BH, Nakatani Y. The transcriptional coactivators p300 and CBP are histone acetyltransferases. *Cell*. 1996;87:953-9.
29. Ito K, Barnes PJ, Adcock IM. Glucocorticoid receptor recruitment of histone deacetylase 2 inhibits interleukin-1beta-induced histone H4 acetylation on lysines 8 and 12. *Mol Cell Biol*. 2000;20:6891-903.
30. Ito K, Jazwari E, Cosio B, Barnes PJ, Adcock IM. p65-activated histone acetyltransferase activity is repressed by glucocorticoids: Mifepristone fails to recruit HDAC2 to the p65/HAT complex. *J Biol Chem*. 2001;276:30208-15.
31. Swantek JL, Cobb MH, Geppert TD. Jun N-terminal kinase/stress-activated protein kinase (JNK/SAPK) is required for lipopolysaccharide stimulation of tumor necrosis factor alpha (TNF-alpha) translation: glucocorticoids inhibit TNF-alpha translation by blocking JNK/SAPK. *Mol Cell Biol*. 1997;17:6274-82.
32. Bickel M, Cohen RB, Pluznik DH. Post-transcriptional regulation of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor synthesis in murine T cells. *J Immunol*. 1990;145:840-5.
33. Newton R, Seybold J, Kuitert LM, Bergmann M, Barnes PJ. Repression of cyclooxygenase-2 and prostaglandin E2 release by dexamethasone occurs by transcriptional and post-transcriptional mechanisms involving loss of polyadenylated mRNA. *J Biol Chem*. 1998;273:32312-21.
34. Scheinman RI, Cogswell PC, Lofquist AK, Baldwin AS Jr. Role of transcriptional activation of I kappa B alpha in mediation of immunosuppression by glucocorticoids. *Science*. 1995;270:283-6.
35. Brostjan C, Anrather J, Csizmadia V, Stroka D, Soares M, Bach FH, et al. Glucocorticoid-mediated repression of NF-kappa B activity in endothelial cells does not involve induction of I-kappa-B-alpha synthesis. *J Biol Chem*. 1996;271:19612-6.
36. Croxtall JD, Choudhury Q, Tokumoto H, Flower RJ. Lipocortin-1 and the control of arachidonic acid release in cell signalling. Glucocorticoids (changed from glucorticoids) inhibit G protein-dependent activation of cPLA2 activity. *Biochem Pharmacol*. 1995;50:465-74.
37. Davidson FF, Lister MD, Dennis EA. Binding and inhibition studies on lipocortins using phosphatidylcholine vesicles and phospholipase A2 from snake venom, pancreas, and a macrophage-like cell line. *J Biol Chem*. 1990;265:5602-9.
38. John M, Lim S, Seybold J, Jose P, Robichaud A, O'Connor B, et al. Inhaled corticosteroids increase interleukin-10 but reduce macrophage inflammatory protein-1 alpha, granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, and interferon-gamma release from alveolar macrophages in asthma. *Am J Respir Crit Care Med*. 1998;157:256-62.
39. Atsuta J, Plitt J, Bochner BS, Schleimer RP. Inhibition of VCAM-1 expression in human bronchial epithelial cells by glucocorticoids. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 1999;20:643-50.
40. Haddad EB, Fox AJ, Rouseil J, Burgess G, McIntyre P, Barnes PJ, et al. Post-transcriptional regulation of bradykinin B1 and B2 receptor gene expression in human lung fibroblasts by tumor necrosis factor-alpha: modulation by dexamethasone. *Mol Pharmacol*. 2000;57:1123-31.
41. Walsh GM. Mechanisms of human eosinophil survival and apoptosis. *Clin Exp Allergy*. 1997;27:482-7.
42. Meagher LC, Cousin JM, Seckl JR, Haslett C. Opposing effects of glucocorticoids on the rate of apoptosis in neutrophilic and eosinophilic granulocytes. *J Immunol*. 1996;156:4422-8.
43. Mak JC, Nishikawa M, Barnes PJ. Glucocorticosteroids increase beta 2-adrenergic receptor transcription in human lung. *Am J Physiol*. 1995;268:L41-L6.
44. Heck S, Kullmann M, Gast A, Ponta H, Rahmsdorf HJ, Herrlich P, et al. A distinct modulating domain in glucocorticoid receptor monomers in the repression of activity of the transcription factor. AP-1. *EMBO J*. 1994;13:4087-95.
45. Schacke H, Schottelius A, Docke WD, Strehlke P, Jaroch S, Schmees N, et al. Dissociation of transactivation from transrepression by a selective glucocorticoid receptor agonist leads to separation of therapeutic effects from side effects. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004;101:227-32.
46. Barnes PJ, Woolcock AJ. Difficult asthma. *Eur Respir J*. 1998;12:1209-18.

47. Szeffler SJ, Leung DY. Glucocorticoid-resistant asthma: pathogenesis and clinical implications for management. *Eur Respir J*. 1997;10:1640-7.
48. Lane SJ, Adcock IM, Richards D, Hawrylowicz C, Barnes PJ, Lee TH. Corticosteroid-resistant bronchial asthma is associated with increased c-fos expression in monocytes and T lymphocytes. *J Clin Invest*. 1998;102:2156-64.
49. Barnes PJ, Greening AP, Crompton GK. Glucocorticoid resistance in asthma. *Am J Respir Crit Care Med*. 1995;152:S125-S40.
50. Keatings VM, Jatakanon A, Worsdell YM, Barnes PJ. Effects of inhaled and oral glucocorticoids on inflammatory indices in asthma and COPD. *Am J Respir Crit Care Med*. 1997;155:542-8.
51. Culpitt SV, Maziak W, Loukidis S, Nightingale JA, Matthews JL, Barnes PJ. Effect of high dose inhaled steroid on cells, cytokines, and proteases in induced sputum in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med*. 1999;160:1635-9.
52. Okamoto K, Tanaka H, Ogawa H, Makino Y, Eguchi H, Hayashi S, et al. Redox-dependent regulation of nuclear import of the glucocorticoid receptor. *J Biol Chem*. 1999;274:10363-71.
53. Okamoto K, Tanaka H, Makino Y, Makino I. Restoration of the glucocorticoid receptor function by the phosphodiester compound of vitamins C and E, EPC-K1 (L-ascorbic acid 2-[3,4-dihydro-2,5,7,8-tetramethyl-2-(4,8,12-trimethyltridecyl)-2H-1-benzopyran-6-yl hydrogen phosphate] potassium salt), via a redox-dependent mechanism. *Biochem Pharmacol*. 1998;56:79-86.
54. Cosío BG, Jazrawi E, Barnes PJ, Adcock IM. Oxidative stress augments cytokine production in different cell lines. *Am J Respir Crit Care Med*. 2002;165:A88.
55. Ito K, Lim S, Caramori G, Chung KF, Barnes PJ, Adcock IM. Cigarette smoking reduces histone deacetylase 2 expression, enhances cytokine expression, and inhibits glucocorticoid actions in alveolar macrophages. *FASEB J*. 2001;15:1110-2.
56. Cosío BG, Isaprouni L, Ito K, Jazrawi E, Adcock IM, Barnes PJ. Theophylline restores histone deacetylase activity and steroid responses in COPD macrophages. *J Exp Med*. 2004;200(5):689-95.
57. Adcock IM. Glucocorticoid-regulated transcription factors. *Pulm Pharmacol Ther*. 2001;14:211-9.