

## Rola hormonów płciowych w stwardnieniu rozsianym

### The role of sex hormones in multiple sclerosis

<sup>1</sup> Klinika Neurologii i Udarów Mózgu, Uniwersytecki Szpital Kliniczny im. Wojskowej Akademii Medycznej – Centralny Szpital Weteranów w Łodzi, Uniwersytet Medyczny w Łodzi, Polska

<sup>2</sup> Klinika Neurologii, Uniwersytecki Szpital Kliniczny nr 1 im. N. Barlickiego w Łodzi, Uniwersytet Medyczny w Łodzi, Polska

Adres do korespondencji: Barbara Anna Lewandowska, Klinika Neurologii i Udarów Mózgu, Uniwersytecki Szpital Kliniczny im. Wojskowej Akademii Medycznej – Centralny Szpital Weteranów w Łodzi, Uniwersytet Medyczny w Łodzi, ul. Żeromskiego 113, 90-549 Łódź, e-mail: basia.lewandowska@onet.pl

#### ORCID iDs

1. Barbara Anna Lewandowska  <https://orcid.org/0000-0001-7188-0680>

2. Bartosz Bielecki  <https://orcid.org/0000-0002-8457-0910>

#### Streszczenie

Różnice biologiczne związane z dymorfizmem płciowym wpływają na wiele aspektów zdrowotnych, do których należą podatność na choroby, ich przebieg i rokowanie. Stwierdzono istotne różnice w częstości występowania i ciężkości przebiegu schorzeń neurologicznych, zwłaszcza o podłożu autoimmunologicznym, u kobiet i mężczyzn. Przyczyny obserwowanych rozbieżności są złożone, ale wyniki badań jednoznacznie wskazują na kluczową rolę hormonów płciowych. Wiadomo, że odpowiadają one za różnice w budowie ciała i narządów płciowych oraz zachowania seksualne kobiet i mężczyzn. Jednak uzyskane ostatnio dane kierują uwagę naukowców na wpływ hormonów płciowych również na funkcję układów odpornościowego i nerwowego, w szczególności mózgu i rdzenia kręgowego. Stwardnienie rozsiane to przewlekła choroba ośrodkowego układu nerwowego, która ponad dwukrotnie częściej dotyka kobiety niż mężczyzn. Etiopatogeneza choroby jest bardzo złożona i nie w pełni poznana, istotną rolę odgrywają w niej czynniki genetyczne i środowiskowe. W patologii stwardnienia rozsianego najważniejsze są trzy główne komponenty: zapalenie, demielinizacja i neurodegeneracja. Dotychczasowe badania wykazały znaczący wpływ hormonów płciowych męskich i żeńskich na każdy z nich. W badaniach – zarówno klinicznych, jak i eksperymentalnych – stwierdzono, że hormony płciowe mają silne działanie immunomodulujące, a zarazem neuroprotektoryjne i neuroregeneracyjne. Ważna wydaje się zwłaszcza rola w regeneracji mieliny. Ostatnie badania nad rolą hormonów płciowych w stwardnieniu rozsianym umożliwiły lepsze poznanie mechanizmów leżących u podstaw choroby. Dały także nadzieję na włączenie hormonów płciowych do zestawu narzędzi diagnostycznych (jako biomarkerów progresji i odpowiedzi na leczenie), a przede wszystkim – na wprowadzenie nowych, przełomowych form terapii.

**Słowa kluczowe:** neurodegeneracja, immunomodulacja, stwardnienie rozsiane, hormony płciowe, neuroregeneracja

#### Abstract

Biological differences associated with sexual dimorphism have an impact on many aspects of health, including disease susceptibility, course and prognosis. Significant differences in the incidence and severity of neurological diseases, especially those of autoimmune origin, were found between women and men. Although the reasons for the observed discrepancies are complex, research indicates the key role of sex hormones, which are known to be responsible for the differences in body structure, genitals and sexual behaviour in women and men. Recent data have drawn attention to their impact on the function of the immune and nervous systems, the brain and the spinal cord in particular. Multiple sclerosis is a chronic disease of the central nervous system that affects more than twice as many women as men. The etiopathogenesis of the disease is complex, with genetic and environmental factors playing an important role. There are three main components in the pathology of multiple sclerosis: inflammation, demyelination and neurodegeneration. Studies conducted so far have shown a significant influence of sex hormones, both male and female, on each of these elements. It has been shown in both clinical and experimental studies that sex hormones have not only a strong immunomodulatory, but also neuroprotective and neuroregenerative effect. Recent research on the role of sex hormones in multiple sclerosis has led to a better understanding of the mechanisms underlying the development of this disorder. They also gave hope for the introduction of sex hormones as diagnostic tools, i.e. biomarkers of progression and response to treatment, but above all, as breakthrough therapies.

**Keywords:** neurodegeneration, immunomodulation, multiple sclerosis, sex hormones, neuroregeneration

## WSTĘP

**S**twardnienie rozsiane (*multiple sclerosis*, MS) jest postępującym schorzeniem ośrodkowego układu nerwowego (OUN) o podłożu zapalnym. Dotyka głównie młodych dorosłych i może prowadzić do trwałej niepełnosprawności. Obraz patofizjologiczny choroby jest złożony – oprócz zapalenia, prawdopodobnie na tle autoimmunologicznym, składają się na niego uszkodzenie osłonek mieliniowych i postępująca utrata aksonów. Wyróżnia się postać rzutowo-remisyjną (*relapsing-remitting MS*, RRMS), pierwotnie postępującą (*primary progressive MS*, PPMS) i wtórnie postępującą (*secondary progressive MS*, SPMS). Postuluje się, że czynniki środowiskowe (np. przebyte infekcje) wraz z predyspozycją genetyczną odgrywają ważną rolę w przebiegu choroby (Tintoré i Arrambide, 2009). W MS, podobnie jak w innych chorobach o podłożu immunologicznym (toczniu układowym, chorobie Leśniowskiego–Crohna czy reumatoidalnym zapaleniu stawów) obserwuje się bardzo wyraźny dymorfizm płciowy (Fletcher *et al.*, 2010). Dlatego od wielu lat trwają badania doświadczalne i kliniczne nad możliwym wpływem zarówno żeńskich, jak i męskich hormonów płciowych na przebieg MS.

## PŁEĆ A PRZEBIEG STWARDNIENIA ROZSIANEGO

O przebiegu MS decydują liczne czynniki. Lepszym rokowaniem i dłuższym czasem do nieodwracalnego pogorszenia sprawności ruchowej cechują się pacjenci z RRMS. Kolejnymi czynnikami poprawiającym rokowanie są: młodszy wiek zachorowania, pozagałkowe zapalenie nerwu wzrokowego jako pierwszy objaw, pełne ustąpienie objawów ogniskowego uszkodzenia OUN po pierwszym rzucie, niski wskaźnik rzutów oraz długi czas między pierwszym a drugim rzutem (Confavreux *et al.*, 2003). Również płeć jest istotnym czynnikiem decydującym o przebiegu MS, niezależnie od postaci. U dzieci poniżej 12. roku życia nie ma wyraźnych różnic w częstości zachorowań między chłopcami a dziewczynkami (Broła *et al.*, 2022). Obserwuje się natomiast znaczące różnice w częstości i przebiegu MS między kobietami a mężczyznami – dotyczące czasu wystąpienia pierwszych objawów, gwałtowności postępu choroby czy stopnia niepełnosprawności. Choć kobiety zapadają na MS wyraźnie częściej, choroba przebiega u nich łagodniej. Badania wykazały, że kobiety są 2–3-krotnie bardziej predysponowane do rozwoju MS (Harbo *et al.*, 2013). U pacjentek objawy pojawiają się wcześniej, ale przebieg choroby częściej okazuje się łagodniejszy, z objawami czuciowymi jako dominującą dolegliwością (Compston i Coles, 2002). Odsetek rzutów jest u kobiet do 20% wyższy niż w populacji mężczyzn (Ribbons *et al.*, 2015).

W badaniu rezonansu magnetycznego (*magnetic resonance imaging*, MRI) mózgowia również można zauważyć różnice międzypłciowe. U kobiet stwierdza się bardziej wyrażony zanik istoty białej i większą liczbę zmian wzmacniających się

po podaniu środka kontrastowego (Antulov *et al.*, 2009; Pozzilli *et al.*, 2003).

U mężczyzn, pomimo znacząco mniejszej zapadalności i późniejszego wieku zachorowania na MS, rokowanie odnośnie do przebiegu choroby jest gorsze. W swojej metaanalizie Ribbons i wsp. (2015) udowodnili, że mężczyźni z RRMS prezentowali gorsze wyniki w Rozszerzonej Skali Niepełnosprawności (Expanded Disability Status Scale, EDSS) w pierwszej ocenie neurologicznej i szybsze pogorszenie funkcji ruchowych. W ocenie progresji analizowano czas do osiągnięcia dwóch punktów odcięcia niepełnosprawności – EDSS 3,0 i EDSS 6,0. W populacji mężczyzn trwało to odpowiednio 8 i 32 lata. W grupie kobiet czas do osiągnięcia EDSS 3,0 wynosił 10 lat, cechowały się one także mniejszym ryzykiem rozwoju SPMS (Ribbons *et al.*, 2015). Prowadzono ponadto badania mające na celu oszacowanie bezpośredniego wpływu rzutów na postęp niepełnosprawności. Wśród mężczyzn zauważono tendencję do pogarszania się funkcji ruchowych między rzutami choroby, a ograniczenie sprawności ruchowej spowodowane przez rzut nie prowadziło do trwałego pogorszenia stanu neurologicznego mierzonego skalą EDSS (Koch-Henriksen *et al.*, 2019). Badania MRI mózgu u mężczyzn wykazują mniej aktywnych ognisk zapalnych niż u kobiet, ale więcej zmian hipointensywnych w sekwencji T1 – czarnych dziur, wiązanych z trwałą utratą aksonów (Pozzilli *et al.*, 2003). Dodatkowo u mężczyzn dochodzi do większej globalnej atrofii mózgu, ze znacznie większym niż u kobiet zanikiem istoty szarej i obecnością zmian w obrębie kory mózgowej, co koreluje z pogorszeniem funkcji poznawczych (Antulov *et al.*, 2009; Schoonheim *et al.*, 2012). Wykazano też, że zwiększona częstość rzutów z objawami ruchowymi lub mózdkowymi – które częściej występują u mężczyzn jako pierwsze objawy choroby – prowadzi do szybszego utrwalenia niepełnosprawności (Bove *et al.*, 2014; Tremlett *et al.*, 2006).

## NAJWAŻNIEJSZE HORMONY PŁCIOWE I ICH ROLA W ORGANIZMIE

### Estrogeny

Estrogeny należą do kobiecych hormonów płciowych, lecz w niskich stężeniach obecne są również u mężczyzn. Synteza zachodzi głównie w jajnikach, ale też w nadnerczach czy tkance tłuszczowej (Monteserín *et al.*, 1996). Stężenie estrogenów – a więc i efekt, jaki wywołują – różni się w zależności od płci i wieku. Do najważniejszych żeńskich hormonów płciowych zalicza się estrogen (E1), estradiol (E2) i estriol (E3). W organizmach kobiet z wiekowej grupy ryzyka rozwoju MS dominującą formę stanowi estradiol. Estriol produkowany jest prawie wyłącznie w trakcie ciąży. Estrogeny działają przez specyficzne receptory jądrowe: receptory estrogenowe alfa (ERα) i receptory estrogenowe beta (ERβ), a także przez receptory błonowe (Khan i Ansar Ahmed, 2016). U kobiet estrogeny są odpowiedzialne przede wszystkim za rozwój drugorzędowych cech płciowych i regulację cyklu

	<b>Estrogeny</b>	<b>Progesteron</b>	<b>Testosteron</b>
<b>Receptor</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• ER<math>\alpha</math></li> <li>• ER<math>\beta</math></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• PR</li> <li>• GABA-A</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• AR</li> <li>• Pośrednio ER (po konwersji przez aromatazę)</li> </ul>
	Receptory błonowe		
<b>Zapalenie w OUN</b>	Efekt zależny od stężenia i receptora: <ul style="list-style-type: none"> <li>• niskie dawki – efekt prozapalny, zwiększona sekrecja IFN-<math>\gamma</math></li> <li>• wysokie dawki – efekt przeciwzapalny</li> <li>• zwiększona produkcja IL-10</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Blokowanie sekrecji cytokin prozapalnych (IL-1<math>\beta</math>, IL-2, IL-6, IL-17, TNF-<math>\alpha</math>, IFN-<math>\gamma</math>)</li> <li>• Indukcja apoptozy komórek NK</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Przesunięcie odpowiedzi komórkowej: Th1 <math>\rightarrow</math> Th2</li> <li>• Zwiększona produkcja cytokin przeciwzapalnych (IL-5, IL-10)</li> <li>• Zmniejszona proliferacja limfocytów T CD4<sup>+</sup></li> </ul>
<b>Wpływ na mielinę w OUN</b>	Stymulacja produkcji i dojrzewania komórek progenitorowych oligodendrocytów		
	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Zwiększenie plastyczności synaps</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Zwiększona produkcja MBP</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Skuteczna rekrutacja astrocytów ze skutkiem w postaci stabilizacji plak demielinizacyjnych</li> </ul>
<b>Neurodegeneracja i neuroprotekcja</b>	Działanie ochronne poprzez: <ul style="list-style-type: none"> <li>• zwiększony wychwyty glutamianu</li> <li>• zmniejszenie uwalniania wolnych rodników tlenu</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Działanie antyoksydacyjne poprzez zmniejszenie produkcji tlenu azotu</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ochrona neuronu przed neurotoksycznością glutamianu i stresem oksydacyjnym</li> <li>• Wzrost ekspresji czynników neurotroficznych (BDNF)</li> </ul>
<b>Wyniki badań doświadczalnych</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Efekt przeciwzapalny osiągany przez zmniejszenie produkcji prozapalnych cytokin z przesunięciem odpowiedzi w kierunku przeciwzapalnej – produkcja cytokin przeciwzapalnych IL-4, IL-10</li> <li>• Zmiany w populacjach komórek dendrytycznych</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Indukcja sublokacji jądrowego czynnika transkrypcyjnego Olig1 jako niezbędnego do różnicowania komórek progenitorowych oligodendrocytów</li> <li>• Zwiększenie proliferacji specyficznych neuroblastów i liczby interneuronów GABA- dodatnich</li> <li>• Zmniejszenie liczby komórek mikrogleju/makrofagów Iba1 – działanie przeciwzapalne</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Niewielki efekt przeciwzapalny ze wzmożoną produkcją IL-10</li> <li>• Spowolnienie, a nawet zatrzymanie progresji atrofi istoty szarej</li> <li>• Remielinizacja osiągnięta przez stymulację rekrutacji komórek progenitorowych oligodendrocytów Olig2<sup>+</sup> i NG2<sup>+</sup></li> </ul>
<p><b>AR</b> – <i>androgen receptor</i>, receptor androgenowy; <b>BDNF</b> – <i>brain-derived neurotrophic factor</i>, neurotroficzny czynnik pochodzenia mózgowego; <b>ER</b> – <i>estrogen receptor</i>, receptor estrogenowy; <b>IFN-<math>\gamma</math></b> – interferon gamma; <b>IL</b> – interleukina; <b>MBP</b> – <i>myelin basic protein</i>, zasadowe białko mielin; <b>OUN</b> – ośrodkowy układ nerwowy; <b>PR</b> – <i>progesterone receptor</i>, receptor progesteronowy; <b>Treg</b> – limfocyty T regulatorowe.</p>			

Tab. 1. Wpływ hormonów płciowych na układ odpornościowy

menstruacyjnego, zarazem jednak w istotny sposób wpływają na funkcjonowanie układów sercowo-naczyniowego i kostnego, rozwój tkanki tłuszczowej czy funkcję mózgu (Maglione *et al.*, 2019).

### Progesteron

Progesteron to żeński hormon płciowy o budowie steroidowej, mający kluczowe znaczenie w okresie ciąży – zarówno dla płodu, jak i dla matki. Produkowany jest w głównej mierze w ciałku żółtym w jajnikach, ale synteza zachodzi również w nadnerczach, mózgu i łożysku. Progesteron oddziałuje przez jądrowy receptor progesteronowy (*progesterone receptor*, PR), błonowy PR i receptory GABA-A (Ghoumari *et al.*, 2020, 2005).

W warunkach fizjologicznych kluczowymi rolami progesteronu są przygotowanie macicy do implantacji zarodka, a następnie utrzymanie ciąży (Sundström-Poromaa *et al.*, 2020).

### Androgeny

Testosteron, najważniejszy hormon steroidowy należący do ludzkich androgenów, powstaje w jądrach i nadnerczach. W surowicy jest transportowany przede wszystkim w formie związanej z albuminami (38%) i globulinami wiążącymi hormony płciowe (*sex hormone binding globulins*, SHBG) (60%). Jedynie 2% testosteronu znajduje się w surowicy w formie

wolnej. Zarówno testosteron, jak i dihydrotestosteron (DHT) – najsilniej działający metabolit, powstający w wyniku działania enzymu 5-alfa-reduktazy – oddziałują na komórki za pośrednictwem swoistego receptora jądrowego (*androgen receptor*, AR). Mechanizm działania AR jest analogiczny jak w przypadku ER, przy czym receptor wiąże się w jądrze komórkowym z sekwencją ARA (*androgen-responsive element*). Stwierdzono bardzo dużą ekspresję AR w komórkach układu odpornościowego i wielu rejonach mózgu, co wskazuje na istotną rolę testosteronu w biologii OUN. Może on także ulec konwersji przez aromatazy do estradiolu (17-beta-estradiol) i działać przez receptor estrogenowy (Balthazart *et al.*, 1996). Poza działaniem związanym z reprodukcją omawiany hormon wpływa na masę mięśniową i kostną, funkcje seksualne, libido i wzrost włosów oraz na rozwój układu nerwowego (Morgentaler i Traish, 2020).

## ROLA HORMONÓW PŁCIOWYCH W STWARDNIENIU ROZSIANYM I JEGO MODELACH DOŚWIADCZALNYCH

### Różnice międzypłciowe w odpowiedzi immunologicznej w stwardnieniu rozsianym i innych chorobach z autoagresji

Hormony płciowe mogą istotnie wpływać na przebieg i odpowiedź immunologiczną w MS, jednak efekty ich

	Kobiety	Mężczyźni
<b>Częstość zachorowań</b>	2,3–3,5:1 ze wzrostem częstości zachorowań u kobiet na przestrzeni ostatnich lat	
<b>Dominujące dolegliwości</b>	Objawy czuciowe	Objawy ruchowe i zespół mózdkowy
<b>Przebieg kliniczny</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Wolniejsza progresja choroby</li> <li>• Wyższy roczny wskaźnik rzutów</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Większe ryzyko progresji w czasie między rzutami</li> <li>• Gorsze rokowanie, krótszy czas konwersji RRMS do SPMS</li> </ul>
<b>Czas do osiągnięcia niepełnosprawności EDSS 3,0</b>	10 lat	8 lat
<b>MRI mózgowia</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Dominujący zanik istoty białej</li> <li>• Większa liczba zmian Gd+</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Większa globalna atrofia mózgu z dominującym zanikiem istoty szarej</li> <li>• Przewaga zmian neurodegeneracyjnych, także hipointensywnych w T1 (czarne dziury)</li> </ul>
<b>Odpowiedź autoimmunologiczna</b>	Bardziej nasilone zapalenie <ul style="list-style-type: none"> <li>• Zwiększona produkcja cytokin prozapalnych i hamowanie odpowiedzi przeciwzapalnej</li> <li>• Silniejsza odpowiedź prozapalna Th1 i Th17 zarówno we krwi obwodowej, jak i w OUN</li> <li>• Szybsza aktywacja odpowiedzi zapalnej przez wzrost stężenia cytokin prozapalnych w OUN, a następnie szybkie jej ustąpienie</li> <li>• Zmniejszona całkowita liczba komórek Treg</li> <li>• Nadekspresja genów prozapalnych na limfocytach T krwi obwodowej</li> </ul>	Bardziej nasilona neurodegeneracja <ul style="list-style-type: none"> <li>• Zwiększona aktywacja mikrogleju, skutkująca rozpadem mieliny i tworzeniem plak</li> <li>• Wolniejsza aktywacja wydzielania cytokin prozapalnych w OUN i dłuższy czas utrzymywania się cytokin w wysokim stężeniu</li> <li>• Bardziej wyrażona odpowiedź typu Th2 i tłumienie odpowiedzi prozapalnej Th1/Th17</li> </ul>
<b>EDSS</b> – Expanded Disability Status Scale, Rozszerzona Skala Niepełnosprawności; <b>Gd+</b> – gadolinododatni; <b>MRI</b> – <i>magnetic resonance imaging</i> , rezonans magnetyczny; <b>MS</b> – <i>multiple sclerosis</i> , stwardnienie rozsiane; <b>OUN</b> – ośrodkowy układ nerwowy; <b>RRMS</b> – <i>relapsing-remitting MS</i> , postać rzutowo-remisyjna stwardnienia rozsianego; <b>SPMS</b> – <i>secondary progressive MS</i> , postać wtórnie postępująca stwardnienia rozsianego; <b>Treg</b> – limfocyty T regulatorowe.		

Tab. 2. Różnice między płciowe w patogenezie i przebiegu MS

działania różnią się w zależności od hormonu i postaci choroby. Zaobserwowano wyraźne różnice w przebiegu MS u kobiet i mężczyzn między postacią RRMS a postaciami postępującymi (PPMS i SPMS), co prawdopodobnie wiąże się z odmienną immunopatogenezą. W inicjacji procesu zapalnego w MS kluczową rolę odgrywają komórki T CD4<sup>+</sup>, wydzielające cytokiny prozapalne o profilu Th1 i Th17. Kluczowe produkowane przez nie cytokiny to IL-2, IL-6, IL-12, IFN- $\gamma$  czy GM-CSF (Frisullo *et al.*, 2008). Huygen i Palfiet (1984) w swoim badaniu wskazali na większą produkcję cytokin prozapalnych u kobiet. Ponadto stwierdzono, że komórki prezentujące antygen są w populacji kobiet wydajniejsze niż wśród mężczyzn (Weinstein *et al.*, 1984). W badaniach *in vitro* limfocyty T CD3<sup>+</sup> wywołują u kobiet silniejszą odpowiedź przy stymulacji fitohemaglutyniną niż u mężczyzn (Abdullah *et al.*, 2012). Co więcej, limfocyty T izolowane od kobiet wykazują nadekspresję większej liczby genów prozapalnych – w szczególności dotyczy to ekspresji cząsteczek o działaniu cytotoksycznym, transkryptów genów dla cytokin lub receptorów o działaniu prozapalnym (IFN- $\gamma$ , LT $\beta$  czy IL12rb2) i enzymów występujących w zapaleniu (GNLY, GZMA) (Hewagama *et al.*, 2009). Odpowiedź zapalną nasila nie tylko wzmożona produkcja prozapalnych cytokin i chemokin, ale także hamowanie odpowiedzi przeciwzapalnej. Głównymi modyfikatorami odpowiedzi immunologicznej są komórki T regulatorowe (Treg) (Fletcher *et al.*, 2010). Efekt przeciwzapalny Treg osiągany jest przez hamowanie komórek prezentujących antygen oraz wydzielanie cytokin o takim działaniu: IL-10 i TGF- $\beta$  (Wing i Sakaguchi, 2010). W badaniach z udziałem pacjentów z chorobami autoimmunologicznymi wykazano zmniejszoną całkowitą liczbę komórek regulatorowych

w porównaniu ze zdrowymi populacjami (Fletcher *et al.*, 2009; Viglietta *et al.*, 2004). Ponadto stwierdzono, że aktywność Treg zależy od płci i wieku chorych; sugeruje się też, że u kobiet komórek Treg jest znacznie mniej niż u mężczyzn (Afshan *et al.*, 2012; Stojic-Vukanic *et al.*, 2021). Zarówno w RRMS, jak i w postaciach postępujących oprócz limfocytów T wykazano istotną rolę limfocytów B (Zhou *et al.*, 2006). W postaci RRMS dominuje proces zapalny z uszkodzeniem bariery krew–mózg i ogniskową demielinizacją, najczęściej zlokalizowaną okołokomorowo i podkorowo. W postaciach postępujących komórki zapalne częściej lokalizują się i kumulują w tkance łącznej w obrębie opon mózgowo-rdzeniowych i przestrzeni okołonaczyniowych Virchowa–Robina, tworząc struktury przypominające grudki chłonne. Szybciej dochodzi tu do utraty aksonów i utrwalenia deficytów neurologicznych (Collongues *et al.*, 2018; Compston i Coles, 2002). Istnieje związek między stężeniem estrogenów a zwiększoną przeżywalnością i aktywacją niedojrzałych limfocytów B. Prowadzi to potencjalnie do tworzenia autoreaktywnych limfocytów B, co może tłumaczyć predominację kobiet w populacji osób z chorobami z autoagresji (Grimaldi *et al.*, 2002). Uważa się, że limfocyty B mogą również wywoływać reakcję zapalną poprzez prezentowanie autoantygenów patogennym limfocytom T, wydzielanie prozapalnych cytokin i hamowanie komórek Treg (Negron *et al.*, 2019). U kobiet stwierdza się nie tylko zwiększoną całkowitą liczbę komórek B, ale także silniejszą odpowiedź na immunizację (Abdullah *et al.*, 2012; Klein i Flanagan, 2016). Receptory dla hormonów płciowych są szeroko rozpowszechnione wśród komórek układu odpornościowego, ale



odpowiedź po ich stymulacji różni się w zależności od płci (Rolf *et al.*, 2016). Wykazano, że wiązanie hormonów z receptorami w odpowiednich rejonach może zwiększyć transkrypcję części genów istotnych w odpowiedzi układu odpornościowego, których *loci* znajdują się na chromosomie X (Klein i Flanagan, 2016; Voskuhl, 2020). U około 15% kobiet w procesie inaktywacji jednego chromosomu X, by zapewnić ekspresję pojedynczego zestawu genomu, część genów nie zostaje wyciszona, co powoduje wyższą ekspresję genów związanych z odpowiedzią zapalną i prowadzi bezpośrednio do różnicy w odpowiedzi autoimmunologicznej między płciami (Voskuhl, 2020). Za sprawą opisanego mechanizmu hormony płciowe mogą wykazywać działanie immunomodulujące, co potwierdzono w MS i w innych chorobach z autoagresji, np. miastonii (Dong *et al.*, 2020; Gilli *et al.*, 2020). Międzypłciowe zróżnicowanie odpowiedzi zapalnej wynika prawdopodobnie z różnic w odpowiedzi immunologicznej zarówno wrodzonej, jak i nabytej (Klein i Flanagan, 2016). Oprócz bezpośredniego oddziaływania hormony płciowe mogą wywoływać pośredni efekt immunomodulacyjny (Phiel *et al.*, 2005). Przez oddziaływanie na oś podwzgórzowo-przysadkowo-nadnerczową wpływają na stężenie glikokortykosteroidów w organizmie, czyli w sposób pośredni modulują odpowiedź immunologiczną (Whitacre, 2001).

### Rola estrogenów w immunomodulacji i neuroprotekcji w stwardnieniu rozсіяnym i jego modelach doświadczalnych

Klasyczny szlak działania estrogenów na komórki polega na aktywacji jądrowych receptorów ER $\alpha$  i ER $\beta$ , które tworzą dimery (Del Río *et al.*, 2018). Po aktywacji receptory te ulegają translokacji w obręb jądra komórkowego, gdzie wiążą się z elementami ERE (*estrogen-responsive elements*), bezpośrednio regulującymi ekspresję genów. W przypadku estrogenów istotną – choć ciągle słabo poznaną – rolę odgrywają również receptory błonowe (Del Río *et al.*, 2018). Aktywacja obu szlaków przekazywania (jądrowego i błonowego) może prowadzić do efektu ochronnego w chorobach zapalnych OUN, takich jak MS. W badaniach eksperymentalnych nad MS najczęściej wykorzystywanym modelem demielinizacji na tle zapalnym jest eksperymentalne autoimmunologiczne zapalenie mózgu i rdzenia (*experimental autoimmune encephalomyelitis*, EAE). Stwierdzono, że efekty estrogenów w MS i EAE łączą w sobie działanie immunomodulujące i neuroprotektoryjne. Odbywa się to w kilku złożonych mechanizmach. Najważniejszy to: aktywacja szlaków antyapoptotycznych i szlaków przeżycia komórek, regulacja funkcji metabolicznych przez podtrzymywanie zapotrzebowania energetycznego komórek nerwowych (zwiększanie dostępności glukozy w komórce i produkcja ATP przez mitochondria) oraz regulowanie neurogenezy przez indukcję proliferacji progenitorowych komórek nerwowych w sposób zależny od czasu i dawki (Del Río *et al.*, 2018).

Wpływ estrogenów na układ odpornościowy osiągnąć jest najprawdopodobniej przede wszystkim przez oddziaływanie

estradiolu z receptorem ER $\alpha$  – ekspresja zachodzi tu nie tylko w podwzgórz, ale także na komórkach układu odpornościowego (Lasrado *et al.*, 2020; Straub, 2007). Odnotowano ekspresję ER $\alpha$  w najważniejszych populacjach limfocytów odgrywających rolę w immunopatogenezie MS i EAE. Występuje on zarówno w limfocytach T CD4 $^{+}$ , CD8 $^{+}$  czy limfocytach B, jak i w komórkach NK (*natural killers*), a najczęstszą izoformą jest ER $\alpha$ 46. Wykazano, że limfocyty T i komórki NK są bardziej wrażliwe na działanie estradiolu (E2) niż limfocyty B (Pierdominici *et al.*, 2010). Grupą komórek istotną w inicjacji procesu zapalnego w MS i EAE są limfocyty T CD4 $^{+}$ , produkujące cytokiny związane z odpowiedzią prozapalną typu Th1 i Th17. W modelach zwierzęcych limfocyty te indukowały wystąpienie EAE (Langrish *et al.*, 2005; McGinley *et al.*, 2018). Zaobserwowano, iż wysokie stężenia estrogenów w surowicy korelują z profilem odpowiedzi prozapalnej Th1, a nie przeciwzapalnej Th2 (Oreja-Guevara *et al.*, 2012). W badaniu pacjentów z RRMS wykazano, że blokowanie i neutralizacja IL-17 mogą zmniejszyć aktywność zapalną plak demielinizacyjnych ocenianych w MRI głowy. Stwierdzono związek między aktywnością czynników transkrypcyjnych dla IL-17 a płcią: w grupie kobiet aktywność jest znacznie wyższa, szczególnie dla czynników ROR $\gamma$  i STAT3 (Sankaran-Walters *et al.*, 2013). W EAE zaobserwowano hamowanie rozwoju komórek Th1 i Th17 pod wpływem leczenia estradiolem, oddziałującym przez ER $\alpha$  (Lélu *et al.*, 2011). Z kolei aktywacja ER $\alpha$  na komórkach dendrytycznych promuje ich różnicowanie i dojrzewanie, co sprzyja efektywniejszej prezentacji autoantygenów dla komórek T (Seillet *et al.*, 2013).

W badaniach eksperymentalnych eliminacja estrogenów w następstwie owariektomii przyspieszała wystąpienie objawów EAE (Jansson *et al.*, 1994). Z kolei podawanie selektywnych ligandów ER $\alpha$ , jak również estriolu, oddziałującego na ER $\beta$ , miało działanie neuroprotektoryjne (Morales *et al.*, 2006; Spence i Voskuhl, 2012).

Estrogeny wpływają też na funkcję komórek w OUN. Działając na ER $\alpha$  i ER $\beta$  w astrocytach i mikrogleju, estradiol działa przeciwzapalnie i neuroprotektoryjnie w EAE. Stwierdzono, że zaobserwowany efekt E2 wynikał ze zwiększenia wydzielania czynników wzrostu TGF- $\beta$ 1 i TGF- $\beta$ 2 oraz wzmocnienia wychwytu glutaminianu, co ograniczało ekscytotoksyczność. Ponadto estradiol, działając na mikroglej, redukuje uwalnianie wolnych rodników tlenu (Morales *et al.*, 2006). Ekspresja ER $\beta$  zachodzi nie tylko w komórkach dendrytycznych, astrocytach i mikrogleju, ale również w komórkach nerwowych oraz na komórkach śródbłonna. Podczas gdy ER $\alpha$  działa głównie przeciwzapalnie, ER $\beta$  oddziałuje ochronnie na neurony. Sugerowana ochrona przed neurodegeneracją polega na redukcji demielinizacji, stymulowaniu remielinizacji i ochronie aksonów (Spence i Voskuhl, 2012; Tiwari-Woodruff i Voskuhl, 2009; Tiwari-Woodruff *et al.*, 2007; Voskuhl i Gold, 2012). Specyficzne ligandy dla ER $\beta$  obniżają aktywację transkrypcji genów odpowiedzialnych za wystąpienie reakcji zapalnej astrocytów i mikrogleju (Saijo *et al.*, 2011).

Ważnym aspektem jest proces ochrony przed demielinizacją, który zachodzi przez pośredni i bezpośredni wpływ na funkcję oligodendrocytów oraz zwiększanie plastyczności synaps. W EAE wykazano, że ligandy dla receptora ER $\beta$  oddziałują z mieloidalnymi komórkami dendrytycznymi CD11c<sup>+</sup> i makrofagami, co przyspiesza dojrzewanie oligodendrocytów i pośrednio hamuje uszkodzenie osłonek mielinowych (Kim *et al.*, 2018).

Efekt ochronny estrogenów w chorobach demielinizacyjnych jest zatem osiągany przez szereg współdziałających mechanizmów. Dzięki działaniu przez ER $\beta$  wywierany jest wpływ neuroprotekcyny. Działanie przez ER $\alpha$  prowadzi do działania neuroprotekcynowego, dochodzi także do zmniejszenia proliferacji komórek zapalnych oraz hamowania ich aktywności w OUN (Tiwari-Woodruff i Voskuhl, 2009). Koreluje to ze znaczącym spadkiem wydzielania cytokin i chemokin o działaniu prozapalnym: TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , IL-6, IL-1 $\beta$  czy CXCL1, CXCL2, CXCL8, CXCL12 (Ghafouri-Fard *et al.*, 2021; Tiwari-Woodruff i Voskuhl, 2009; Tiwari-Woodruff *et al.*, 2007). Odnotowano ponadto zwiększoną ekspresję przeciwzapalnych cytokin i chemokin: IL-5, IL-4, IL-10, TGF- $\beta$  (Straub, 2007; Tiwari-Woodruff *et al.*, 2007).

Wyjątkowym hormonem jest estriol, obecny w organizmie kobiety jedynie w czasie ciąży. Najwyższe stężenie obserwuje się w trzecim trymestrze, a po porodzie następuje gwałtowny spadek. Ma to odzwierciedlenie w przebiegu MS: w trakcie ciąży aktywność choroby mierzona liczbą rzutów spada o około 70%, szczególnie w trzecim trymestrze, a po porodzie o 70% rośnie (Confavreux *et al.*, 1998). U ciężarnych hormony płciowe działają w mechanizmie przesunięcia odpowiedzi z Th1 w kierunku Th2, a także zwiększenia odsetka regulatorowych limfocytów T (Gilmore *et al.*, 2004; Sánchez-Ramón *et al.*, 2005; Wegmann *et al.*, 1993).

### Rola progesteronu w immunomodulacji i neuroprotekcji w stwardnieniu rozsianym i jego modelach doświadczalnych

Receptor progesteronowy również jest powszechnie wykrywany na komórkach układu odpornościowego: limfocytach T i B, granulocytach, komórkach dendrytycznych i NK (Arruvito *et al.*, 2008; Ghomari *et al.*, 2020).

Progesteron ma udowodnione działanie promielinizacyjne i neuroprotekcynowe (Garay *et al.*, 2014). Przesuwa równowagę odpowiedzi immunologicznej z prozapalnej w kierunku przeciwzapalnej. Efekt immunosupresyjny jest osiągany przez blokowanie sekrecji cytokin prozapalnych, takich jak IFN- $\gamma$ , IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-6, IL-17 i TNF- $\alpha$ , oraz indukcję apoptozy komórek NK (Arruvito *et al.*, 2008; Labombarda *et al.*, 2015; Yates *et al.*, 2010). Stwierdzono także, że progesteron zmniejsza proliferację i aktywację mikrogleju i astrocytów (Labombarda *et al.*, 2015).

Ponadto obserwowano zwiększoną produkcję komórek CD19<sup>+</sup> i CD8<sup>+</sup> wtórną do produkcji przeciwzapalnej IL-10 (Yates *et al.*, 2010).

Progesteron promuje mielinizację przez zwiększoną produkcję zasadowego białka mieliny (*myelin basic protein*, MBP) i odgrywa ważną rolę w proliferacji i rozwoju komórek prekursorowych oligodendrocytów (Ghomari *et al.*, 2005). Spadek odpowiedzi zapalnej powodowany przez cyklooksygenazę 2 (COX-2) i działanie antyoksydacyjne jest osiągany dzięki zmniejszonej produkcji tlenu azotu (Gonzalez Deniselle *et al.*, 2011; Labombarda *et al.*, 2015). Progesteron podany myszom z EAE działał przeciwzapalnie poprzez modulację odpowiedzi zapalnej, zmniejszenie sekrecji IL-2 i IL-17, zwiększenie sekrecji przeciwzapalnej IL-10 (wydzielanej zarówno przez limfocyty T, jak i B) oraz redukcję ekspresji receptorów cyto- i chemokinowych. Wskazano również na działanie neuroprotekcynowe progesteronu przeciwko ekscytotoksyczności kwasu kainowego (Ciriza *et al.*, 2006; Hughes, 2012; Yates *et al.*, 2010). W modelach EAE u myszy omawiany hormon łagodził kliniczny przebieg choroby, a także ograniczał demielinizację i utratę aksonów, tworzenie się białek prekursorowych dla amyloidu oraz ekspresję białek związanych ze wzrostem (*growth-associated proteins*) (Gonzalez Deniselle *et al.*, 2011).

### Rola testosteronu w immunomodulacji i neuroprotekcji w stwardnieniu rozsianym i jego modelach doświadczalnych

Poziom testosteronu u badanych chorych na MS obu płci okazał się niższy niż w grupach kontrolnych, co wraz z danymi epidemiologicznymi sugeruje wpływ tego hormonu na zachorowanie lub przebieg choroby (Tomassini *et al.*, 2005). Działanie immunomodulujące i przeciwzapalne testosteronu polega na przesunięciu odpowiedzi komórkowej Th1 w kierunku odpowiedzi humoralnej Th2 – testosteron zwiększa produkcję cytokin i chemokin przeciwzapalnych, takich jak IL-5 i IL-10, i zmniejsza wydzielanie substancji prozapalnych, takich jak IFN- $\gamma$ , IL-17, IL-2 czy TNF- $\alpha$  (Gold i Voskuhl, 2009). Ogranicza również proliferację limfocytów, głównie CD4<sup>+</sup>, na korzyść komórek NK (Chitnis, 2018).

W badaniach laboratoryjnych na ludzkich limfocytach T udowodniono, że testosteron poprzez zwiększenie ekspresji Foxp3 na komórkach T, działając przez receptor androgenowy w *locus* Foxp3, prowadzi do zmian epigenetycznych, które promują różnicowanie i przeżycie Treg, co przynosi efekt przeciwzapalny (Walecki *et al.*, 2015).

Wykazano, że omawiany hormon ma działanie neuroprotekcynowe (Chitnis, 2018). Bezpośrednie efekty neuroprotekcynowe testosteronu, podobnie jak innych hormonów steroidowych, związane są z możliwością przekraczania bariery krew-mózg w formie niezmienionej albo w połączeniu z białkami – albuminami lub glikoproteina wiążącą hormony płciowe (*sex hormone-binding glycoprotein*, SHBG) (Hobbs *et al.*, 1992). Działanie neuroprotekcynowe polega m.in. na ochronie neuronów przed neurotoksycznością glutaminianu i stresem oksydacyjnym oraz na wzroście ekspresji czynników neurotroficznych, wśród nich mózgowego czynnika neurotroficznego (*brain-derived neurotrophic*

factor, BDNF) (Chisu *et al.*, 2006; Ogata *et al.*, 1993; Rasińska *et al.*, 1999).

Dymorfizm płciowy dotyczy nie tylko rozwoju odpowiedzi zapalnej, ale również struktury mieliny i liczby oligodendrocytów – także u pacjentów z MS (Cerghet *et al.*, 2006). Udowodniono, że u mysich samców powyższe cechy są określane przez postnatalny wzrost poziomu testosteronu i ekspresję receptora androgenowego, co prowadzi do konkluzji, że mielina jest zróżnicowana płciowo już u noworodków krótko po urodzeniu (Abi Ghanem *et al.*, 2017). W przywołanym badaniu na myszach dowiedziono, że międzyplciowe różnice dotyczące mieliny są widoczne w 10. dniu po urodzeniu, a postnatalne leczenie testosteronem wpływa na gęstość oligodendrocytów i strukturę osłonek mielinowych.

Ważnym aspektem jest udział testosteronu w zapobieganiu utracie osłonek mielinowych nerwów oraz wspomaganie procesu remielinizacji. W badaniu metabolizmu testosteronu w komórkach OUN wykazano wysoką aktywność enzymów konwertujących hormony płciowe, m.in. 5-alfa-reduktazy, której wysokie stężenia znajdowano w strukturach istoty białej, w których komórki są mocno zmielinizowane. Ponadto oceniono aktywność enzymu na poszczególnych typach komórek nerwowych i stwierdzono największą aktywność na neuronach, mniejszą zaś kolejno na komórkach dendrytycznych i astrocytach (Celotti *et al.*, 1991). Natomiast aktywność aromatazy (konwertującej testosteron do estradiolu) wykryto jedynie na neuronach, a niemal zupełny jej brak – na komórkach glejowych i oligodendrocytach (Celotti *et al.*, 1991).

Hussain i wsp. (2013) udowodnili, że testosteron stymuluje produkcję i dojrzewanie komórek progenitorowych oligodendrocytów, które odgrywają istotną rolę w procesie naprawczym mieliny. Ponadto kastracja samców myszy miała szkodliwy wpływ na podatność i przebieg EAE, a leczenie testosteronem prowadziło do złagodzenia objawów i redukcji odpowiedzi zapalnej (Aboudkhalil *et al.*, 1991; Bebo *et al.*, 1998; Dalal *et al.*, 1997). Wykazano, że wpływ na proces remielinizacji w modelach przewlekłej i ostrej demielinizacji jest przekazywany przez AR, ulegający ekspresji w OUN. Sugeruje to nie tylko pośrednie, ale także bezpośrednie działanie neuroprotektoryjne (Bielecki *et al.*, 2016; Hussain *et al.*, 2013).

## HORMONY PŁCIOWE W BADANIACH PRZEDKLINICZNYCH I KLINICZNYCH W STWARDNIENIU ROZSIANYM

Podejmowane były i nadal trwają badania kliniczne i przedkliniczne z zastosowaniem hormonów płciowych – zarówno w monoterapii, jak i w ramach terapii adiuwantowych z lekami zarejestrowanymi w MS.

### Terapie z zastosowaniem estradiolu

W EAE leczenie estradiolem, który ma nieco słabsze działanie niż estradiol, stosowano i u samców, i u samic. W obu

grupach odnotowano efekt przeciwwzrostowy, osiągnięty przez zmniejszenie produkcji prozapalnych cytokin z przesunięciem odpowiedzi w kierunku przeciwwzrostowej, obejmującym produkcję cytokin przeciwwzrostowych (np. IL-4, IL-10), oraz zmiany w populacjach komórek dendrytycznych (Spence i Voskuhl, 2012; Straub, 2007). W modelach doświadczalnych późniejszy początek objawów MS i mniejszą aktywność choroby obserwowano wtedy, gdy suplementacja E2 lub E3 była przyjmowana przed immunizacją (Straub, 2007).

W dużym randomizowanym badaniu kontrolowanym placebo Voskuhl i wsp. (2016) potwierdzili niższy odsetek rzutów i zmęczenia u pacjentów leczonych octanem glatirameru w połączeniu z estradiolem w porównaniu z grupą placebo. W grupie badanej stwierdzono też zmniejszenie atrofii korowej istoty szarej i liczby aktywnych ognisk w MRI (Voskuhl *et al.*, 2016).

### Terapie z zastosowaniem progesteronu

Znane są dane dotyczące wykorzystania progesteronu w leczeniu pacjentów z patologiami układu nerwowego. Do chorób, w których udowodniono skuteczność terapii, należą urazy mózgu i rdzenia kręgowego, udary niedokrwienne mózgu czy toksyczne uszkodzenia ośrodkowego i obwodowego układu nerwowego (Barha *et al.*, 2011; De Nicola *et al.*, 2009; Schumacher *et al.*, 2014; Zhao *et al.*, 2011).

Sugeruje się, że w EAE korzyści kliniczne wynikają z indukcji sublokacji jądrowego czynnika transkrypcyjnego Olig1, związanego z remielinizacją (Yu *et al.*, 2010). Poprawę stanu neurologicznego stwierdza się zarówno w ostrej, jak i w przewlekłej fazie EAE (Giatti *et al.*, 2012; Yu *et al.*, 2010). W mysich modelach EAE badano wpływ agonisty progesteronu (nestron) w dawce 0,4 mg/kg przez 10 dni po indukcji EAE. Obserwowano poprawę funkcji ruchowych, także mózdkowych, i funkcji poznawczych przez wzmocnienie neurogenezy w obrębie hipokampa wskutek zwiększenia proliferacji specyficznych neuroblastów i liczby interneuronów GABA-dodatnich oraz zmniejszenia liczby komórek mikrogleju/makrofagów Iba1 (Garay *et al.*, 2014; Ziehn *et al.*, 2010).

W badaniu klinicznym POPARTMUS, pomimo pierwotnie obiecujących wyników, nie wykazano skuteczności kombinacji progesteronu i estradiolu w zapobieganiu nawrotom poporodowym u kobiet z RRMS i SPMS (Vukusic *et al.*, 2021). Kobietom w połogu podawano 10 mg 19-nor-progesteronu od 1. doby po porodzie i 75 µg estradiolu po 2 tygodniach połogu (Vukusic *et al.*, 2009). W 24-tygodniowej obserwacji nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic między grupami w zakresie wskaźnika nawrotów i osiągnięcia drugorzędowych punktów końcowych – aktywności klinicznej i radiologicznej choroby. Jako przyczynę przedwczesnego zakończenia badania i niepomyślnego wyniku autorzy wskazują zbyt małą grupę badaną (w związku ze zbyt niskim wskaźnikiem włączenia) oraz krótki, trzymiesięczny czas obserwacji po leczeniu (Vukusic *et al.*, 2021).



## Terapie z zastosowaniem androgenów

Przeprowadzono liczne badania przedkliniczne z użyciem różnych modeli eksperymentalnych uszkodzenia mieliny. Mimo obiecujących wyników niestety nie powstało dotąd wiele badań klinicznych oceniających leczniczy efekt testosteronu w RRMS.

W dotychczasowych pracach analizowano głównie pośredni wpływ testosteronu na uszkodzenie i naprawę mieliny, szczególnie w kontekście modulacji odpowiedzi zapalnej. Potwierdzono, że testosteron wpływa bezpośrednio i pośrednio na komórki układu odpornościowego. Wciąż jednak nie ma wystarczającej liczby badań nad mechanizmami działania immunomodulującego, a zwłaszcza badań oceniających wpływ testosteronu na remielinizację (Hussain *et al.*, 2013; Sicotte *et al.*, 2007).

W badaniach doświadczalnych oceniono efekt zarówno endo-, jak i egzogenego testosteronu w modelach uszkodzenia mieliny na tle zapalnym. Wykazano, że samce myszy SJL rozwijały mniej nasilone objawy EAE, a produkcja IL-10 była wśród nich większa niż wśród żeńskich odpowiedników (Dalal *et al.*, 1997; Liva i Voskuhl, 2001). Następnie przeprowadzono badanie pilotażowe i badanie II fazy – zrekrutowano po 10 mężczyzn z rozpoznaniem RRMS, którym codziennie przez rok podawano 100 mg testosteronu w postaci 10 g żelu (Kurth *et al.*, 2014; Sicotte *et al.*, 2007). Oba badania wykazały znaczne spowolnienie, a nawet zatrzymanie progresji atrofii istoty szarej. Sicotte i wsp. (2007) stwierdzili również poprawę w zakresie funkcji poznawczych mierzonych skalami Multiple Sclerosis Functional Composite (MSFC) i 7/24 Spatial Recall Test. Nie znaleziono znamienych korelacji między leczeniem testosteronem a zajęciem istoty białej, w tym liczbą nowych plak demielinizacyjnych, co może potwierdzać, że testosteron wykazuje przede wszystkim działanie neuroprotektoryjne, nie zaś przeciwzapalne (Sicotte *et al.*, 2007).

Obecnie w toku jest randomizowane, podwójnie zaślepienie badanie II fazy kontrolowane placebo, które ocenia wpływ podawania 1000 mg testosteronu w formie iniekcji domięśniowej na kliniczne i radiologiczne parametry progresji choroby (Metzger-Peter *et al.*, 2020). Główny cel stanowi weryfikacja neuroprotektoryjnego i remielinizacyjnego działania testosteronu poprzez analizę konwencjonalnych parametrów rezonansowych w sekwencjach T1, T2 i FLAIR oraz parametrów niekonwencjonalnych, takich jak obrazowanie i ewolucja obrazowania tensora dyfuzji (*diffusion tensor imaging*, DTI; *nerite orientation dispersion and density imaging*, NODDI) czy ilościowe obrazowanie z transferem magnetyzacji (*macromolecular proton fraction*, MPF). Ograniczeniem jest dobór grupy badanej – ze względu na możliwe działania niepożądane do badania włączono jedynie mężczyzn z potwierdzonym niedoborem testosteronu (Metzger-Peter *et al.*, 2020).

## WNIOSKI

MS jest postępującą chorobą OUN o nie w pełni poznanej etiopatogenezie. W badaniach nad procesami prowadzącymi

do uszkodzenia mieliny i aksonów wykazano istotną rolę układu immunologicznego, dlatego większość stosowanych obecnie terapii ma działanie immunomodulujące. Trwają poszukiwania leków stymulujących również remielinizację i działających neuroprotektoryjnie w celu zahamowania utraty aksonów, a zarazem postępu niepełnosprawności.

Dane epidemiologiczne i eksperymentalne od dawna wskazują, że hormony płciowe mogą mieć istotny wpływ na przebieg MS. Choć mechanizm działania estrogenów, progesteronów i androgenów nie został dotąd w pełni poznany, wiele danych sugeruje korzystny wpływ nie tylko na proces zapalny, ale także na regenerację mieliny i ochronę aksonów.

Trwające badania przedkliniczne i kliniczne pozwolą lepiej poznać rolę hormonów płciowych w procesach uszkodzenia i naprawy OUN, co w przyszłości może się przełożyć na poprawę jakości życia chorych na MS.

## Konflikt interesów

*Autorzy nie zgłaszają żadnych finansowych ani osobistych powiązań z innymi osobami lub organizacjami, które mogłyby negatywnie wpłynąć na treść publikacji oraz rościć sobie prawo do tej publikacji.*

## Piśmiennictwo

- Abdullah M, Chai PS, Chong MY *et al.*: Gender effect on *in vitro* lymphocyte subset levels of healthy individuals. *Cell Immunol* 2012; 272: 214–19.
- Abi Ghanem C, Degerny C, Hussain R *et al.*: Long-lasting masculinizing effects of postnatal androgens on myelin governed by the brain androgen receptor. *PLoS Genet* 2017; 13: e1007049.
- Aboudkhal S, Bureau JP, Garrelly L *et al.*: Effects of castration, Depot-testosterone and cyproterone acetate on lymphocyte T subsets in mouse thymus and spleen. *Scand J Immunol* 1991; 34: 647–653.
- Afshan G, Afzal N, Qureshi S: CD4<sup>+</sup>CD25<sup>hi</sup> regulatory T cells in healthy males and females mediate gender difference in the prevalence of autoimmune diseases. *Clin Lab* 2012; 58: 567–571.
- Antulov R, Weinstock-Guttman B, Cox JL *et al.*: Gender-related differences in MS: a study of conventional and nonconventional MRI measures. *Mult Scler* 2009; 15: 345–354.
- Arrivito L, Giulianelli S, Flores AC *et al.*: NK cells expressing a progesterone receptor are susceptible to progesterone-induced apoptosis. *J Immunol* 2008; 180: 5746–5753.
- Balthazart J, Foidart A, Absil P *et al.*: Effects of testosterone and its metabolites on aromatase-immunoreactive cells in the quail brain: relationship with the activation of male reproductive behavior. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1996; 56: 185–200.
- Barha CK, Ishrat T, Epp JR *et al.*: Progesterone treatment normalizes the levels of cell proliferation and cell death in the dentate gyrus of the hippocampus after traumatic brain injury. *Exp Neurol* 2011; 231: 72–81.
- Bebo BF Jr, Schuster JC, Vandenbark AA *et al.*: Gender differences in experimental autoimmune encephalomyelitis develop during the induction of the immune response to encephalitogenic peptides. *J Neurosci Res* 1998; 52: 420–426.
- Bielecki B, Mattern C, Ghomari AM *et al.*: Unexpected central role of the androgen receptor in the spontaneous regeneration of myelin. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2016; 113: 14829–14834.
- Bove R, Musallam A, Healy BC *et al.*: Low testosterone is associated with disability in men with multiple sclerosis. *Mult Scler* 2014; 20: 1584–1592.



- Brola W, Steinborn B, Żak M et al.: The clinical and epidemiological profile of paediatric-onset multiple sclerosis in Poland. *J Clin Med* 2022; 11: 7494.
- Celotti F, Melcangi RC, Negri-Cesi P et al.: Testosterone metabolism in brain cells and membranes. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1991; 40: 673–678.
- Cerghet M, Skoff RP, Bessert D et al.: Proliferation and death of oligodendrocytes and myelin proteins are differentially regulated in male and female rodents. *J Neurosci* 2006; 26: 1439–1447.
- Chitnis T: The role of testosterone in MS risk and course. *Mult Scler* 2018; 24: 36–41.
- Ciriza I, Carrero P, Frye CA et al.: Reduced metabolites mediate neuroprotective effects of progesterone in the adult rat hippocampus. The synthetic progestin medroxyprogesterone acetate (Provera) is not neuroprotective. *J Neurobiol* 2006; 66: 916–928.
- Collongues N, Patte-Mensah C, De Seze J et al.: Testosterone and estrogen in multiple sclerosis: from pathophysiology to therapeutics. *Expert Rev Neurother* 2018; 18: 515–522.
- Compston A, Coles A: Multiple sclerosis. *Lancet* 2002; 359: 1221–1231.
- Confavreux C, Hutchinson M, Hours MM et al.; Pregnancy in Multiple Sclerosis Group: Rate of pregnancy-related relapse in multiple sclerosis. *N Engl J Med* 1998; 339: 285–291.
- Confavreux C, Vukusic S, Adeleine P: Early clinical predictors and progression of irreversible disability in multiple sclerosis: an amnesic process. *Brain* 2003; 126: 770–782.
- Dalal M, Kim S, Voskuhl RR: Testosterone therapy ameliorates experimental autoimmune encephalomyelitis and induces a T helper 2 bias in the autoantigen-specific T lymphocyte response. *J Immunol* 1997; 159: 3–6.
- De Nicola AF, Labombarda F, Gonzalez Deniselle MC et al.: Progesterone neuroprotection in traumatic CNS injury and motoneuron degeneration. *Front Neuroendocrinol* 2009; 30: 173–187.
- Del Río JP, Alliende MI, Molina N et al.: Steroid hormones and their action in women's brains: the importance of hormonal balance. *Front Public Health* 2018; 6: 141.
- Dong D, Chong MK, Wu Y et al.: Gender differences in quality of life among patients with myasthenia gravis in China. *Health Qual Life Outcomes* 2020; 18: 296.
- Fletcher JM, Lalor SJ, Sweeney CM et al.: T cells in multiple sclerosis and experimental autoimmune encephalomyelitis. *Clin Exp Immunol* 2010; 162: 1–11.
- Fletcher JM, Loneragan R, Costelloe L et al.: CD39<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup> regulatory T cells suppress pathogenic Th17 cells and are impaired in multiple sclerosis. *J Immunol* 2009; 183: 7602–7610.
- Frisullo G, Nociti V, Iorio R et al.: IL17 and IFN $\gamma$  production by peripheral blood mononuclear cells from clinically isolated syndrome to secondary progressive multiple sclerosis. *Cytokine* 2008; 44: 22–25.
- Garay L, Gonzalez Deniselle MC, Sitruk-Ware R et al.: Efficacy of the selective progesterone receptor agonist nestorone for chronic experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Neuroimmunol* 2014; 276: 89–97.
- Ghafouri-Fard S, Honarmand K, Taheri M: A comprehensive review on the role of chemokines in the pathogenesis of multiple sclerosis. *Metab Brain Dis* 2021; 36: 375–406.
- Ghousari AM, Abi Ghanem C, Asbelaoui N et al.: Roles of progesterone, testosterone and their nuclear receptors in central nervous system myelination and remyelination. *Int J Mol Sci* 2020; 21: 3163.
- Ghousari AM, Baulieu EE, Schumacher M: Progesterone increases oligodendroglial cell proliferation in rat cerebellar slice cultures. *Neuroscience* 2005; 135: 47–58.
- Giatti S, Caruso D, Boraso M et al.: Neuroprotective effects of progesterone in chronic Experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Neuroendocrinol* 2012; 24: 851–861.
- Gilli F, DiSano KD, Pachner AR: SexXX matters in multiple sclerosis. *Front Neurol* 2020; 11: 616.
- Gilmore W, Arias M, Stroud N et al.: Preliminary studies of cytokine secretion patterns associated with pregnancy in MS patients. *J Neurol Sci* 2004; 224: 69–76.
- Gold SM, Voskuhl RR: Estrogen and testosterone therapies in multiple sclerosis. *Prog Brain Res* 2009; 175: 239–251.
- Gonzalez Deniselle MC, Garay L, Meyer M et al.: Experimental and clinical evidence for the protective role of progesterone in motoneuron degeneration and neuroinflammation. *Horm Mol Biol Clin Investig* 2011; 7: 403–411.
- Grimaldi CM, Cleary J, Dagtas AS et al.: Estrogen alters thresholds for B cell apoptosis and activation. *J Clin Invest* 2002; 109: 1625–1633.
- Harbo HF, Gold R, Tintoré M: Sex and gender issues in multiple sclerosis. *Ther Adv Neurol Disord* 2013; 6: 237–248.
- Hewagama A, Patel D, Yarlagadda S et al.: Stronger inflammatory/cytotoxic T-cell response in women identified by microarray analysis. *Genes Immun* 2009; 10: 509–516.
- Hobbs CJ, Jones RE, Plymate SR: The effects of sex hormone binding globulin (SHBG) on testosterone transport into the cerebrospinal fluid. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1992; 42: 629–635.
- Hughes GC: Progesterone and autoimmune disease. *Autoimmun Rev* 2012; 11: A502–A514.
- Hussain R, Ghousari AM, Bielecki B et al.: The neural androgen receptor: a therapeutic target for myelin repair in chronic demyelination. *Brain* 2013; 136: 132–146.
- Huygen K, Palfliet K: Strain variation in interferon  $\gamma$  production of BCG-sensitized mice challenged with PPD: II. Importance of one major autosomal locus and additional sexual influences. *Cell Immunol* 1984; 85: 75–81.
- Jansson L, Olsson T, Holmdahl R: Estrogen induces a potent suppression of experimental autoimmune encephalomyelitis and collagen-induced arthritis in mice. *J Neuroimmunol* 1994; 53: 203–207.
- Khan D, Ansar Ahmed S: The immune system is a natural target for estrogen action: opposing effects of estrogen in two prototypical autoimmune diseases. *Front Immunol* 2016; 6: 635.
- Kim RY, Mangu D, Hoffman AS et al.: Oestrogen receptor  $\beta$  ligand acts on CD11c<sup>+</sup> cells to mediate protection in experimental autoimmune encephalomyelitis. *Brain* 2018; 141: 132–147.
- Klein SL, Flanagan KL: Sex differences in immune responses. *Nat Rev Immunol* 2016; 16: 626–638.
- Koch-Henriksen N, Thygesen LC, Sørensen PS et al.: Worsening of disability caused by relapses in multiple sclerosis: a different approach. *Mult Scler Relat Disord* 2019; 32: 1–8.
- Kurth F, Luders E, Sicotte NL et al.: Neuroprotective effects of testosterone treatment in men with multiple sclerosis. *Neuroimage Clin* 2014; 4: 454–460.
- Labombarda F, Jure I, Gonzalez S et al.: A functional progesterone receptor is required for immunomodulation, reduction of reactive gliosis and survival of oligodendrocyte precursors in the injured spinal cord. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2015; 154: 274–284.
- Langrish CL, Chen Y, Blumenschein WM et al.: IL-23 drives a pathogenic T cell population that induces autoimmune inflammation. *J Exp Med* 2005; 201: 233–240.
- Lasrado N, Jia T, Massilamany C et al.: Mechanisms of sex hormones in autoimmunity: focus on EAE. *Biol Sex Differ* 2020; 11: 50.
- Lélu K, Laffont S, Delpy L et al.: Estrogen receptor signaling in T lymphocytes is required for estradiol-mediated inhibition of Th1 and Th17 cell differentiation and protection against experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Immunol* 2011; 187: 2386–2393.
- Liva SM, Voskuhl RR: Testosterone acts directly on CD4<sup>+</sup> T lymphocytes to increase IL-10 production. *J Immunol* 2001; 167: 2060–2067.
- Maglione A, Rolla S, De Mercanti SF et al.: The adaptive immune system in multiple sclerosis: an estrogen-mediated point of view. *Cells* 2019; 8: 1280.
- McGinley AM, Edwards SC, Raverdeau M et al.: Th17 cells,  $\gamma\delta$  T cells and their interplay in EAE and multiple sclerosis. *J Autoimmun* 2018; S0896-8411(18)30007-6.
- Metzger-Peter K, Kremer LD, Edan G et al.: The TOTEM RRMS (Testosterone Treatment on neuroprotection and Myelin Repair in Relapsing Remitting Multiple Sclerosis) trial: study protocol for a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Trials* 2020; 21: 591.
- Monteserín J, de la Calle A, Delgado J et al.: Antigen receptor signaling. *Allergol Immunopathol (Madr)* 1996; 24: 185–192.

- Morales LBJ, Loo KK, Liu HB et al.: Treatment with an estrogen receptor  $\alpha$  ligand is neuroprotective in experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Neurosci* 2006; 26: 6823–6833.
- Morgentaler A, Traish A: The history of testosterone and the evolution of its therapeutic potential. *Sex Med Rev* 2020; 8: 286–296.
- Negron A, Robinson RR, Stüve O et al.: The role of B cells in multiple sclerosis: current and future therapies. *Cell Immunol* 2019; 339: 10–23.
- Ogata T, Nakamura Y, Tsuji K et al.: Steroid hormones protect spinal cord neurons from glutamate toxicity. *Neuroscience* 1993; 55: 445–449.
- Oreja-Guevara C, Ramos-Cejudo J, Aroeira LS et al.: TH1/TH2 cytokine profile in relapsing-remitting multiple sclerosis patients treated with glatiramer acetate or natalizumab. *BMC Neurol* 2012; 12: 95.
- Phiel KL, Henderson RA, Adelman SJ et al.: Differential estrogen receptor gene expression in human peripheral blood mononuclear cell populations. *Immunol Lett* 2005; 97: 107–113.
- Pierdominici M, Maselli A, Colasanti T et al.: Estrogen receptor profiles in human peripheral blood lymphocytes. *Immunol Lett* 2010; 132: 79–85.
- Pozzilli C, Tomassini V, Marinelli F et al.: ‘Gender gap’ in multiple sclerosis: magnetic resonance imaging evidence. *Eur J Neurol* 2003; 10: 95–97.
- Rasika S, Alvarez-Buylla A, Nottebohm F: BDNF mediates the effects of testosterone on the survival of new neurons in an adult brain. *Neuron* 1999; 22: 53–62.
- Ribbons KA, McElduff P, Boz C et al.: Male sex is independently associated with faster disability accumulation in relapse-onset MS but not in primary progressive MS. *PLoS One* 2015; 10: e0122686.
- Rolf L, Damoiseaux J, Hupperts R et al.: Network of nuclear receptor ligands in multiple sclerosis: common pathways and interactions of sex-steroids, corticosteroids and vitamin D<sub>3</sub>-derived molecules. *Autoimmun Rev* 2016; 15: 900–910.
- Saijo K, Collier JG, Li AC et al.: An ADIOL-ER $\beta$ -CtBP transrepression pathway negatively regulates microglia-mediated inflammation. *Cell* 2011; 145: 584–595.
- Sánchez-Ramón S, Navarro AJ, Aristimuño C et al.: Pregnancy-induced expansion of regulatory T-lymphocytes may mediate protection to multiple sclerosis activity. *Immunol Lett* 2005; 96: 195–201.
- Sankaran-Walters S, Macal M, Grishina I et al.: Sex differences matter in the gut: effect on mucosal immune activation and inflammation. *Biol Sex Differ* 2013; 4: 10.
- Schoonheim MM, Popescu V, Rueda Lopes FC et al.: Subcortical atrophy and cognition: sex effects in multiple sclerosis. *Neurology* 2012; 79: 1754–1761.
- Schumacher M, Mattern C, Ghoumari A et al.: Revisiting the roles of progesterone and allopregnanolone in the nervous system: resurgence of the progesterone receptors. *Prog Neurobiol* 2014; 113: 6–39.
- Seillet C, Rouquié N, Foulon E et al.: Estradiol promotes functional responses in inflammatory and steady-state dendritic cells through differential requirement for activation function-1 of estrogen receptor  $\alpha$ . *J Immunol* 2013; 190: 5459–5470.
- Sicotte NL, Giesser BS, Tandon V et al.: Testosterone treatment in multiple sclerosis: a pilot study. *Arch Neurol* 2007; 64: 683–688.
- Spence RD, Voskuhl RR: Neuroprotective effects of estrogens and androgens in CNS inflammation and neurodegeneration. *Front Neuroendocrinol* 2012; 33: 105–115.
- Stojić-Vukanić Z, Pilipović I, Arsenović-Ranin N et al.: Sex-specific remodeling of T-cell compartment with aging: implications for rat susceptibility to central nervous system autoimmune diseases. *Immunol Lett* 2021; 239: 42–59.
- Straub RH: The complex role of estrogens in inflammation. *Endocr Rev* 2007; 28: 521–574.
- Sundström-Poromaa I, Comasco E, Sumner R et al.: Progesterone – friend or foe? *Front Neuroendocrinol* 2020; 59: 100856.
- Tintoré M, Arrambide G: Early onset multiple sclerosis: the role of gender. *J Neurol Sci* 2009; 286: 31–34.
- Tiwari-Woodruff S, Voskuhl RR: Neuroprotective and anti-inflammatory effects of estrogen receptor ligand treatment in mice. *J Neurol Sci* 2009; 286: 81–85.
- Tiwari-Woodruff S, Morales LBJ, Lee R et al.: Differential neuroprotective and anti-inflammatory effects of estrogen receptor (ER) $\alpha$  and ER $\beta$  ligand treatment. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007; 104: 14813–14818.
- Tomassini V, Onesti E, Mainero C et al.: Sex hormones modulate brain damage in multiple sclerosis: MRI evidence. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2005; 76: 272–275.
- Tremlett H, Paty D, Devonshire V: Disability progression in multiple sclerosis is slower than previously reported. *Neurology* 2006; 66: 172–177.
- Chisu V, Manca P, Zedda M et al.: Effects of testosterone on differentiation and oxidative stress resistance in C1300 neuroblastoma cells. *Neuro Endocrinol Lett* 2006; 27: 807–812.
- Viglietta V, Baecher-Allan C, Weiner HL et al.: Loss of functional suppression by CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> regulatory T cells in patients with multiple sclerosis. *J Exp Med* 2004; 199: 971–979.
- Voskuhl RR: The effect of sex on multiple sclerosis risk and disease progression. *Mult Scler* 2020; 26: 554–560.
- Voskuhl RR, Gold SM: Sex-related factors in multiple sclerosis susceptibility and progression. *Nat Rev Neurol* 2012; 8: 255–263.
- Voskuhl RR, Wang H, Wu TCJ et al.: Estriol combined with glatiramer acetate for women with relapsing-remitting multiple sclerosis: a randomised, placebo-controlled, phase 2 trial. *Lancet Neurol* 2016; 15: 35–46.
- Vukusic S, Ionescu I, Cornu C et al.: Oral norgestrel acetate and transdermal 17-beta-estradiol for preventing post-partum relapses in multiple sclerosis: the POPARTMUS study. *Mult Scler* 2021; 27: 1458–1463.
- Vukusic S, Ionescu I, El-Etr M et al.: Prevention of Post-Partum Relapses with Progestin and Estradiol in Multiple Sclerosis Study Group: The Prevention of Post-Partum Relapses with Progestin and Estradiol in Multiple Sclerosis (POPARTMUS) trial: rationale, objectives and state of advancement. *J Neurol Sci* 2009; 286: 114–118.
- Walecki M, Eisel F, Klug J et al.: Androgen receptor modulates *Foxp3* expression in CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup> regulatory T-cells. *Mol Biol Cell* 2015; 26: 2845–2857.
- Wegmann TG, Lin H, Guilbert L et al.: Bidirectional cytokine interactions in the maternal-fetal relationship: is successful pregnancy a T<sub>H</sub>2 phenomenon? *Immunol Today* 1993; 14: 353–356.
- Whitacre CC: Sex differences in autoimmune disease. *Nat Immunol* 2001; 2: 777–780.
- Wing K, Sakaguchi S: Regulatory T cells exert checks and balances on self tolerance and autoimmunity. *Nat Immunol* 2010; 11: 7–13.
- Weinstein Y, Ran S, Segal S: Sex-associated differences in the regulation of immune responses controlled by the MHC of the mouse. *J Immunol* 1984; 132: 656–661.
- Yates MA, Li Y, Chlebeck P et al.: Progesterone treatment reduces disease severity and increases IL-10 in experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Neuroimmunol* 2010; 220: 136–139.
- Yu HJ, Fei J, Chen XS et al.: Progesterone attenuates neurological behavioral deficits of experimental autoimmune encephalomyelitis through remyelination with nucleus-sublocalized Olig1 protein. *Neurosci Lett* 2010; 476: 42–45.
- Zhao Y, Wang J, Liu C et al.: Progesterone influences postischemic synaptogenesis in the CA1 region of the hippocampus in rats. *Synapse* 2011; 65: 880–891.
- Zhou D, Srivastava R, Nessler S et al.: Identification of a pathogenic antibody response to native myelin oligodendrocyte glycoprotein in multiple sclerosis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006; 103: 19057–19062.
- Ziehn MO, Avedisjan AA, Tiwari-Woodruff S et al.: Hippocampal CA1 atrophy and synaptic loss during experimental autoimmune encephalomyelitis, EAE. *Lab Invest* 2010; 90: 774–786.