



Sveriges lantbruksuniversitet  
Swedish University of Agricultural Sciences

Fakulteten för veterinärmedicin och  
husdjursvetenskap

Institutionen för biomedicin och veterinär  
folkhälsovetenskap

# Glukokortikoiders Molekulära Mekanismer – Terapeutiska Effekter och Biverkningar

*Emma Hjorth*

*Uppsala  
2018*



# Glukokortikoiders Molekylära Mekanismer – Terapeutiska Effekter och Biverkningar

## The Molecular Mechanism of Glucocorticoids - Therapeutic Effects and Side-effects

*Emma Hjorth*

**Handledare:** *Eva Tydén, SLU, Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap*

**Biträdande handledare:** *Carl Ekstrand, SLU, Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap*

**Examinator:** *Maria Löfgren, SLU, Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap*

**Omfattning:** 15 hp

**Nivå och fördjupning:** Grundnivå, G2E

**Kurstitel:** *Självständigt arbete i veterinärmedicin*

**Kurskod:** EX0700

**Program/utbildning:** Veterinärprogrammet

**Utgivningsort:** Uppsala

**Utgivningsår:** 2018

**Serienamn:** Veterinärprogrammet, examensarbete för kandidatexamen

**Delnummer i serien:** 2018:34

**Elektronisk publicering:** <http://stud.epsilon.slu.se>

**Nyckelord:** *Glukokortikoid, Glukokortikoidreceptor, GR, SEGRA*

**Key words:** *Glucocorticoid, Glucocorticoid receptor, GR, SEGRA*

Sveriges lantbruksuniversitet  
Swedish University of Agricultural Sciences

Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap  
Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap



## INNEHÅLLSFÖRTECKNING

Sammanfattning .....	1
Summary .....	2
Inledning .....	3
Material och metoder .....	3
Litteraturoversikt.....	3
Binjuren och steroidhormon.....	3
<i>Steroidsyntes</i> .....	4
Endogena glukokortikoider .....	4
Fysiologiska effekter.....	5
<i>Faktorer som påverkar kortisolsekretion</i> .....	6
Allmänt om glukokortikoidreceptorn.....	6
<i>Genomic och Non-genomic pathway</i> .....	7
<i>Genomic pathway</i> .....	7
<i>Non-genomic pathway</i> .....	8
Glukokortikoider som läkemedel .....	8
<i>Biverkningar</i> .....	10
Selektiva glukokortikoidreceptor agonister .....	11
Diskussion.....	14
Litteraturförteckning .....	16



## SAMMANFATTNING

Glukokortikoider är en grupp av endogena steroidhormon som bildas i binjurebarken. Hos de flesta däggdjur är kortisol den viktigaste glukokortikoiden, undantag är möss och råttor där kortikosteron istället är den dominerande glukokortikoiden. Glukokortikoider utövar många olika effekter i kroppen, till exempel så är de viktiga för regleringen av metabola processer och för att koordinera det fysiologiska svaret på stress. Glukokortikoider har också visats vara essentiella för fosterutvecklingen samt för att reglera och avsluta ett inflammatoriskt svar. Glukokortikoider och deras antiinflammatoriska egenskaper upptäcktes på 1940-talet och idag är syntetiska glukokortikoider bland de mest använda läkemedlen inom veterinärmedicinen. Glukokortikoider används vid behandling av en rad olika inflammatoriska och allergiska sjukdomar, användningen begränsas dock till stor del av uppkomsten av kraftiga biverkningar. Mekanismerna bakom glukokortikoidens antiinflammatoriska effekter och biverkningar är fortfarande inte helt klarlagda och mer forskning behövs för att utveckla ett läkemedel utan de traditionella glukokortikoidernas många biverkningar. Syftet med den här litteraturstudien är att utforska tillgänglig kunskap om glukokortikoider, deras syntes, reglering och fysiologiska effekter. Litteraturstudien syftar även till att fördjupa sig i glukokortikoidernas molekylära mekanismer för att få en bättre förståelse för mekanismerna bakom glukokortikoidernas antiinflammatoriska effekter samt biverkningar.

Efter att studier indikerat att glukokortikoidernas antiinflammatoriska effekt kommer av repressionen av inflammatoriska gener påbörjades utvecklingen av så kallade ”selektiva glukokortikoidreceptor-agoniser”/”selektiva glukokortikoidreceptor-mediatorer” (SEGRAs/SEGRMs), som huvudsakligen ger transrepression. Hypotesen blev att aktivering av gener involverade i metabola processer stod bakom glukokortikoidernas många biverkningar. Genom att skapa SEGRAs/SEGRMs, som ger transrepression och liten till ingen transaktivering, var tanken att glukokortikoidernas eftersträvade effekter skulle kunna skiljas ifrån deras biverkningar. Forskning på mekanismerna bakom transrepression och transaktivering har dock uppdagat en mer komplex och överlappande bild än vad tidigare forskning indikerat, vilket försvårar framställningen av en substans som uteslutande ger transrepression. Ny forskning har också visat att transaktiveringen av antiinflammatoriska gener är en essentiell del i glukokortikoidernas antiinflammatoriska effekt vilket ifrågasätter användningen av SEGRAs/SEGRMs vid inflammatoriska tillstånd. Forskning på selektiva glukokortikoidreceptor-agonister/-mediatorer, som uteslutande ger transrepression eller transaktivering, skulle dock kunna användas inom forskning för att bättre förstå glukokortikoidernas molekylära mekanismer vilket i sin tur kan leda till upptäckten av nya substanser med en bättre biverkningsprofil.

## SUMMARY

Glucocorticoids are a group of endogenous steroid hormones that are formed in the adrenal cortex. The most important glucocorticoid in most mammals is cortisol, exceptions are mice and rats in which corticosterone is the dominant glucocorticoid. Glucocorticoids exert a number of different regulatory effects on the body, for example the regulation of metabolic processes and of physiological responses to stress. Studies have also shown that glucocorticoids are essential for fetal development, as well as modulating and terminating an inflammatory response. Glucocorticoids and their anti-inflammatory effects were discovered in the 1940's and today synthetic glucocorticoids are among the most used pharmaceuticals in veterinary medicine. Glucocorticoids are used to treat a variety of inflammatory and allergic diseases, their use is however significantly limited due to the emergence of severe side effects. The mechanisms behind the anti-inflammatory effects, and accompanying adverse effects, of glucocorticoids are still not fully understood. More research is needed in order to develop a drug without the various side-effects of traditional glucocorticoids. The purpose of this essay is to explore the available knowledge on glucocorticoids, their synthesis and physiological effects. The essay also strives to investigate the molecular mechanisms of glucocorticoids in order to obtain a better understanding of the anti-inflammatory effects and side-effects of glucocorticoids.

Studies suggesting that the anti-inflammatory effects of glucocorticoids are mediated through the repression of genes involved in the inflammatory response led to the development of compounds favouring the transrepressing actions of glucocorticoids, so called "selective glucocorticoid receptor agonists"/selective glucocorticoid receptor mediators" (SEGRAs/SEGRMs). The hypothesis was that the activation of genes involved in metabolic processes accounted for the many side effects of glucocorticoids, and by creating SEGRAs/SEGRMs, with a functional transrepression mechanism but impaired transactivation mechanism, the therapeutic actions could be separated from the adverse effects. However, research on the mechanisms of transrepression and transactivation has unveiled a more complex and overlapping chain of action than previous research indicated, which complicates the preparation of a substance that exclusively provides transrepression. New research has also shown that the transactivation of anti-inflammatory genes is an essential part of the anti-inflammatory effect of glucocorticoids, which questions the use of selective glucocorticoid agonists/mediators in treatment of inflammation. Research on selective glucocorticoid receptor agonists/mediators, that favours a transrepressing or transactivating action, could however be helpful in elucidating the molecular actions of glucocorticoids. New insights into the molecular mechanisms of glucocorticoids could in turn lead to the discovery of new compounds with fewer side effects.



## INLEDNING

Då vävnad skadas, av trauma, infektion eller på något annat sätt, så påbörjas normalt en inflammatorisk process. I vissa fall kan inflammationen orsaka större skada än traumat eller sjukdomen i sig. Genom att påverka immunförsvaret på olika sätt kan en hög koncentration av glukokortikoider dämpa eller till och med hämma inflammatoriska eller allergiska reaktioner (Sjaastad, Sand & Hove, 2010). Den terapeutiska effekten av glukokortikoider uppstår generellt endast då man har en farmakologisk koncentration (Boothe & Mealey, 2012) och kommer huvudsakligen av glukokortikoidernas direkta eller indirekta påverkan på transkriptionen av gener i vita blodkroppar (Countinho & Chapman, 2011).

Glukokortikoider och deras antiinflammatoriska egenskaper upptäcktes på 1940-talet och idag är glukokortikoider ett av de mest använda läkemedlen inom veterinärmedicinen (Countinho & Chapman, 2011; Boothe & Mealey, 2012). Trots det är mycket av den information som finns tillgänglig angående glukokortikoidernas fysiologiska och farmakologiska effekter extrapolerad ifrån human- och gnagar-studier (Boothe & Mealey, 2012).

Sedan 1940-talet har många nya upptäckter kring glukokortikoidernas molekylära mekanismer gjorts, men fortfarande finns mycket kvar att utforska. (Countinho & Chapman, 2011). Syftet med den här litteraturstudien är att sammanfatta glukokortikoidernas endogena mekanismer och funktioner, hur de kan utnyttjas i behandling av inflammatoriska tillstånd och vilka biverkningar som en behandling kan föra med sig. I litteraturstudien kommer även glukokortikoidernas molekylära mekanismer att tas upp och utforskas för att få en djupare förståelse för mekanismerna bakom glukokortikoidernas antiinflammatoriska effekter och biverkningar.

## MATERIAL OCH METODER

Det här är en litteraturstudie som sammanfattar tillgänglig kunskap om glukokortikoider, dess molekylära mekanismer, biverkningar vid behandling och forskning kring selektiva glukokortikoidreceptoragonister/mediatorer. Sökningar har gjorts i databaserna Web of Science, Scopus samt Pubmed. Sökord som använts är "glucocorticoid" eller "corticosteroid", tillsammans med "side-effects" eller "adverse effects", samt "glucocorticoid receptor" och "selective glucocorticoid receptor agonist" eller "SEGRAs".

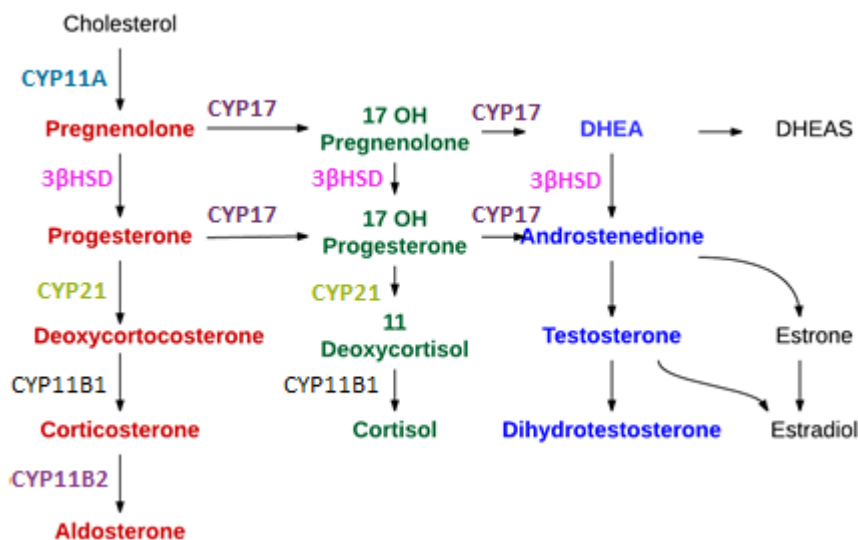
## LITTERATURÖVERSIKT

### Binjuren och steroidhormon

Binjuren består av två delar, märg (medulla) och bark (cortex). Märgen producerar katekolaminer såsom adrenalin, noradrenalin och dopamin. Barken består av tre distinkta zoner, *zona glomerulosa*, *zona fasciculata* och *zona reticularis*. I zonerna bildas steroidhormon som kollektivt kallas för "adrenokortikala hormon". Var och en av zonerna står huvudsakligen för produktionen av en typ av steroidhormon. I *zona glomerulosa* bildas mineralkortikoider, i *zona fasciculata* bildas glukokortikoider och i *zona reticularis* bildas androgener. (Rang and Dale, 2016; Sjaastad, Sand & Hove, 2010).

## Steroidsyntes

De kortikala cellerna innehåller höga koncentrationer av kolesterol vilket används i steroidhormonproduktionen (Sjaastad, Sand & Hove, 2010). Kolesterol utvinns ifrån low-density lipoprotein (LDL), som tas upp av de kortikala cellerna, eller syntetiseras ifrån acetat. Cytokrom P-450 enzym står för större delen av kolesterolts omvandling till steroidhormon. Steroidsyntesen illustreras nedan i Figur 1. Skillnaden i två olika cytokrom P-450 enzym, P-450<sub>c18</sub> respektive P-450<sub>c17</sub>, avgör vilken typ av hormon, mineralkortikoid, glukokortikoid respektive androgen, som bildas i binjurebarkens olika zoner. I *zona glomerulosa* konverterar det mitokondriella enzymet cytokrom P-450<sub>c18</sub> (aldosteronsyntas) deoxycortikosteron via kortikosteron till aldosteron. I de andra två zonerna bildas, hos de flesta däggdjur, mikrosomalt cytokrom P-450<sub>c17</sub> (17 $\alpha$ -hydroxalas) som krävs för metabolismen av pregnenolon och progesteron och för att bilda kortisol (se Figur 1). P-450<sub>c17</sub> uttrycks inte i binjuren hos mus och råtta, binjuren hos de här djuren producerar därför kortikosteron istället för kortisol. Övriga enzym som behövs i steroidsyntesen finns i alla tre zoner (Rijnberk and Kooistra, 2010; Payne & Hales, 2004). Adrenokortikala hormoner är fettlösliga och diffunderar därför ut ur de kortikala cellerna så fort de producerats (Sjaastad, Sand & Hove, 2010).



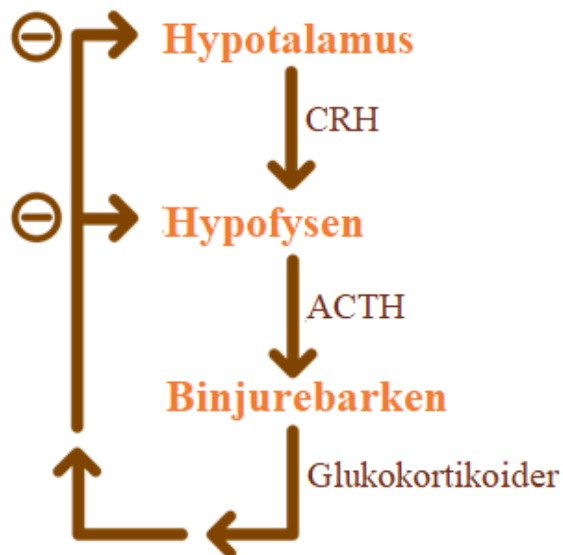
Figur 1. Steroidsyntesen är komplex och ett flertal enzymer samverkar för att skapa steroidhormon, däribland cytokrom P450<sub>c18</sub> (CYP11B2) som behövs för att bilda aldosteron och cytokrom P450<sub>c17</sub> (CYP17) som behövs för att metabolisera pregnenolon och progesteron och bilda kortisol.

## Endogena glukokortikoider

Den viktigaste glukokortikoiden hos de flesta däggdjur är kortisol, men även kortikosteron och andra steroidhormon som har en svagare glukokortikoidaktivitet produceras i binjuren. Variation förekommer också mellan olika arter, hos möss och råttor så är till exempel kortikosteron den dominerande glukokortikoiden (Payne & Hales, 2004; Sjaastad, Sand & Hove, 2010).

Glukokortikoider kan, liksom övriga steroidhormon, inte lagras i binjuren utan frisätts till blodet direkt efter syntes. Sekretionen av glukokortikoider sker via "hypothalamic-pituitary-adrenal axis" (HPA-axeln) och regleras via en negativ feedbackmekanism. HPA-axeln och den negativa

feedbackmekanismen illustreras i Figur 2. ACTH-releasing hormone (ACTHRH), även känd som corticotrophin-releasing hormone (CRH), är den huvudsakliga faktorn som frisätts ifrån hypotalamus i HPA-axeln hos människa och hund. CRH stimulerar sekretionen av ACTH ifrån hypofysens främre lob och ACTH stimulerar i sin tur produktionen och sekretionen av glukokortikoider ifrån binjurebarken. Både CRH och ACTH inhiberas av ökande koncentrationer av glukokortikoider i blodet (negativ feedback) (Behrend & Kempainen, 1997; Rang & Dale, 2016).



Figur 2: En illustration av HPA-axeln och glukokortikoidernas negativ feedbacksystem. CRH frisätts ifrån hypotalamus och stimulerar sekretionen av ACTH ifrån hypofysen, ACTH stimulerar syntes och sekretion av glukokortikoider. En förhöjd glukokortikoidkoncentration i blodet ger en negativ feedback på hypotalamus och hypofysen som sekreterar mindre CRH respektive ACTH.

Glukokortikoidernas förmåga att inhibera ACTH-frisättningen ifrån hypofysen är den viktigaste feedbackmekanismen att vara medveten om vid en glukokortikoidbehandling. Exogena glukokortikoider inhiberar, via negativ feedback, den basala, ACTH-stimulerade sekretionen av glukokortikoider vilket kan leda till binjureatrofi. Om binjuren inte längre är kapabel till att sekretera tillräcklig mängd endogena glukokortikoider kan patienten drabbas av hypoadrenocorticism (Addisons sjukdom) efter avslutad glukokortikoidbehandling. En glukokortikoidbehandling bör därför avslutas successivt (Behrend & Kempainen, 1997).

### Fysiologiska effekter

Glukokortikoider är livsnödvändiga och utövar flertalet effekter i kroppen. Till exempel koordinerar de fysiologiska svar på stress genom att höja plasmaglukoskoncentrationen, inducera hepatisk glukoneogenes samt katabolism av fettreserver. Andra funktioner är reglering lipid-, kolhydrat- och proteinmetabolismen, regleringen av kolhydratmetabolismen är nödvändig för att bevara kroppens glukoshomeostas. Glukokortikoider behövs också för att reglera immunsystemet samt för en normal fosterutveckling (Cole *et al.*, 1995; Sanderson, 2006; Sjaastad, Sand & Hove, 2010; Clark and Belvisi, 2012).

En studie av Cole *et al.* undersökte överlevnaden hos knockoutmöss utan funktionella glukokortikoidreceptorer (GR<sup>-/-</sup>). Mössen skapades med hjälp av tre oberoende embryologiska stamcellskloner (ES) ifrån 129/J möss, i vilka genen för GR inaktiverats. ES injicerades in i C57BL/6 blastocyster för att skapa chimära möss. Chimära möss ifrån två av klonerna (10 respektive 76) gav upphov till avkomma med 129/J pälsfärg vilket indikerade att anlag ifrån stamcellerna gått i arv. Chimärer av ES klon 10 parades med både C57BL/6 och 129/J för att generera en utavlade och isogen koloni. 50% av avkommorna var heterozygoter för den muterade GR-allelen. Homozygota möss skapades genom att korsa de heterozygota djuren. 14 kullar efter heterozygota möss undersöktes för att få fram den perinatale överlevnaden av GR<sup>-/-</sup> möss. Ungefär 25% av avkommorna var homozygota för GR-mutationen. Inga möss som var GR<sup>-/-</sup> överlevde och de flesta dog redan under de första timmarna efter födseln. Vid födseln uppvisade GR<sup>-/-</sup> mössen andnöd och en histologisk undersökning visade en allvarlig lungatelektas. En histologisk undersökning av GR<sup>-/-</sup> möss i olika utvecklingsstadier, 15.5, 16.5, 17.5 respektive 18.5 dagar *post coitum*, visade att bristen på glukokortikoidsignalering påverkade den normala utvecklingen av terminala bronkioler och alveoler. Glukokortikoider har i tidigare studier även visat sig vara nödvändiga för att aktivera surfaktantgener innan födseln. Författarna kom fram till att glukokortikoider är nödvändiga för en normal lungutveckling och för perinatal överlevnad.

### **Faktorer som påverkar kortisolsekretion**

Exogena faktorer såsom stress, trauma, värme och neurala impulser inducerar en ökad frisättning av ACTH ifrån hypofysen vilket ger ökade nivåer av kortisol i blodet (Sjaastad, Sand & Hove, 2010; Boothe & Mealey, 2012). Hos hund korrelerar kortisolkoncentrationen i plasma med kortisolkoncentrationen i saliv och kortisolnivåer kan därför mätas med hjälp av salivprov (Dreschel & Granger, 2005). En studie av Dreschel och Granger 2005 undersökte kortisolkoncentrationerna i saliv hos 19 åskrädda hundar innan (baseline) och 20 respektive 40 minuter efter att de utsatts för en inspelning av ett åskoväder på hög volym under 5 minuter. Salivprov togs även på en ”kontrolldag”, utan ljud, vid samma tider som under testdagen. 20 minuter efter att hundarna utsatts för åskljudet visade medelkortisolkoncentrationen i saliv jämfört med baseline en ökning på 206,6%, 40 minuter efter åskljudet låg kortisolnivåerna 150% över baseline. På kontrolldagen observerades inga skillnader i kortisolkoncentrationer jämfört med baseline vid samma tidpunkter.

### **Allmänt om glukokortikoidreceptorn**

Alla fysiologiska effekter som fås av glukokortikoider, endogena liksom exogena, kommer av interaktionen mellan glukokortikoiden och kortikoidreceptorn. Det finns två huvudtyper av kortikoidreceptorer, typ I som även kallas mineralkortikoidreceptor (MR) och typ II som även kallas glukokortikoidreceptor (GR). MR har en högre affinitet för glukokortikoider jämfört med GR som har en lägre affinitet för glukokortikoider. Vid basala nivåer binder glukokortikoider därför främst till och aktiverar MR. Först vid förhöjda kortisolkoncentrationer, till exempel vid stress, kan glukokortikoider även binda in till och aktivera fler GR (Reichardt & Schütz, 1998; Boothe & Mealey, 2012).

Typ och antal kortikoidreceptorer varierar mellan olika vävnader (Boothe & Mealey, 2012). GR uttrycks i alla kärnförande celler jämfört med MR som endast uttrycks i celler i hjärnan,

hjärtat, njurar, kolon och spottkörtlar (Reichardt & Schütz, 1998; Sjaagard, Sand & Hove, 2010). Antalet kortikoidreceptorer i vävnad är också autoreglerad, vilket innebär att antalet receptorer nedregleras vid tillstånd med höga glukokortikoidkoncentrationer och uppreglas vid låga glukokortikoidkoncentrationer (Kalman & Spencer, 2002; Rashid & Lewis, 2005).

### **Genomic och Non-genomic pathway**

Glukokortikoidernas antiinflammatoriska och immunsupprimerande egenskaper medieras både genom genomic och non-genomic pathway. Många effekter sker snabbt, oberoende av förändringar i genuttryck (non-genomic pathway) (Rhen & Cidlowski, 2005). Glukokortikoider verkar främst på det cellmedierade immunförsvaret genom att hämma vita blodceller och deras intracellulära kommunikation. Glukokortikoider har minimal effekt på immunoglobulin-koncentrationer men kan ändra immunoglobulinernas funktion, till exempel genom att förhindra opsonisering av bakterier (Rhen & Cidlowski, 2005; Boothe & Mealey, 2012).

### **Genomic pathway**

Glukokortikoider kan dämpa inflammation genom att antingen inhibera transkription av inflammatoriska gener (cytokiner, enzymer, receptorer och adhesionsmolekyler) (Barnes, 1998) och genom att inducera transkription av antiinflammatoriska gener (cytokiner och proteiner) (Coutinho & Chapman, 2011). Glukokortikoider upp- eller nedreglerar upp till 2000 gener som är involverade i immunförsvaret och förhindrar därigenom tidiga och sena faser av inflammation (Prigent *et al.*, 2004). Glukokortikoidernas effekt kan utövas på två sätt via genomic pathway; Steroid-receptorkomplexet går in i cellkärnan och 1. binder direkt till en specifik DNA-sekvens och aktiverar eller inhiberar generna, 2. interagerar med andra transkriptionsfaktorer och aktiverar eller inhiberar indirekt transkriptionen av vissa gener (Haller *et al.*, 2008; Vandevyver *et al.*, 2012).

Steroidhormon är lipofila till naturen och kan diffundera passivt in i celler, väl inne binder glukokortikoiden till GR i cytosolen vilket aktiverar receptorn. Steroid-receptorkomplexet translokerar sedan till cellkärnan (Prigent *et al.*, 2004; Vandevyver *et al.*, 2012). I cellkärnan kan steroid-receptorkomplexet antingen fungera som en homodimerisk transkriptionsfaktor som binder till "glucocorticoid responsive elements" (GREs) i promotorregioner till glukokortikoid-reglerade gener, eller som ett monomeriskt protein som samarbetar med andra transkriptionsfaktorer för att inducera transkription (Vandevyver *et al.*, 2012). De här processerna ger en transaktivering. Monomeriska GR kan även "binda upp" transkriptionsfaktorer, genom en mekanism som kallas "tethering", eller på annat sätt fysiskt interagera med transkriptionsfaktorer och därigenom förhindra transkription. De här mekanismerna ger transrepression. Repressionen av GR-reglerade gener kan också medieras genom en GR-homodimer som binder till promotor-regionerna hos negativa GREs (nGREs) (Surjit *et al.* 2011; Busillo and Cidlowski, 2013; Vandevyver *et al.*, 2013).

En studie av Reichardt *et al.* 1998 undersökte betydelsen av transaktivering respektive transrepression *in vivo* genom att skapa möss med en punktmutation i GR som förhindrar dimerisering och därigenom GRE-beroende transaktivering. De muterade mössen, GR<sup>dim</sup> möss, skapades med hjälp av två embryologiska stamcellskloner (ES) med punktmutationen A458T. Chimära djur skapades genom blastocystinjektion av ES. De chimära djuren parades sedan med

C57Bl/6 för att se till att gener ifrån muterade stamcellerna gick i arv. Heterozygota möss ( $GR^{+/dim}$ ) parades för att skapa homozygota  $GR^{dim/dim}$  möss. För att bekräfta frånvaron av GRE-beroende transaktivering hos de muterade mössen analyserades induktion av GRE-beroende transkription med hjälp av dexametason i fibroblaster ifrån "wild type" respektive  $GR^{dim}$  möss. I "wild type" cellerna inducerade dexametason en tydlig transaktivering jämfört med  $GR^{dim}$  cellerna, hos vilka dexametason endast gav upphov till en minimal transkription av GRE-beroende gener. Utifrån de här resultaten drog författarna slutsatsen att transaktivering av GRE-beroende gener förhindrats i de muterade mössen. De homozygota  $GR^{dim/dim}$  mössen uppvisade ingen lungatelektas eller ökad dödlighet tillskillnad ifrån  $GR^{-/-}$  möss, GR-dimerisering och bindning till DNA är alltså inte nödvändigt för  $GR^{dim/dim}$  mössens överlevnad. Forskarna konkluderade att  $GR^{dim}$  möss skulle kunna användas för att vidare utforska glukokortikoidernas molekylära mekanismer och fysiologiska roll liksom för att undersöka alternativa behandlingsmetoder.

### *Non-genomic pathway*

Mekanismerna bakom glukokortikoidernas icke-nukleära effekter (non-genomic actions) är ännu inte helt kartlagda men vissa grundläggande mekanismer har identifierats (Alangari, 2010). Enligt en review av Buttgerit & Scheffold (2002) diskuteras för nuvarande tre mekanismer; 1. Icke-nukleära (non-genomic) effekter medierade genom interaktion med GR i cytosolen, 2. Icke-specifikt interaktion mellan glukokortikoider och cellmembranet, 3. Specifik interaktion med membranbundna GR. Huruvida glukokortikoidernas icke-nukleära effekter är terapeutisk relevanta eller inte är ännu oklart (Buttgerit & Scheffold, 2002).

## **Glukokortikoider som läkemedel**

Idag finns fyra olika syntetiska glukokortikoidderivat godkända för veterinärt bruk i Sverige; Dexametason, predniloson, hydrokortison och betametason (Läkemedelsindustriföreningens Service AB). I tabellen beskrivs samtliga preparat med avseende på glukokortikoidderivat, djurslag, administrationssätt och indikation(er).

*Tabell 1. Godkända glukokortikoidpreparat i Sverige enligt Läkemedelsindustriföreningens Service AB (LIF). Sökning gjordes på fass.se/djur., sökord som användes var "Glukokortikoider" samt "Kortikosteroider". Information om respektive läkemedel i tabellen inkluderar; Preparatnamn, glukokortikoidderivat, djurslag, administrationssätt samt indikation(er)*

<b>Preparatnamn</b>	<b>Glukokortikoidderivat</b>	<b>Djurslag</b>	<b>Administrationssätt</b>	<b>Indikation(er)</b>
<b>Dexaject</b>	Dexametason	Hund, häst, katt, nötkreatur och svin	Häst: Intravenöst eller intramuskulärt Hund, katt, nötkreatur, svin: Intramuskulärt	Samtliga djurslag: Behandling av inflammatoriska eller allergiska sjukdomar  Nötkreatur: Igångsättning av kalvning.  Behandling av primär ketos (acetonemi).

				Häst: Behandling av artrit, bursit eller senskideinflammation.
<b>Dexadreson®vet</b>	Dexametason	Hund, häst, katt, nötkreatur och svin	Intramuskulärt eller långsamt intravenöst	Behandling av inflammatoriska, allergiska tillstånd samt tillstånd där glukokortikoidernas glukoneogenetiska effekter eftersträvas.
<b>Aurizon vet.</b>	Dexametason (tillsammans med en antibakteriell och en antimykotisk substans)	Hund	Örondroppar	Extern otit
<b>Dermipred vet.</b>	Prednisolon	Hund	Oral tablett	Symptomatisk eller understödjande behandling av inflammatorisk eller immunmedierad dermatit hos hund
<b>Prednicorton vet.</b>	Prednisolon	Hund och katt	Oral tablett	Symptomatisk eller kompletterande behandling av inflammatoriska eller immunmedierade sjukdomar
<b>Equisolon</b>	Prednisolon	Häst	Oralt pulver	Lindring av inflammatoriska och kliniska parametrar associerade med RAO (recurrent airway obstruction)
<b>Canaural®vet</b>	Prednisolon (tillsammans med antibakteriella och antimykotiska substanser)	Hund och katt	Örondroppar	Extern otit
<b>Saniotic vet</b>	Predniloson (tillsammans med antibakteriella och antimykotiska substanser)	Hund och katt	Örondroppar/kutan suspension	Extern otit och ytliga hudinfektioner
<b>Surolan vet.</b>	Predniloson (tillsammans med en antibakteriell substans, en antimykotisk substans samt en substans mot öronskabb).	Hund och katt	Örondroppar/kutan suspension	Extern otit, dermatit och dermatomykoser
<b>Cortavance</b>	Hydrokortison	Hund	Kutan spray	Symptomatisk behandling av inflammatoriska och

				kliande dermatoser hos hund
<b>Locoid®</b>	Hydrokortison	Sällskapsdjur	Kräm, kutan lösning och salva	Indikation saknas i Fass vet.
<b>Easotic</b>	Hydrokortison (tillsammans med en antibakteriell och en antimykotisk substans)	Hund	Örondroppar	Extern otit
<b>Isaderm vet</b>	Betametason	Hund	Gel för topikalt bruk	Lokal behandling av måttligt akut vätskande dermatit
<b>Otomax® vet.</b>	Betametason (tillsammans med en antibakteriell och en antimykotisk substans)	Hund	Örondroppar	Akut extern otit
<b>OSURNIA</b>	Betametason (tillsammans med en antibakteriell och en antimykotisk substans)	Hund	Örongel	Akut extern otit

### **Biverkningar**

Eftersom glukokortikoider utövar många olika effekter på kroppen kan de även ge upphov till kraftiga biverkningar (Reichardt & Schütz, 1998). Många, om inte alla, biverkningar som ses vid behandling med syntetiska glukokortikoider kan betraktas som versioner av endogena glukokortikoiders normala fysiologiska effekter som förstärkts eller förlängts. En glukokortikoidbehandling begränsas till stor del av uppkomsten av biverkningar samt desensitisering av GR (glukokortikoidresistans) (Sundahl *et al.*, 2015) och framställningen av läkemedel som verkar selektivt på olika GR-mekanismer och endast ger upphov till eftersträvade effekter är därför mycket önskvärdt (Reichardt & Schütz, 1998). Biverkningar som beskrivits under/efter glukokortikoidbehandlingar är; Polyfagi, beteendeförändringar, muskelsvaghet och muskelatrofi, gastrointestinala ulcerationer och intestinal perforation, pankreatit, hyperlipemi, förstörd lever (till följd av glykogen-ackumulering), glukosintolerans, insulinresistans och diabetes mellitus, binjureatrofi och iatrogen hypoadrenokorticism (Addisons sjukdom), iatrogen hyperadrenokorticism (Cushings sjukdom), minskade plasmakoncentrationer av tyroideahormon, polyuri och polydipsi, hypertension, försämrad sårhäkning, hudatrofi, pigmentförändringar, osteoporos, minskad tillväxt, fosterskador och abort (Fittschen & Bellamy, 1984; Behrend & Kempainen, 1997; Kimura & Doi, 1999; Pereira *et al.*, 2001; Grose *et al.*, 2002; Notari & Mills, 2011; Boothe & Mealey, 2012). Immunosuppression kan också betraktas som en biverkning om glukokortikoidpreparatet används för att åstadkomma annat än en antiinflammatorisk effekt (Behrend & Kempainen, 1997).



## Selektiva glukokortikoidreceptoragonister och mediatorer

Under årtionden har hypotesen varit att glukokortikoidernas biverkningar induceras via en dimer-medierad transaktivering av gener involverade i metabola processer (metabolism av kolhydrater, protein/muskler, lipider samt ben) medan de eftersträvade farmakologiska effekterna istället medieras via en monomer-medierad transrepression av inflammatoriska gener. Hypotesen bildades framförallt efter studier på GR<sup>dim</sup> möss, hos vilka dimer-medierad transaktivering inhiberats av en mutation i glukokortikoidreceptorn (Sundahl *et al.*, 2015; De Bosscher & Haegeman, 2009).

En studie av Reichardt *et al.* (2001) undersökte huruvida en antiinflammatorisk effekt kan uppnås vid glukokortikoidbehandling av GR<sup>dim</sup> möss. GR<sup>dim</sup> mössen jämfördes med "wild-type" möss. Hos både "wild-type" och GR<sup>dim</sup> mössen applicerades forbolestrar (PMA) topiskt, PMA används ofta som en modell för akut inflammation. Efter appliceringen inducerades ett inflammatoriskt svar snabbt hos båda genotyperna och topikal behandling med dexametason inhiberade det inflammatoriska svaret nästan totalt hos både "wild type" och GR<sup>dim</sup> möss. PMA applicerades även på öronen för att undersöka dexametasons effekt på svullnad hos mössen. Både "wild-type" och GR<sup>dim</sup> mössen uppvisade kraftig ödembildning, efter behandling med dexametason minskade svullnaden, även om behandlingen var något mindre effektiv hos GR<sup>dim</sup> mössen än hos "wild-type" mössen. En PMA-inducerad lokal inflammation av huden gav även upphov till ett systemiskt respons, vilket kunde ses genom höga IL-6 nivåer i serum. Sekretionen av IL-6 förhindrades helt av behandling med glukokortikoider hos både "wild-type" och GR<sup>dim</sup> möss. Resultaten av studien visar på att GR<sup>dim</sup> möss får en antiinflammatorisk effekt jämförbar med den hos "wild-type" möss, vilket innebär att glukokortikoidernas antiinflammatoriska egenskaper framförallt verkar via transrepression.

I samma studie av Reichardt *et al.* (2001) injicerades även lipopolysackarider (LPS) i "wild-type" och GR<sup>dim</sup> möss för att imitera en bakteriell infektion med påföljande systemisk inflammation. Svaret, typiskt för endotoxisk chock, följdes via sekretionen av cytokinen "tumour necrosis factor- $\alpha$ " (TNF- $\alpha$ ) i blodet. TNF- $\alpha$  ökade kraftigt 1 timme efter LPS-injektion hos både "wild-type" och GR<sup>dim</sup> möss och återvände till normala nivåer 3 timmar efter injektion hos båda mössen. Både TNF- $\alpha$  och kortikosteronnivåerna följde liknande mönster i möss av båda genotyper. Resultaten visar på att en GR-dimerisering inte behövs för att endogena glukokortikoider ska kunna avsluta ett inflammatoriskt svar som inducerats med en LPS-injektion.

Baserat på hypotesen att transaktivering är mekanismen bakom glukokortikoidens många biverkningar har forskning kring selektiva glukokortikoidreceptoragonister ("selective glucocorticoid receptor agonists", SEGRAs) och senare selektiva glukokortikoidreceptormediatorer ("selective glucocorticoid receptor mediators", SERGMs) som ger transrepression, och liten till ingen transaktivering, legat i fokus. Termen "SEGRAs" var den första att användas, de tidiga substanserna skapades utifrån ett steroidskelett (t.ex. RU 24858) och gav fortfarande upphov till en märkbar transaktivering (mellan 9% till 35% av transaktiveringsaktiviteten hos dexametason). Termen "SEGRMs" började användas för att särskilja de senare, icke-steroida, substanserna ifrån de äldre varianterna. En av de första SERGMs som upptäcktes var "Compound A", en substans som inte ger någon GRE-beroende

transaktivering. Sedan dess har flera SEGRMs, inklusive ZK 216348, skapats (Sundahl *et al.*, 2015).

En studie av Schäcke *et al.* (2004) undersökte ZK 216348 i en musmodell med hudinflammation. Inflammationen inducerades med hjälp av krotonolja, som är en blandning av flera forbolestrar (PMA). Resultaten visade att den antiinflammatoriska effekten av ZK 216348 var jämförbar med prednison vid både systemisk och topikal administrering. Biverkningsprofilen undersöktes genom ett flertal olika tester. Nakenråttor behandlades med prednison eller ZK 216348 topiskt en gång om dagen under 3 veckor (med doser motsvarande varandra vad gäller antiinflammatorisk effekt). ZK 216348 påverkan på hudtjockleken och hudhållfastheten var avsevärt mindre än den av prednison. Efter topikal behandling med ZK 216348 under 3 veckor sågs även mindre systemiska effekter såsom nedsatt kroppsvikt samt reducerad binjurevikt jämfört med prednison. ZK 216348 inducerade också minskad påverkan på tymus och mjälte (färre biverkningar associerade till immuncellsapoptos) jämfört med prednison. I studien behandlades råttor även subkutant med prednison respektive ZK 216348, prednison gav upphov till en dosberoende ökning i blodglukoshalt jämfört med ZK 216348 där ingen signifikant ökning i blodglukos kunde ses (även vid högsta dosen på 30mg/kg kroppsvikt). Suppression av HPA-axeln (se Figur 2.) var den enda biverkning som inte påverkades positivt med ZK 216348 jämfört med prednison. Författarna konkluderade att ZK 216348 ger upphov till motsvarande antiinflammatoriska effekter jämfört med klassiska glukokortikoider samtidigt som den ger färre biverkningar. ZK 216348 representerar därigenom en generation av GR-ligander med ett stort kliniskt värde samtidigt som de kan vara verktyg för att vidare förstå uppkomsten av bieffekter vid en glukokortikoidbehandling.

Nya studier gjorda på GR<sup>dim</sup> möss har dock visat att glukokortikoidernas transaktiverande egenskaper också bidrar till dess antiinflammatoriska effekter (Vandevyver *et al.*, 2013). En studie av Tuckermann *et al.* (2007) jämförde intraperitoneal dexametasonbehandling av allergisk inflammation hos GR<sup>dim</sup> möss respektive "wild type" möss. Dag 1 inducerades en kontaktallergi genom exponering för 2,4-dinitrofluorobenzon (DNFB) alternativt oxazolon. Mössens magar rakades och DNFB eller oxazolon applicerades på huden. Dag 5 behandlades mössen intraperitonealt med dexametason (25µg) en timme innan de återigen utsattes för DNFB alternativt oxazolon. Kontaktallergin inducerades antingen på vänstra örats dorsala sida eller vänster trampdyna. Dexametason gavs även i dricksvattnet under 24 timmar (20mg/l) för att upprätthålla en farmakologisk koncentration i mössen. Örats eller fotens tjocklek mättes före och 24 timmar efter återintroduktion till DNFB eller oxazolon. Öron som utsatts för oxazolon undersöktes även histologiskt efter behandling. Resultatet visade att det inflammatoriska svaret knappt påverkades av dexametasonbehandlingen hos GR<sup>dim</sup> mössen, jämfört med "wild type" mössen där det inflammatoriska svaret dämpades av dexametasonbehandlingen. Författarna kom utifrån resultaten fram till att en GR-dimerisering är nödvändig för att dämpa en allergisk inflammation.

En annan studie av Kleiman *et al.* 2011 undersökte om GR-dimerisering är nödvändigt för överlevnad i två olika modeller av sepsis. I studien undersöktes även påverkan på cytokinnivåer, makrofager ("bone marrow-derived macrophages", BMDMs) och kväveoxidnivåer vid

avsaknad av GR-dimerisering. Undersökningen utfördes på GR<sup>dim</sup> möss och "wild type" möss. I den första modellen inducerades sepsis genom intraperitoneal injektion av lipopolysackarider (LPS). 12 veckor gamla möss injicerades med en bolusdos LPS på 10mg/kg mellan klockan 8 och 10 och observerades i 48 eller 72 timmar efter första injektionen. I den andra modellen sövdes 12 veckor gamla möss varefter cecum lokaliserades, ligerades och punkterades en gång med en 0,8millimeters (20-gauge) nål ("cecal ligation and puncture", CLP). Resultaten visade att GR<sup>dim</sup> möss som utsatts för den andra sepsismodellen (CLP) uppvisade minskad överlevnad jämfört med "wild type" mössen. GR<sup>dim</sup> mössen var också väldigt känsliga för LPS-inducerad septisk chock. Författarna kom till slutsatsen av GR-dimerisering är nödvändigt för överlevnad i sepsis. Cytokinnivåer i serum efter LPS-injektion mättes med hjälp av ELISA eller "cytometric bead array" (CBA). Makrofager ifrån GR<sup>dim</sup> och "wild type" möss isolerades ifrån benmärgen och kultursattes ("bone marrow-derived macrophages", BMDMs). Makrofagerna undersöktes sedan med hjälp av elektronmikroskop, PCR och microarray analysis. Kväveoxidfrisättning är ett kännetecken på aktiverade makrofager under ett inflammatoriskt svar och kväveoxidnivåer mättes både i serum och makrofagkultur efter LPS-behandling. Resultaten visade att cytokiner såsom TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , IL-12p70 ökade respektive minskade i koncentration på samma sätt efter LPS-behandling i båda genotyper. Andra cytokiner såsom IL-1, IL-6 och IL-10 sågs dock i höga koncentrationer hos LPS-behandlade GR<sup>dim</sup> möss även efter 24 timmar jämfört med "wild type" mössen där samma cytokiner inte kunde detekteras alls efter 24 timmar. Koncentrationen av kväveoxid i serum var också signifikant förhöjt hos GR<sup>dim</sup> möss jämfört med "wild type" möss efter en LPS-behandling. Resultaten visar att vissa men inte alla inflammatoriska mediatorer påverkas annorlunda i GR<sup>dim</sup> möss jämfört med "wild type" efter en LPS injektion. BMDMs ifrån "wild type" och GR<sup>dim</sup> möss analyserades efter behandling med bara LPS eller LPS och dexametason. Både "wild type" och GR<sup>dim</sup> makrofager ändrade form efter LPS-behandling vilket tyder på en aktivering av cellerna. De morfologiska förändringarna motverkades till stor del hos "wild type" BMDMs genom behandling med dexametason jämfört med GR<sup>dim</sup> BMDMs som inte svarade alls på glukokortikoidbehandlingen. I studien mättes även kväveoxidkoncentrationen i cellkulturerna. Kväveoxidfrisättningen förhindrades effektivt genom dexametasonbehandling i "wild type" BMDMs men inte i GR<sup>dim</sup> BMDMs. Resultatet tyder på att GR<sup>dim</sup> makrofager inte svarar på en dexametasonbehandling. Sammanfattat visar studien att GR-dimerisering är nödvändigt för överlevnad i sepsis och att glukokortikoider, endogena liksom exogena, endast kan inhibera/avsluta en del av det LPS-inducerade inflammatoriska svaret vid avsaknad av GR-dimerisering.

I samma studie av Kleiman et al. 2011 genomfördes även en "genome-wide mRNA expression analysis" för att avgöra om det fenotypiska svaret på glukokortikoider hos "wild type" och GR<sup>dim</sup> möss även reflekterades i förändring av genuttryck. BMDMs ifrån "wild-type" och GR<sup>dim</sup> möss behandlades under 2 timmar med antingen LPS eller dexametason, eller en kombination av de två. mRNA-uttryck analyserades sedan genom microarray. Hos "wild-type" BMDMs identifierades 162 gener vars uttryck påverkas av behandling med dexametason. 45 av de 162 generna reglerades på liknande sätt även hos GR<sup>dim</sup> BMDMs. Ett stort antal gener (117 stycken) i LPS-aktiverade BMDMs regleras alltså bara av dexametason hos "wild-type" makrofager och inte i GR<sup>dim</sup> makrofager. Bland de gener som inte inducerades av glukokortikoider i GR<sup>dim</sup> makrofager hittades sådana som kodar för antiinflammatoriska faktorer och bland de gener som

inte inhiberades av glukokortikoider i GR<sup>dim</sup> celler hittades sådana som kodar för inflammatoriska cytokiner (IL-1, IL-6).

## DISKUSSION

Glukokortikoidernas terapeutiska effekter har länge varit kända men förståelse för mekanismerna bakom de antiinflammatoriska effekterna och medföljande bieffekter är fortfarande ny och/eller ännu inte helt kartlagd kunskap (Vandevyver *et al.*, 2013). Nyckeln till att hitta alternativa läkemedel med färre biverkningar ligger framförallt i förståelsen för glukokortikoidernas molekylära mekanismer. Huruvida selektiva glukokortikoidreceptor-agonister skulle kunna vara en sådan typ av alternativa läkemedel kräver vidare forskning för att kartlägga de exakta mekanismerna bakom glukokortikoidernas antiinflammatoriska effekt (Sundahl *et al.*, 2015; De Bosscher & Haegeman, 2008).

Tidiga *in vitro* studier på GR<sup>dim</sup> celler visade på att den muterade glukokortikoidreceptorn saknade en transaktiveringmekanism har fortfarande en fungerande transrepressionskapacitet. Utifrån de resultaten bildades uppfattningen att GR-dimerisering ger transaktivering och GR-monomerisering ger transrepression (Sundahl *et al.*, 2015). Andra studier har visat att relationen mellan GR-dimerisering/-monomerisering och transaktivering respektive transrepression är mer komplex än så (Surjit *et al.* 2011; Presman *et al.* 2014; Vandevyver *et al.* 2013; Sundahl *et al.* 2015). En transaktivering kan både komma av interaktionen mellan en GR-dimer och GRE samt av interaktionen mellan en GR-monomer och transkriptionsfaktorer. På liknande sätt kan transrepression både kunna komma av interaktion mellan en GR-dimer och nGRE samt av interaktionen mellan en GR-monomer och transkriptionsfaktorer (Surjit *et al.* 2011; Presman *et al.* 2014; Vandevyver *et al.*, 2013). Forskning som pågått inom ämnet har alltså visat att GR-dimerisering inte endast ger transaktivering och GR-monomerisering inte uteslutande ger transrepression.

Många av de studier som gjorts för att förstå glukokortikoidens mekanismer är gjorda på GR<sup>dim</sup> celler/möss. Ny forskning har dock visat att punktmutationen hos GR<sup>dim</sup> möss inte helt förhindrar GR-dimerisering såsom tidigare studier indikerat (Presman *et al.*, 2014; Jewell *et al.*, 2012). Resultat ifrån studier på GR<sup>dim</sup> möss bör därför tolkas med försiktighet då de inte ger en helt korrekt bild av GRs transaktiverings- och transrepressionsmekanismer. Forskning baserad på selektiva glukokortikoidmediatorer (SEGRMs) på ”wild type” GR möss skulle istället kunna vara ett alternativ för en mer exakt förståelse för GRs olika mekanismer. Ett sådant studieupplägg på agonister som huvudsakligen ger transrepression skulle kunna kompletteras med studier på agonister som huvudsakligen ger transaktivering (Sundahl *et al.*, 2015; Vandevyver *et al.*, 2013).

Hypotesen att dimer-medierad transaktivering ligger bakom glukokortikoidernas många bieffekter och monomer-medierad transrepression bakom glukokortikoidernas antiinflammatoriska effekt har bekräftats i studier såsom den av Reichardt *et al.* (2001) och Schäcke *et al.* (2004). Det senaste årtiondet har dock andra studier, inklusive den av Tuckermann *et al.* (2007) och Kleiman *et al.* (2011), visat på att transaktivering är en viktig mekanism bakom glukokortikoidernas antiinflammatoriska effekt (Vandevyver *et al.*, 2013, Sundahl *et al.*, 2015).

Både Reichardt *et al.* (2001) och Schäcke *et al.* (2004) undersökte behandling av PMA-inducerad hudinflammation utan GR-dimerisering. Reichardt *et al.* (2001) undersökte en dexametasonbehandling på GR<sup>dim</sup> möss och Schäcke *et al.* (2004) undersökte en behandling med en SEGRM (ZK 216348) på möss utan receptormutationen. Båda studierna kom fram till att en GRE-medierad transaktivering inte är nödvändigt för en antiinflammatorisk effekt, SEGRMs skulle alltså kunna vara ett potentiellt behandlingsalternativ för hudinflammation. Reichardt *et al.* (2001) undersökte även en modell av sepsis på GR<sup>dim</sup> respektive "wild type" möss och kom fram till att ingen GR-dimerisering behövdes för att avsluta ett inflammatoriskt svar. En brist i tidigare nämnda studie var dock att endast cytokinen TNF- $\alpha$  mättes för att följa det inflammatoriska svaret. Studien av Kleimann *et al.* (2011) undersökte det inflammatoriska svaret i samma typ av modell som Reichardt *et al.* (2001) men tog hänsyn till ett flertal cytokiner i det inflammatoriska svaret. Resultaten ifrån studien av Kleimann *et al.* (2011) visade att vissa inflammatoriska cytokiner, såsom TNF- $\alpha$ , ökade och minskade på liknande sätt i båda genotyper men att andra inflammatoriska cytokiner förblev förhöjda under en längre tid i GR<sup>dim</sup> möss jämfört med "wild type" möss. Den mer omfattande studien av Kleimann *et al.* (2011) visar på att GR-dimerisering är nödvändigt för överlevnad i sepsis. Studien av Tuckermann *et al.* (2007) visade också på att en GR-dimerisering är nödvändig vid behandling av allergisk inflammation. De samlade resultaten av studierna av Kleiman *et al.* (2011) och Tuckermann *et al.* (2007) på GR<sup>dim</sup> möss visar på att GR-dimerisering är nödvändigt för att få en antiinflammatorisk effekt. Det innebär att en SEGRM troligen inte är ett bra alternativ för behandling av sepsis eller allergisk inflammation eftersom GR-dimerisering inte uppnås med ett sådant preparat.

Trots att många forskare har försökt att utveckla SEGRAs/SEGRMs, i hopp om att skapa ett läkemedel med färre biverkningar än traditionella glukokortikoider, har hittills endast två substanser kommit så långt som till kliniska studier. Att så få SEGRAs/SEGRMs tagit sig till kliniska studier beror troligen på den kontinuerliga upptäckten av nya GRE-beroende gener med antiinflammatoriska egenskaper, vilket visar på att transaktiveringspotentialen hos GR är oundgänglig för att behandla inflammation och ifrågasätter nyttan med ett preparat som inte ger upphov till en GRE-medierad transaktivering (Sundahl *et al.*, 2015; De Bosscher and Haegeman 2008).

Sammanfattningsvis kan sägas att glukokortikoiders molekylära mekanismer är mer komplexa och överlappande än vad tidigare forskning indikerat, idag är det klart att GR-dimerisering inte är detsamma som transaktivering och att transaktivering inte enbart är en mekanism som ger upphov till biverkningar. Transaktivering har tvärt om visat sig vara en viktig komponent i glukokortikoidens antiinflammatoriska effekter vilket talar emot SEGRAs/SEGRMs som framtida läkemedel för behandling av inflammation. Forskning på selektiva glukokortikoidreceptoragonister, som uteslutande ger transrepression eller transaktivering, skulle dock kunna ge en ökad förståelse för glukokortikoidernas molekylära mekanismer vilket i sin tur kan komma att leda fram till möjliga behandlingsalternativ.

## LITTERATURFÖRTECKNING

Alangari, A.A., (2010). Genomic and non-genomic actions of glucocorticoids in asthma. *Annals of Thoracic Medicine*, 5: 133-139.

Barnes, P.J. (1998). Anti-inflammatory actions of glucocorticoids: molecular mechanisms. *Clinical Science*, 94: 557-572.

Behrend E.N. & Kempainen R.J. (1997). Glucocorticoid Therapy: Pharmacology, Indications, and Complications. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 27: 187-213.

Boothe, D.M. & Mealey, K.A. (2012). Glucocorticoids and Mineralcorticoids. I: Boothe, D.M. (red.), *Small Animal Clinical Pharmacology & Therapeutics*. 2 uppl., St. Louis, Missouri: ELSEVIER SAUNDERS, ss. 1119-1149.

Busillo, J.M. & Cidlowski, J.A. (2013). The five Rs of glucocorticoid action during inflammation: ready, reinforce, repress, resolve, and restore. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, 24: 109-119.

Buttgereit, F. & Scheffold, A. (2002). Rapid glucocorticoid effects on immune cells. *Steroids*, 67: 529-534.

Clark, A.R., Belvisi, M.G. (2012). Maps and legends: The quest for dissociated ligands of the glucocorticoid receptor. *Pharmacology & Therapeutics*, 134: 54-67.

Cole, T.J., Blendy, J.A., Monaghan, A.P., Kriegstein, K., Schmid, W., Aguzzi, A., Fantuzzi, G., Hummler, E. Unsicker, K. & Schütz, G. (1995). Targeted disruption of the glucocorticoid receptor gene blocks adrenergic chromaffin cell development and severely retards lung maturation. *Genes & Development*, 9: 1608-1621.

Coutinho, A.E., & Chapman, K.E. (2011). The anti-inflammatory and immunosuppressive effects of glucocorticoids, recent developments and mechanistic insights. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 335: 2-13.

De Bosscher, K. & Haegman, G. (2009). Minireview: Latest Perspectives on Antiinflammatory Actions of Glucocorticoids. *Molecular Endocrinology*, 23: 281-291.

Dreschel, N.A., & Granger, D.A., (2005). Physiological and behavioral reactivity to stress in thunderstorm-phobic dogs and their caregivers. *Applied Animal Behaviour Science*, 95: 153-168.

Fittschen, C. & Bellamy, J.E.C. (1984). Prednisone-Induced Morphologic and Chemical Changes in the Liver of Dogs. *Veterinary Pathology*, 21: 399-406.

Grose, R., Werner, S., Kessler, D., Tuckermann, J., Huggel, K., Durka, S., Reichardt, H.M. & Werner, S. (2002). A role for endogenous glucocorticoids in wound repair. *EMBO reports*, 3: 575-582.

- Haller, J., Mikics, É. & Makara G.B. (2008). The effects of non-genomic glucocorticoid mechanisms on bodily functions and the central neural system. A critical evaluation of findings. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 29: 273-291.
- Jewell, C.M., Scoltock, A.B., Hamel, B.L., Yudt, M.R. & Cidlowski, J.A. (2012). Complex Human Glucocorticoid Receptor dim Mutations Define Glucocorticoid Induced Apoptotic Resistance in Bone Cells. *Molecular Endocrinology*, 26: 244–256.
- Kalman, B.A. & Spencer, R.L. (2002). Rapid Corticosteroid-Dependent Regulation of Mineralocorticoid Receptor Protein Expression in Rat Brain. *Endocrinology*, 143: 4184–4195.
- Kimura, T. & Doi, K. (1999). Dorsal skin reactions of hairless dogs to topical treatment with corticosteroids. *Toxicologic Pathology*, 27: 528-535.
- Kleiman, A., Hübner, S., Rodriguez Parkitna, J.M., Neumann, A., Hofer, S., Weigand, M.A., Bauer, M., Schmid, W., Schütz, G., Libert, H., Reichardt, H.M. & Tuckermann, J.P. (2011). Glucocorticoid receptor dimerization is required for survival in septic shock via suppression of interleukin-1 in macrophages. *The FASEB Journal*, 26: 722-729.
- Läkemedelsindustriföreningens Service AB. (u.å.). FASS Djurläkemedel startsida. Tillgänglig: <https://www.fass.se/LIF/startpage?userType=1> [2018-03-28]
- Notari, L. & Mills, D. (2011). Possible behavioral effects of exogenous corticosteroids on dog behavior: a preliminary investigation. *Journal of Veterinary Behavior: Clinical Applications and Research*, 6: 321-327.
- Payne A.H., & Hales D.B. (2004). Overview of Steroidogenic Enzymes in the Pathway from Cholesterol to Active Steroid Hormones. *Endocrine Reviews*, 25: 947–970.
- Pereira, R.M.R., Delany, A.M. & Canalis, E. (2001). Cortisol inhibits the differentiation and apoptosis of osteoblasts in culture. *Bone*, 28: 484-490.
- Presman, D.M., Ogara, M.F., Stortz, M., Alvarez, L.D., Pooley, J.R., Schiltz, R.L., Grøntved, L., Johnson, T.A., Mittelstadt, P.R., Ashwell, J.D., Ganesan, S., Burton, G., Levi, V., Hager, G.L. & Pecci, A. (2014). Live Cell Imaging Unveils Multiple Domain Requirements for In Vivo Dimerization of the Glucocorticoid Receptor. *PLOS Biology*. Doi: 10.1371/journal.pbio.1001813. 2018-03-24
- Prigent, H., Maxime, V. & Annane, D. (2004). Clinical review: Corticotherapy in sepsis. *Critical care*, 8: 122-129.
- Rang, H.P., Ritter, J.M., Flower, R.J., Henderson, G. (2016). *RANG & DALE'S Pharmacology*. 8. uppl. London: ELSEVIER CHURCHILL LIVINGSTONE.
- Rashid, S. & Lewis, G.F. (2005). The mechanisms of differential glucocorticoid and mineralocorticoid action in the brain and peripheral tissues. *Clinical Biochemistry*, 38: 401-409.

- Reichardt, H.M. & Schütz, G. (1998). Glucocorticoid signalling-multiple variations of a common theme. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 146: 1-6.
- Reichardt, H.M., Tuckermann, J.P., Göttlicher, M., Vujic, M., Weih, F., Angel, P., Herrlick, P. & Schütz, G. (2001). Repression of inflammatory responses in the absence of DNA binding by the glucocorticoid receptor. *The EMBO Journal*, 20: 7168-7173.
- Rhen, T. & Cidlowski, J.A. (2005). Antiinflammatory Action of Glucocorticoids — New Mechanisms for Old Drugs. *The NEW ENGLAND JOURNAL of MEDICIN*, 353: 1711-1723.
- Rijnberk AD., Kooistra H.S. (2010). Clinical Endocrinology of Dogs and Cats. 2 uppl. Hannover: Schlütersche Verlagsgesellschaft mbH & Co. KG.
- Sanderson, J.T. (2006). The Steroid Hormone Biosynthesis Pathway as a Target for Endocrine-Disrupting Chemicals. *Toxicological Sciences*, 94: 3–21.
- Schäcke, H., Schottelius, A., Döcke, W.D., Strehlke, P., Jaroch, S., Schmees, N., Rehwinkel, H., Hennekes, H. & Asadullah, K. (2004). Dissociation of transactivation from transrepression by a selective glucocorticoid receptor agonist leads to separation of therapeutic effects from side effects. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101: 227-232.
- Sjaastad, Ø.V., Sand, O., Hove, K. (2010). *Physiology of Domestic Animals*. 2. uppl. Oslo: Scandinavian Veterinary Press.
- Sundahl, N., Bridelance, J., Libert, C., De Bosscher, K. & Beck, I.M. (2015). Selective glucocorticoid receptor modulation: New directions with non-steroidal scaffolds. *Pharmacology & Therapeutics*, 152: 28-41.
- Surjit, M., Ganti, K.P., Mukherji, A., Ye, T., Hua, G., Metzger, D., Li, M. & Chambon, P. (2011). Widespread Negative Response Elements Mediate Direct Repression by Agonist-Liganded Glucocorticoid Receptor. *Cell*, 145: 224-241.
- Tuckermann, J.P., Kleiman, A., Moriggl, R., Spanbroek, R., Neumann, A., Illing, A., Clausen, B.E., Stride, B., Förster, I., Habenicht, A.R.J, Reichardt, H.M., Tronche, F., Schmid, W. & Schütz, G. (2007). Macrophages and neutrophils are the targets for immune suppression by glucocorticoids in contact allergy. *The Journal of Clinical Investigation*, 117: 1381-1390.
- Vandevyver, S., Dejager, L. & Libert, L. (2012). On the Trail of the Glucocorticoid Receptor: Into the Nucleus and Back. *Traffic*, 13: 364-374.
- Vandevyver, S., Dejager, L., Tuckermann, J. & Libert, C. (2013). New Insights into the Anti-inflammatory Mechanisms of Glucocorticoids: An Emerging Role for Glucocorticoid-Receptor-Mediated Transactivation. *Endocrinology*, 154: 993–1007.