

ANDROGENI IN RAK ENDOMETRIJA – MOŽNOSTI NOVIH PRISTOPOV ZDRAVLJENJA

ANDROGENS AND ENDOMETRIAL CANCER – POTENTIAL NOVEL THERAPEUTICAL APPROACHES

AVTOR / AUTHOR:

Tamara Knific, mag. farm.
prof. dr. Tea Lanišnik Rižner

*Univerza v Ljubljani, Medicinska fakulteta
Inštitut za biokemijo
Vrazov Trg 2, 1000 Ljubljana*

NASLOV ZA DOPISOVANJE / CORRESPONDENCE:
tamara.knific@mf.uni-lj.si

POVZETEK

Rak endometrija je najpogostejši rak ženskega reprodukcijskega sistema. Bolezen je značilna predvsem za ženske po menopavzi, pojavlja pa se tudi pri ženskah pred menopavzo. Nastanek raka endometrija razlagamo s hipotezo, da povečana koncentracija endogenih ali eksogenih estrogenov ob sočasni zmanjšani koncentraciji progesteronov privede do proliferacije endometrija in do povečanega števila celičnih delitev ter posledično do večje možnosti nastanka genetskih napak, ki vodijo v hiperplazijo endometrija in rak endometrija. V zadnjem času raziskave kažejo, da je rak endometrija povezan tudi z učinki androgenov. Epidemiološke raziskave povezujejo povečane serumske koncentracije androgenov z večjim tveganjem za razvoj raka endometrija, medtem ko raziskave na celičnih linijah in vzorcih tkiva kažejo na zaščitno vlogo androgenov pri razvoju tega raka. Vloga androgenov pri raku endometrija trenutno še ni v celoti pojasnjena. Potrebne so dodatne raziskave, ki bodo opredelile natančen mehanizem delovanja in vlogo androgenov pri razvoju in napredovanju raka endometrija, kar bo v prihodnje omogočilo nove možnosti zdravljenja te bolezni.

KLJUČNE BESEDE:

encimi, androgeni, metabolizem, rak endometrija, receptor za androgene

ABSTRACT

Endometrial cancer is the most common female gynecological malignancy, with the vast majority of cases arising in women after menopause and with lower incidence in premenopausal women. Development of endometrial cancer is usually explained with the unopposed estrogen hypothesis, which proposes that exposure to estrogens that is not opposed by progesterone stimulates proliferation of endometrium and increases DNA replication errors. This may lead to endometrial hyperplasia and cancer. Studies from the last years suggest that also androgens are implicated. Epidemiological data show associations between the increased serum levels of androgens and increased risk of endometrial cancer, although studies on cell lines and cancerous tissue reveal their protective role. The role

of androgens in the development of endometrial cancer has not yet been fully elucidated. Further studies are needed to better understand the mechanisms and role of androgens in the development and progression of endometrial cancer that could lead to identification of potential novel treatment of this disease.

KEY WORDS:

androgens, androgen receptor, endometrial cancer, enzymes, metabolism

1 RAK ENDOMETRIJA

Rak endometrija je peti najpogostejši rak pri ženskah v Sloveniji z največjo pojavnostjo med 50. in 64. letom (1). V svetovnem merilu na letni ravni zbolijo več kot 320.000 žensk, od teh jih 70.000 umre. Incidenca je večja v razvitih regijah kot v manj razvitih državah (2). Na podlagi kliničnih in histopatoloških značilnosti lahko rak endometrija delimo v dve obliki. Večino sporadičnih primerov (80-90 %) predstavlja dobro diferenciran in od estrogenov odvisen tip 1, ki se razvije prek hiperplazije endometrija in je značilen tako za ženske pred menopavzo kot tudi po njej. Tip 2, ki naj ne bi bil odvisen od estrogenov in je značilen predvsem za starejše ženske po menopavzi, se razvije *de novo* iz atrofičnega endometrija z mutacijami genov, ki zavirajo rast tumorja, in ima slabšo napoved o izidu bolezni (3). Poznamo tudi gensko pogojeno obliko raka endometrija, pri kateri gre za mutacije v genih popravljanih mehanizmov DNA, za tako imenovani Lynchev sindrom (4). Integrirani genovski, transkriptomski in proteomski pristop je leta 2013 privedel do nove razvrstitve raka endometrija v štiri skupine (preglednica 1) (5).

Dejavniki tveganja za razvoj raka endometrija so debelost, sladkorna bolezen, arterijska hipertenzija, zgodnja prva menstruacija in/ali pozna menopavza, izostanek ovulacije, hiperandrogenizem, uporaba eksogenih estrogenov ali prekomerna tvorba endogenih estrogenov (3, 6). Številni dejavniki tveganja tako potrjujejo splošno uveljavljeno hipotezo, da kronična izpostavljenost estrogenom brez zaščitnega delovanja progesterona ali progestinov vodi v razvoj raka endometrija (7). V zadnjem času mnoge raziskave kažejo, da se tudi androgeni vpletajo v razvoj raka endometrija, vendar njihova vloga še ni v celoti raziskana. Boljše razumevanje vloge androgenov bo tako prispevalo k odkritju novih možnosti zdravljenja, saj bi encimi biosinteze in metabolizma androgenov ter receptorji za androgene lahko predstavljali nove tarče za razvoj zdravilnih učinkovin (8).

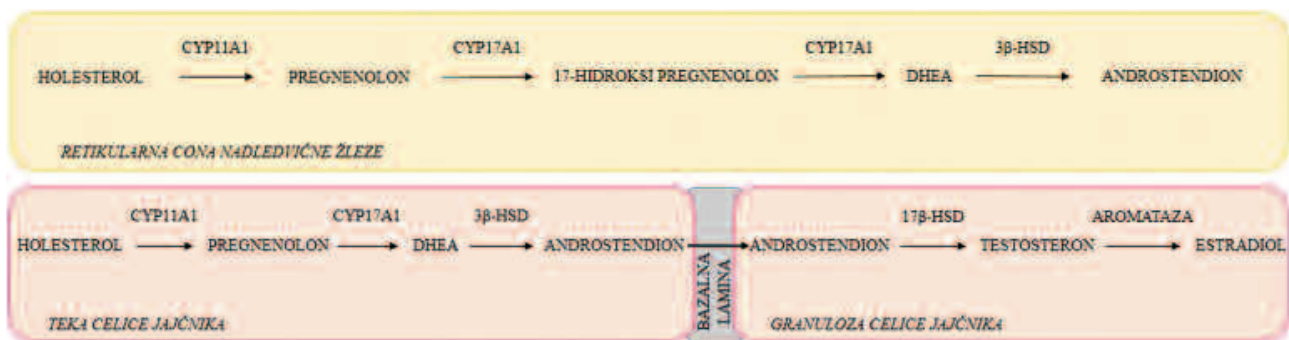
2 SINTEZA ANDROGENOV IN NJIHOVO DELOVANJE

Pri ženskah poteka sinteza androgenov v skorji nadledvične žleze in v jajčnikih (slika 1). V retikularni coni nadledvične žleze se iz holesterola s pomočjo holesterol-dezmozolaze (CYP11A1) sintetizira pregnenolon. Sledi pretvorba pregnenolona v dehidroepiandrosteron z mikrosomalnim encimom CYP17A1, ki deluje kot 17 α -hidroksilaza in tako pretvori pregnenolon v 17-hidroksipregnenolon, deluje pa tudi kot 17,20-liaza in tako pretvori 17-hidroksipregnenolon v dehidroepiandrosteron (9). Dehidroepiandrosteron se s pomočjo 3 β -hidroksisteroid-dehidrogenaze (3 β -HSD) tipa 2 pretvori v androstendion (10) (slika 1). V nadledvični žlezi poteka tudi konjugacija androgenov s sulfatom in glukuronsko kislino. Tako nastali metaboliti se izločijo iz organizma. V rodni dobi se androgeni sintetizirajo tudi v jajčnikih, v katerih poteka sinteza iz holesterola do androstendiona v ce-

Preglednica 1: Delitev raka endometrija na podlagi integriranega pristopa (5).

| SKUPINA | ODSTOTEK |
|---|----------|
| Rak z zelo velikim številom mutacij, vključujoč mutacije v DNA-polimerazi epsilon | 7 % |
| Rak z velikim številom mutacij zaradi nestabilnosti v popravljanih mehanizmih DNA in mikrosatelitih | 28 % |
| Rak z manj spremembami v številu kopij DNA | 39 % |
| Rak z več spremembami v številu kopij DNA | 26 % |



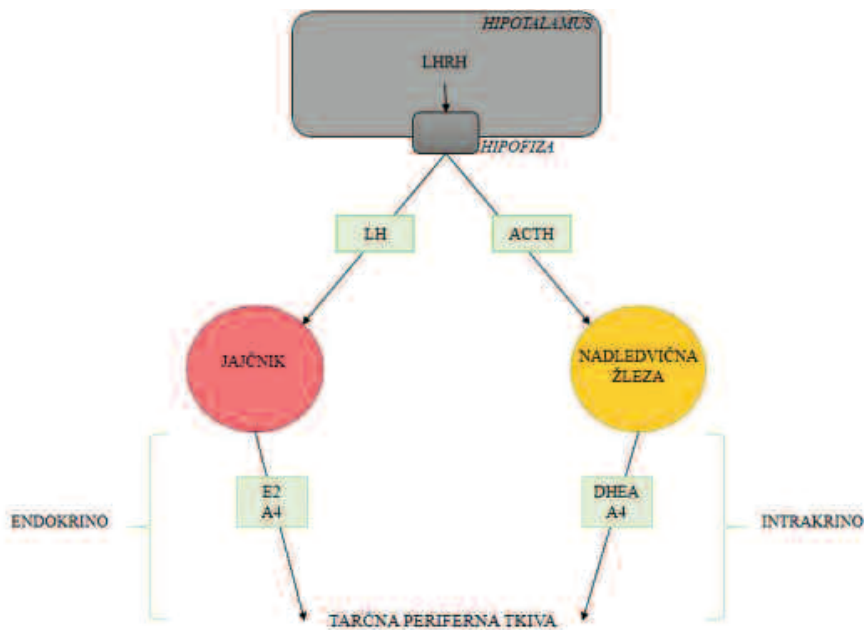


Slika 1: Sinteza androgenov v nadledvični žlezi in jajčnikih. 3β-HSD - 3β-hidroksisteroid-dehidrogenaza; 17β-HSD - 17β-hidroksisteroid-dehidrogenaza; CYP11A1 - holesterol-dezmolaza; CYP17A1 - 17α-hidroksilaza; DHEA - dehidroepiandrosteron.

Figure 1: Androgen synthesis in adrenal gland and the ovaries. 3β-HSD - 3β-hydroxysteroid dehydrogenase; 17β-HSD - 17β-hydroxysteroid dehydrogenase; CYP11A1 - cholesterol desmolase; CYP17A1 - 17α-hydroxylase; DHEA - dehydroepiandrosterone.

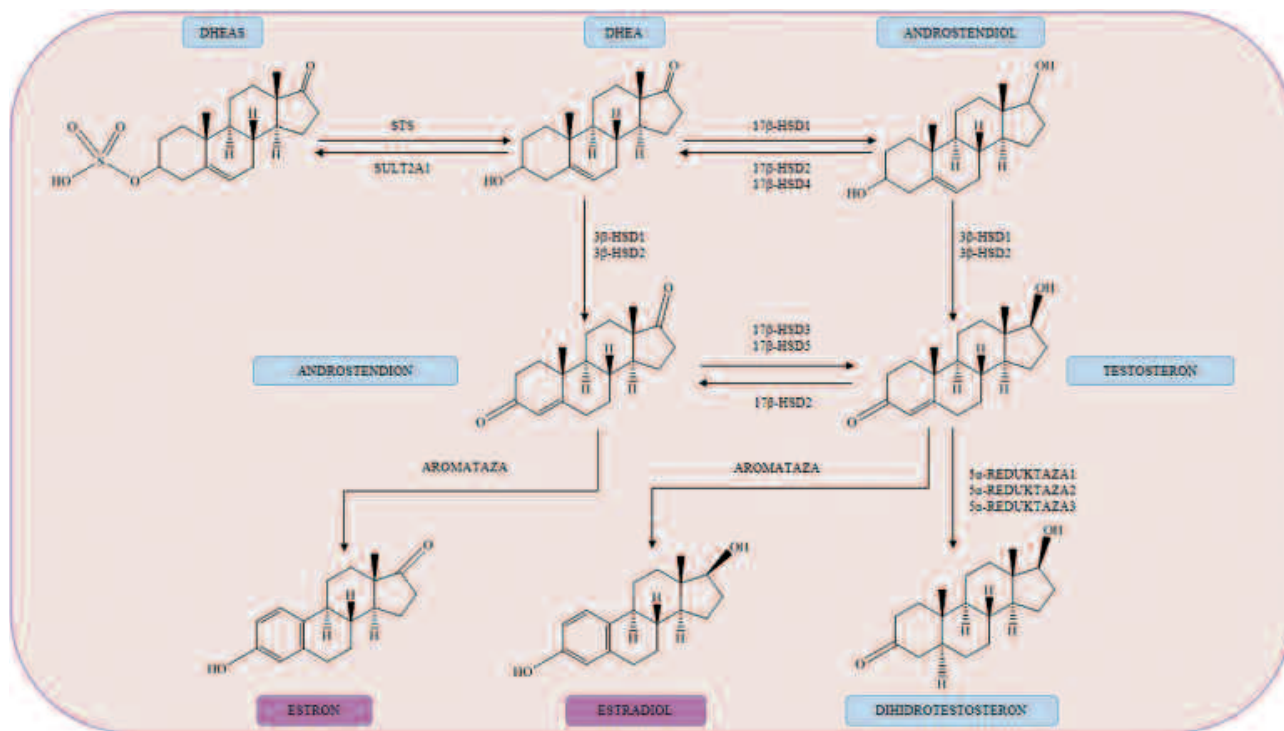
licah teke pod vplivom luteinizirajočega hormona (LH) s pomočjo encimov CYP11A1, CYP17A1 in 3β-HSD tipa 2. V celicah granuloze se s pomočjo encima aromataze iz androstendiona sintetizira estron, 17β-hidroksisteroid-dehidrogenaza (17β-HSD) tipa 1 pa katalizira redukcijo estrona v estradiol (11) (slika 1).

Po menopavzi poteka sinteza spolnih hormonov v perifernih tkivih, predvsem v maščevju (slika 2) (12). Androgeni se v teh perifernih tkivih lahko tvorijo iz neaktivne prekursorske molekule, kot je dehidroepiandrosteron sulfat. S pomočjo sulfataze se dehidroepiandrosteron sulfat pretvori v dehidroepiandrosteron, ta pa se nadalje pretvori s



Slika 2: Sinteza androgenov pri ženskah. A4 - androstendion; ACTH - adrenokortikotropni hormon; DHEA - dehidroepiandrosteron; E2 - estradiol; LH - luteinizirajoči hormon; LHRH - luteotropin sproščajoči hormon.

Figure 2: Androgen synthesis in women. A4 - androstenedione; ACTH - adrenocorticotrophic hormone; DHEA - dehydroepiandrosterone; E2 - estradiol; LH - luteinizing hormone; LHRH - luteinizing hormone releasing hormone.



Slika 3: Sinteza in metabolizem androgenov v perifernih tkivih. 3β -HSD - 3β -hidroksisteroid-dehidrogenaza; 17β -HSD - 17β -hidroksisteroid-dehidrogenaza; DHEA - dehidroepiandrosteron; DHEAS - dehidroepiandrosteron sulfat; STS - sulfataza; SULT2A1 - sulfotransferaza. **Figure 3:** Androgen synthesis and metabolism in peripheral tissue. 3β -hydroxysteroid dehydrogenase; 17β -HSD - 17β -hydroxysteroid dehydrogenase; DHEA - dehydroepiandrosterone; DHEAS - dehydroepiandrosterone sulfate; STS - steroid sulfatase; SULT2A1 - sulfotransferase.

pomočjo encimov 3β -HSD tipov 1 in 2, 17β -HSD tipa 5 ter 5α -reduktaze tipov 1 in 2 v androstendion, testosteron in 5α -dihidrotestosteron (slika 3). Testosteron in dihidrotestosteron imata največjo afiniteto za vezavo na receptor za androgene ($K_d = 10^{-9}$ M in 10^{-11} M), medtem ko imata androstendion ter dehidroepiandrosteron majhno afiniteto vezave za receptor za androgene (13).

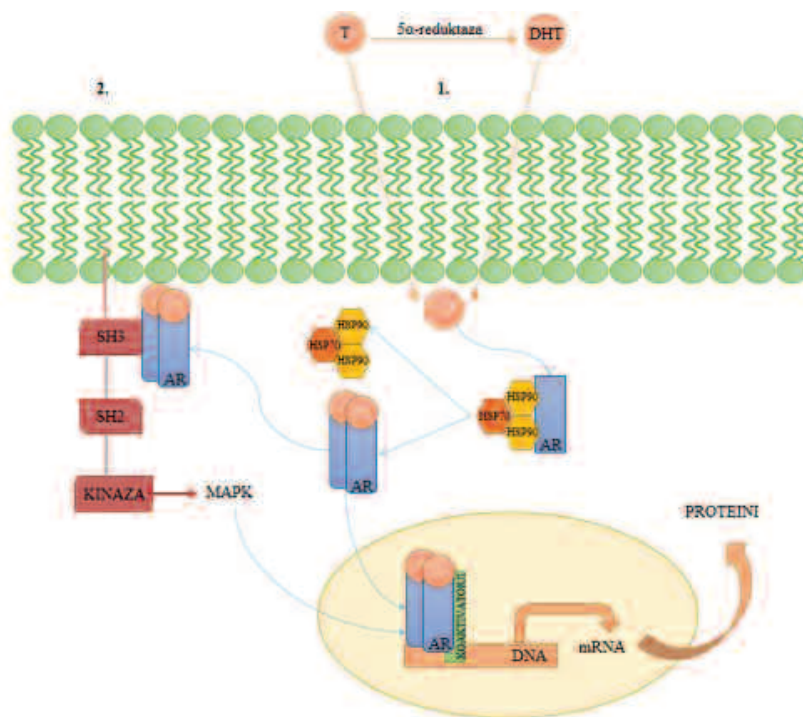
Receptor za androgen spada v skupino steroidnih jedrnih receptorjev in deluje kot transkripcijski dejavnik (14). Primarni mehanizem delovanja androgenov tako predstavlja neposredna aktivacija receptorja in posledično uravnavanje izražanja genov (slika 4). Protein receptorja za androgene je sestavljen iz štirih domen: iz N-terminalne domene, DNA-vezavne domene, fleksibilne domene in domene za vezavo liganda (15). Doslej so opisali dve izoobliki: A (87 kDa) in B (110 kDa), ki se razlikujeta v številu aminokislin na N-terminalnem delu (16). Genomske mehanizme delovanja androgenov prikazuje slika 4.

Izsledki nedavnih raziskav dokazujejo, da lahko androgeni delujejo tudi brez neposredne vezave na receptor in vpliva na

izražanje genov. Androgeni lahko stimulirajo kaskadne reakcije sekundarnih prenašalcev prek različnih mehanizmov (slika 5).

3 VLOGA ANDROGENOV PRI ŽENSKAH

Androgene poznamo predvsem kot moške spolne hormone, vendar imajo pomembne vloge tudi pri ženskah (18-20). Raziskave kažejo, da ne predstavljajo le izhodnih spojin v sintezi estrogenov, ampak da lahko delujejo tudi prek aktivacije receptorja za androgene. Pri ženskah pred menopavzo in po njej se v krvi nahajajo različne koncentracije androgenov oziroma prekurzorjev androgenov, prohormonov, ki se aktivirajo v perifernem tkivu (21). Največ je dehidroepiandrosteron sulfata, sledita pa dehidroepiandrosteron in androstendion (preglednica 2). Pri ženskah v rodni dobi je raven androgenov povezana s fazo men-



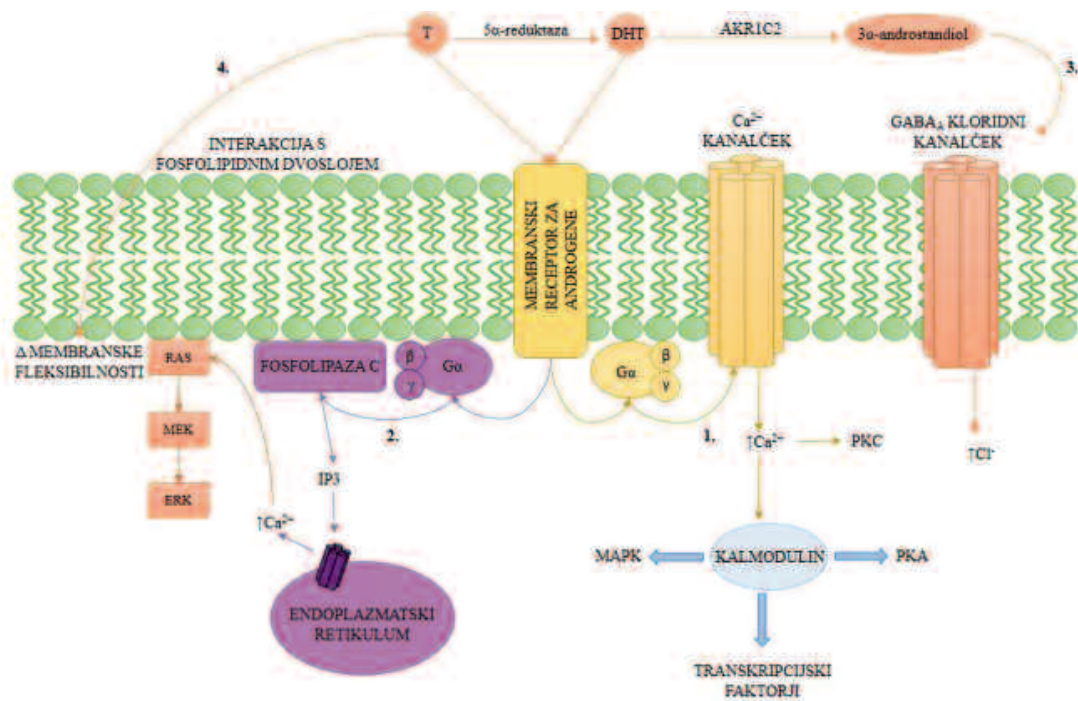
Slika 4: GENOMSKI MEHANIZMI DELOVANJA ANDROGENOV 1. Testosteron ali njegov aktivni metabolit dihidrotestosteron lahko prosto prehajata skozi celično membrano in se vežeta na receptor za androgene v citoplazmi. Po vezavi androgena na receptor za androgene potečejo disociacija proteinov toplotnega šoka, dimerizacija in translokacija v jedro. Nastali dimer se veže na hormonsko odzivni element na DNA, sledi vezava koaktivatorjev ali korepresorjev, ki tako uravnava izražanje tarčnih genov. Povečana aktivacija transkripcije se odraža v povečani količini mRNA in sintezi specifičnih proteinov (17). 2. Po vezavi androgena na receptor za androgene lahko nastali kompleks interagira z SH3 domeno tirozin-kinaze c-Src in tako aktivira z mitogenom aktivirano protein-kinazno pot (prirejeno po (61)). AR - receptor za androgene; DHT - dihidrotestosteron; HSP - proteini toplotnega šoka; MAPK - z mitogenom aktivirana protein-kinaza; T - testosteron.

Figure 4: GENOMIC ACTIONS OF ANDROGENS 1. Testosterone and its active metabolite dihydrotestosterone can diffuse through the membrane and can bind to cytosolic androgen receptor, which leads to dissociation of heat shock proteins, formation of a dimer and translocation to the nucleus. The dimer then binds to hormone responsive elements on DNA, recruits cofactors and regulates gene transcription. Increased activation of transcription results in an increase of mRNA and the synthesis of specific proteins (17). 2. The dimer can also interact with SH3 domain of the tyrosine kinase c-Src and can thus activate mitogen-activated protein kinase pathway (adapted from (61)). AR - androgen receptor; DHT - dihydrotestosterone; HSP - heat shock proteins; MAPK - mitogen-activated protein kinase; T - testosterone.

struacijskega cikla. Največje tkivne koncentracije androgenov, predvsem testosterona in androstendiona, so opazili na sredini menstruacijskega cikla, med ovulacijo (22). Z imunohistokemijskim barvanjem so preverili tudi izražanje receptorja za androgene v endometriju in opazili njegovo visoko raven med proliferativno fazo in nizko raven med sekretorno fazo menstruacijskega cikla (23). Tovrstne raziskave torej kažejo, da se tako koncentracije androgenov kot tudi izražanje receptorja za androgene ciklično spreminjajo, vendar vloga androgenov v menstruacijskem ciklu še ni dovolj pojasnjena.

Spremembe v koncentracijah androgenov v krvi pri ženskah povezujejo tudi s številnimi boleznimi, kot sta na primer de-

presija in Alzheimerjeva bolezen, ter stanji, na primer s spolno močjo in splošno telesno zmogljivostjo. Zmanjšane koncentracije testosterona pri ženskah povezujejo s povečano dovzetnostjo za zlome kosti, medtem ko povečane koncentracije povezujejo z zmanjšano odpornostjo na inzulin in z večjim tveganjem za razvoj bolezni srca in ožilja (24). Androgeni so povezani tudi s sindromom policističnih jajčnikov, pri čemer povečana sinteza in/ali občutljivost na androgene vodi v hirsutizem (25). Avstralska populacijska raziskava je pokazala, da imajo bolnice s sindromom policističnih jajčnikov štirikrat večje tveganje za razvoj raka endometrija v primerjavi z zdravimi ženskami (26). Pri ženskah androgene povezujejo tudi z rakom dojke in rakom endometrija (24, 27).



Slika 5: NEGENOMSKI MEHANIZMI DELOVANJA ANDROGENOV 1. Vezava androgena na membranski receptor za androgene, sklopljen z G-proteini, vodi v aktivacijo kalcijevega kanalčka. Povečanje znotrajcelične koncentracije kalcija lahko aktivira protein-kinazo C, prek kalmodulina pa protein-kinazo A in z mitogenom aktivirano protein-kinazno pot ter tako prek fosforilacije vpliva na gensko transkripcijo. 2. Androgeni po vezavi in aktivaciji membranskega receptorja za androgene lahko vplivajo na aktivnost fosfolipaze C. Povečanje znotrajcelične koncentracije inozitol trifosfata vodi v sprostitvev znotrajceličnih zalog kalcija iz endoplazemskega retikuluma in aktivacijo poti RAS/MEK/ERK. 3. Dihidrotestosteron se lahko s pomočjo aldo-keto reduktaze 1C2 reducira v 3 α -androstandiol, ki lahko interagira z receptorjem γ -maslene kisline in tako poveča vnos kloridnih ionov v celico ter vpliva na membranski potencial. 4. Androgeni so lipofilne molekule, interagirajo s fosfolipidnim dvoslojem in vplivajo na fleksibilnost celične membrane ter posledično tudi na aktivnost Na⁺/K⁺ ter Ca²⁺ ATPaze (prirejeno po (61)). AKR1C2 - aldo-keto reduktaza; DHT - dihidrotestosteron; ERK - z zunajceličnimi signali uravnana kinaza; GABA - γ -maslena kislina; IP3 - inozitol trifosfat; MAPK - z mitogenom aktivirana protein-kinaza; MEK - z mitogenom aktivirana protein-kinaza; PKA - protein-kinaza A; PKC - protein-kinaza C; RAS - GTPaza; T - testosteron.

Figure 5: NON-GENOMIC ACTIONS OF ANDROGENS 1. Androgens can bind to G-protein coupled membrane androgen receptor, which leads to activation of a calcium channel. An increase in intracellular calcium can activate protein kinase C and through calmodulin can activate protein kinase A and mitogen-activated protein kinase, and can further modulate gene transcription. 2. The activation of membrane androgen receptor can also affect the activity of phospholipase C. Increase in inositol trisphosphate leads to intracellular release of calcium from the endoplasmic reticulum and activation of mitogen-activated/extracellular signal-regulated kinase pathway. 3. Aldo-keto reductase 1C2 catalyses the reduction of dihydrotestosterone to 3 α -androstandiol which can interact with γ -aminobutyric acid receptor and can thus increase the influx of chloride ions and affect the membrane potential. 4. Androgens are lipophilic and can therefore interact with lipid bilayer, which affects membrane fluidity and also the activity of sodium/potassium and calcium ATPase (adapted from (61)). AKR1C2 - aldo-keto reductase; DHT - dihydrotestosterone; ERK - extracellular signal-regulated kinase; GABA - γ -aminobutyric acid; IP3 - inositol trisphosphate; MAPK - mitogen-activated protein kinase; MEK - mitogen-activated protein kinase kinase; PKA - protein kinase A; PKC - protein kinase C; RAS - GTPase; T - testosterone.

4 VLOGA ANDROGENOV PRI RAKU ENDOMETRIJA

V tkivu endometrija so dokazali pretvorbo dehidroepiandrosteron sulfata v dehidroepiandrosteron, androstendion,

testosteron in dihidrotestosteron, kar potrjuje lokalno sintezo aktivnih androgenov v tem perifernem tkivu (28). Testosteron in androstendion sta substrata aromataze, ki katalizira njuno pretvorbo v estradiol in estron (29, 30). Androgeni so torej izhodne spojine v sintezi mitogenih estrogenov, tudi sami pa imajo pomembno vlogo v patofiziologiji raka endometrija. Spremenjeno patofiziološko sta-

Preglednica 2: Serumske koncentracije androgenov pri ženskah pred menopavzo in po njej (prirejeno po (21)).

| Steroidi | Pred menopavzo povprečna srednja vrednost \pm SD | Po menopavzi povprečna srednja vrednost \pm SD |
|------------------------------|---|---|
| Dehidroepiandrosteron sulfat | 3,44 \pm 1,68 μ M | 1,60 \pm 0,98 μ M |
| Dehidroepiandrosteron | 15,50 \pm 7,59 nM | 6,76 \pm 4,09 nM |
| Androstendion | 3,35 \pm 1,22 nM | 1,39 \pm 0,63 nM |
| Testosteron | 0,62 \pm 0,24 nM | 0,49 \pm 0,24 nM |
| Dihidrotestosteron | 241,05 \pm 103,31 pM | 137,74 \pm 103,31 pM |

nje namreč lahko vpliva na izražanje genov, ki kodirajo encime biosinteze in metabolizma androgenov, in tako posledično vpliva tudi na obseg učinkov androgenov (8). Kljub temu, da so pri raku endometrija do sedaj proučevali predvsem metabolizem estrogenov, raziskovalci v zadnjih letih vse več pozornosti posvečajo tudi vlogi androgenov (slika 3).

4.1. POVEZAVA MED ANDROGENI IN RAKOM ENDOMETRIJA

Rak endometrija je značilen predvsem za ženske po menopavzi, torej v obdobju, ko so koncentracije estrogenov v krvi zmanjšane, medtem ko raven testosterona v krvi ostane dalj časa nespremenjena (31). Aktivni androgeni se v menopavzi sintetizirajo predvsem lokalno, v perifernih tarčnih tkivih, tudi v endometriju in maščevju (slika 3) (32). Maščevje je v tem življenjskem obdobju primarni vir sinteze estrogenov in androgenov (33). Pred leti so določevali serumske koncentracije androgenov pri ženskah z normalnim menstrualnim ciklom in ekstremno povečanim indeksom telesne mase (ITM). Ugotovili so, da je bila koncentracija testosterona in dihidrotestosterona pri teh ženskah dvakrat večja v primerjavi s kontrolno skupino žensk, prav tako je bila povečana tudi konjugacija androgenov. Kljub povečanemu očistku androgenov povečana serumska koncentracija androgenov nakazuje, da je debelost hiperandrogeno stanje (34). Raziskava EPIC (*European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition*), ki je zajela 233 bolnic z rakom endometrija in 446 bolnic kontrolne skupine, je povezavo med androgeni in debelostjo potrdila, saj je pokazala, da so večje serumske koncentracije testosterona povezane s povečanim ITM. Pri ženskah po menopavzi pa je bil povečan ITM povezan s povečanim tveganjem za razvoj raka endometrija (35).

Tudi druge epidemiološke raziskave nakazujejo povezavo med androgeni in rakom endometrija. Kaaks je leta 2002 s sodelavci pregledal vrsto raziskav o vplivu androgenov na razvoj raka endometrija in ugotovil, da je tveganje pri ženskah pred menopavzo in po njej povezano s povečano serumsko koncentracijo testosterona in androstendiona (36). V večini teh raziskav so koncentracije steroidnih hormonov določali z imunološkimi metodami (RIA, LIA), ki so omejene s specifičnostjo protiteles in pogosto ne omogočajo prepoznavanja med posameznimi stereoisomeri. Imunološke metode sta v zadnjem desetletju nadomestili plinska in tekočinska kromatografija, sklopljeni s tandemsko masno spektrometrijo (GC-MS/MS ali LC-MS/MS), ki predstavljata zlati standard določanja koncentracije steroidnih hormonov (37). Mnoge novejšje raziskave potrjujejo, da so povečane serumske koncentracije androgenov povezane s povišanim tveganjem za razvoj raka endometrija (27, 35, 38). Rezultati nedavne raziskave pa razkrivajo, da je povezava med krvnimi koncentracijami testosterona in tveganjem za rak endometrija značilna samo za ženske po menopavzi (39). Skupina Audet-Walsh s sodelavci je pred kratkim z LC-MS/MS določila serumske koncentracije 18 steroidov in ugotovila, da so koncentracije dehidroepiandrosteron sulfata, dehidroepiandrosterona, androstendiona, testosterona in dihidrotestosterona značilno povečane pri bolnicah z rakom endometrija v primerjavi s kontrolno skupino bolnic (38). Epidemiološke raziskave, izvedene z ustreznimi metodološkimi pristopi, torej potrjujejo, da so povečane koncentracije androgenov povezane s povečanim tveganjem za razvoj raka endometrija.

Povezavo androgenov z rakom endometrija so proučevali tudi na ravni tkiva. Naša skupina je pokazala, da je v tkivu raka endometrija prisotna 17β -hidroksisteroid-dehidrogenaza tipa 5, poznana tudi kot AKR1C3, ki katalizira reduk-

cijo androstendiona v biološko bolj aktiven testosteron (40). Ito s sodelavci je z imunohistološkim barvanjem pokazal, da sta v rakavem tkivu endometrija prisotni tudi 5 α -reduktaza tipov 1 in 2, ki pretvorita testosteron v najaktivnejši androgen dihidrotestosteron (41). Pred kratkim je ista skupina ugotovila, da so njune koncentracije večje v rakavem endometrijskem tkivu v primerjavi z normalnim endometrijskim tkivom, čeprav te razlike niso bile statistično značilne (42). Odsotnost receptorja za androgene in 5 α -reduktaze tipa 1 v rakavem tkivu bolnic je bila v tem primeru povezana z najslabšo prognozo bolnic.

Androgeni, ki se sintetizirajo v samem tkivu endometrija, delujejo predvsem prek receptorjev za androgene. Ti so v endometriju izraženi med celotnim menstruacijskim ciklom (23, 43). Raziskav, ki bi kazale neposredno povezavo med receptorjem in rakom endometrija, pa je malo. S pozitivno imunohistokemijsko reakcijo so dokazali njegovo prisotnost pri endometriodnih adenokarcinomih stadijev I in II (23, 44). Ugotovili so, da pri napredovanih oblikah raka in pri slabo diferenciranih oblikah receptor za androgene ni prisoten (45). Nedavna raziskava je razkrila, da je receptor za androgene bolj izražen v endometriju po menopavzi, njegovo izražanje pa je sovpadalo z zmanjšano proliferacijo. Tudi v tej raziskavi so ugotovili, da receptor za androgene pri bolj agresivnih oblikah raka endometrija ni prisoten, njegova odsotnost pa je bila povezana tudi z značilno krajšim obdobjem brez bolezni (46, 47). Pri raku endometrija so proučevali tudi najbolj raziskan polimorfizem receptorja za androgene. Gre za ponavljajočo se sekvenco CAG v delu gena, ki kodira N-terminalno domeno (48). Večje število ponovitev CAG in GGN v tej domeni so povezali z manjšo aktivacijsko sposobnostjo receptorja za androgene in z napredovanim stadijem raka endometrija (49). Rak endometrija so povezali tudi z epigenetskimi spremembami, kot je na primer hipermetilacija otočkov CpG gena *AR*, ki vodi v njegovo zmanjšano izražanje (50).

4.2. ZAŠČITNA VLOGA ANDROGENOV PRI RAZVOJU RAKA ENDOMETRIJA

Kljub povezavi povečanih serumskih koncentracij androgenov s povečano pojavnostjo raka endometrija zgoraj navedene raziskave kažejo, da imajo androgeni v rakavem tkivu najverjetneje zaščitno vlogo, in tako receptor za androgene predstavlja možno tarčo za zdravljenje raka endometrija. V skladu s temi rezultati so že pred 20 leti na celični liniji raka endometrija MFE-296 pokazali, da vezava dihidrotestosterona na receptor zavira proliferacijo teh celic (51, 52). Te rezultate potrjuje tudi raziskava uporabe androgenov pri ženskah po menopavzi, ki je pokazala, da testosteron undekanoat ne stimulira samega endometrijskega tkiva in celo zmanjša proliferativni učinek estradiol valerata (53). Zaščitno vlogo androgenov podpirajo tudi primeri uporabe nadfizioloških koncentracij testosterona pri menjavi spola, ki so vodili v atrofijo endometrija (54), in uporaba dehidroepiandrosterona za blaženje simptomov menopavze z opaženo atrofijo endometrija po 52 tednih uporabe (55).

Mehanizme zaščitnega delovanja androgenov so delno razkrile raziskave s celičnimi kulturami. V primarnih endometrijskih stromalnih celicah je dihidrotestosteron z aktivacijo receptorja vplival na izražanje genov, ki so udeleženi pri proliferaciji, migraciji in celičnem preživetju. Gre torej za procese, ki so v tumorskem tkivu največkrat spremenjeni in kažejo na povezavo med androgeni ter malignimi obolenji (23). Zanimiv je primer ciklina D1 (*CCND1*), ki je bil manj izražen ob prisotnosti dihidrotestosterona. Ciklin D1 je pomemben predvsem pri uravnavanju celičnega cikla. Povečano izražanje ciklina D1 so povezali s številnimi vrstami raka, tudi z rakom endometrija (56). Povezavo med ciklinom D1 in rakom endometrija pojasnjuje tudi raziskava vpliva tamoksifena na epiteljsko celično linijo Ishikawa, ki izvira iz delno diferenciranega endometrioidnega adenokarcinoma gradusa II (57).

Uporaba tamoksifena, sinteznega selektivnega modulatorja receptorjev za estrogene, je namreč povezana s povišanim tveganjem za razvoj raka endometrija (58). Tamoksifen je v celični liniji Ishikawa statistično značilno povečal izražanje gena *CCND1* (59) in tako omogočil prehod iz faze G1 v fazo S. Povezavo med androgeni in ciklinom D1 pa so dokazali v modelni celični liniji raka dojke, v kateri je vezava dihidrotestosterona na receptor za androgene preprečila izražanje gena *CCND1* in posledično sintezo ciklina D1 (60). Povezavo med večjimi serumskimi koncentracijami androgenov in pojavnostjo raka endometrija bi lahko delno razložili z vlogo androgenov kot izhodnih spojin v sintezi estrogenov. Seveda pa lahko androgeni delujejo tudi z aktivacijo znotrajceličnih signalnih poti prek membranskih z G-proteini sklopljenih receptorjev ali z aktivacijo tirozin-kinaze c-Src, vendar ti negenomske mehanizmi delovanja androgenov pri raku endometrija še niso raziskani.

5 ZAKLJUČEK

Mnoge raziskave potrjujejo, da obstaja povezava med androgeni in rakom endometrija, vendar vloga androgenov pri tem še ni povsem raziskana. Epidemiološke raziskave kažejo povezavo med povečanimi serumskimi koncentracijami androgenov in povečano pojavnostjo raka endometrija.

cijami androgenov in tveganjem za razvoj raka, medtem ko raziskave na modelnih celičnih linijah raka endometrija in na vzorcih tkiva nakazujejo, da imajo androgeni zaščitno vlogo. Potrebne so nadaljnje raziskave, ki bodo z uporabo ustreznih modelnih celičnih linij in z raziskavami na vzorcih tkiva razjasnile genomske in negenomske učinke androgenov ter tako natančno opredelile vlogo androgenov pri raku endometrija. Ali se v razvoj raka endometrija vpleta tudi aktivacija membranskega receptorja za androgene in posledičen vpliv na znotrajcelično homeostazo kalcija in številne druge signalne poti? Ali pa so androgeni zgolj izhodne spojine za sintezo estrogenov? Vlogo androgenov pri raku endometrija bo torej treba še dodobra proučiti, kar pa bo zagotovo odprlo pot možnim novim pristopom zdravljenja.

6 LITERATURA

1. Inštitut O. Register raka RS 2012. Dostop: 3-8-2016.
2. Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R et al. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *Int J Cancer* 2015; 136(5): E359-386.
3. Sonoda Y, Barakat RR. Screening and the prevention of gynecologic cancer: endometrial cancer. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2006; 20(2): 363-377.
4. Meyer LA, Broaddus RR, Lu KH. Endometrial cancer and Lynch syndrome: clinical and pathologic considerations. *Cancer Control* 2009; 16(1): 14-22.
5. Kandath C, Schultz N, Cherniack AD et al. Integrated genomic characterization of endometrial carcinoma. *Nature* 2013; 497(7447): 67-73.
6. Schindler AE. Progestogen deficiency and endometrial cancer risk. *Maturitas* 2009; 62(4): 334-337.
7. Key TJ, Pike MC. The dose-effect relationship between 'unopposed' oestrogens and endometrial mitotic rate: its central role in explaining and predicting endometrial cancer risk. *Br J Cancer* 1988; 57(2): 205-212.
8. Gibson DA, Simitsidellis I, Collins F et al. Evidence of androgen action in endometrial and ovarian cancers. *Endocr Relat Cancer* 2014; 21(4): T203-218.
9. Ortsäter H, Sjöholm AK, Rafacho A. Regulation of Glucocorticoid Receptor Signaling and the Diabetogenic Effects of Glucocorticoid Excess. In: Magdeldin S. State of the Art of Therapeutic Endocrinology. *InTech* 2012; 1-28.
10. Ota T, Doi M, Yamazaki F et al. Angiotensin II triggers expression of the adrenal gland zona glomerulosa-specific 3 β -hydroxysteroid dehydrogenase isoenzyme through de novo protein synthesis of the orphan nuclear receptors NGFIIB and NURR1. *Mol Cell Biol* 2014; 34(20): 3880-3894.
11. Young JM, McNeilly AS. Theca: the forgotten cell of the ovarian follicle. *Reproduction* 2010; 140(4): 489-504.
12. Labrie F, Luu-The V, Lin SX et al. Role of 17 beta-hydroxysteroid dehydrogenases in sex steroid formation in peripheral intracrine tissues. *Trends Endocrinol Metab* 2000; 11(10): 421-427.
13. Avancès C, Georget V, Térouanne B et al. Human prostatic cell line PNT1A, a useful tool for studying androgen receptor transcriptional activity and its differential subnuclear localization in the presence of androgens and antiandrogens. *Mol Cell Endocrinol* 2001; 184(1-2): 13-24.
14. Chang C, Saltzman A, Yeh S et al. Androgen receptor: an overview. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr* 1995; 5(2): 97-125.
15. Gelmann EP. Molecular biology of the androgen receptor. *J Clin Oncol* 2002; 20(13): 3001-3015.
16. Wilson CM, McPhaul MJ. A and B forms of the androgen receptor are present in human genital skin fibroblasts. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91(4): 1234-1238.
17. Rahmani AH, Alzohairy M, Babiker AY et al. Implication of androgen receptor in urinary bladder cancer: a critical mini review. *Int J Mol Epidemiol Genet* 2013; 4(3): 150-155.
18. Horie K, Takakura K, Imai K et al. Immunohistochemical localization of androgen receptor in the human endometrium, decidua, placenta and pathological conditions of the endometrium. *Hum Reprod* 1992; 7(10): 1461-1466.
19. Prodi G, Nicoletti G, De Giovanni C et al. Multiple steroid hormone receptors in normal and abnormal human endometrium. *J Cancer Res Clin Oncol* 1980; 98(2): 173-183.
20. Mertens HJ, Heineman MJ, Koudstaal J et al. Androgen receptor content in human endometrium. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1996; 70(1): 11-13.
21. Labrie F, Bélanger A, Bélanger P et al. Androgen glucuronides, instead of testosterone, as the new markers of androgenic activity in women. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2006; 99(4-5): 182-188.
22. Cloke B, Christian M. The role of androgens and the androgen receptor in cycling endometrium. *Mol Cell Endocrinol* 2012; 358(2): 166-175.
23. Marshall E, Lowrey J, MacPherson S et al. In silico analysis identifies a novel role for androgens in the regulation of human endometrial apoptosis. *J Clin Endocrinol Metab* 2011; 96(11): E1746-1755.
24. Matysiak ZE, Ochędalski T, Piastowska-Ciesielska AW. The evaluation of involvement of angiotensin II, its receptors, and androgen receptor in endometrial cancer. *Gynecol Endocrinol* 2015; 31(1): 1-6.
25. Azziz R, Carmina E, Dewailly D et al. Positions statement: criteria for defining polycystic ovary syndrome as a predominantly hyperandrogenic syndrome: an Androgen Excess Society guideline. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91(11): 4237-4245.
26. Fearnley EJ, Marquart L, Spurdle AB et al. Polycystic ovary syndrome increases the risk of endometrial cancer in women aged less than 50 years: an Australian case-control study. *Cancer Causes Control* 2010; 21(12): 2303-2308.
27. Lukanova A, Lundin E, Micheli A et al. Circulating levels of sex steroid hormones and risk of endometrial cancer in postmenopausal women. *Int J Cancer* 2004; 108(3): 425-432.
28. Hausknecht V, Lopez de la Osa E, Gurrpide E. In vitro metabolism of C19 steroids in human endometrium. *J Steroid Biochem* 1982; 17(6): 621-629.
29. Bulun SE, Lin Z, Imir G et al. Regulation of aromatase expression in estrogen-responsive breast and uterine disease: from bench to treatment. *Pharmacol Rev* 2005; 57(3): 359-383.
30. Simpson ER, Zhao Y, Agarwal VR et al. Aromatase expression in health and disease. *Recent Prog Horm Res* 1997; 52: 185-213.
31. Burger HG, Dudley EC, Cui J et al. A prospective longitudinal study of serum testosterone, dehydroepiandrosterone sulfate, and sex hormone-binding globulin levels through the

- menopause transition. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85(8): 2832-2838.
32. Ito K, Miki Y, Suzuki T et al. *In situ androgen and estrogen biosynthesis in endometrial cancer: focus on androgen actions and intratumoral production.* *Endocr Relat Cancer* 2016; 23(7): R323-335.
 33. Sivridis E, Giatromanolaki A. *The pathogenesis of endometrial carcinomas at menopause: facts and figures.* *J Clin Pathol* 2011; 64(7): 553-560.
 34. Samojlik E, Kirschner MA, Silber D et al. *Elevated production and metabolic clearance rates of androgens in morbidly obese women.* *J Clin Endocrinol Metab* 1984; 59(5): 949-954.
 35. Allen NE, Key TJ, Dossus L et al. *Endogenous sex hormones and endometrial cancer risk in women in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC).* *Endocr Relat Cancer* 2008; 15(2): 485-497.
 36. Kaaks R, Lukanova A, Kurzer MS. *Obesity, endogenous hormones, and endometrial cancer risk: a synthetic review.* *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2002; 11(12): 1531-1543.
 37. Auchus RJ. *Steroid assays and endocrinology: best practices for basic scientists.* *Endocrinology* 2014; 155(6): 2049-2051.
 38. Audet-Walsh E, Lépine J, Grégoire J et al. *Profiling of endogenous estrogens, their precursors, and metabolites in endometrial cancer patients: association with risk and relationship to clinical characteristics.* *J Clin Endocrinol Metab* 2011; 96(2): E330-339.
 39. Clendenen TV, Hertzmark K, Koenig KL et al. *Premenopausal Circulating Androgens and Risk of Endometrial Cancer: results of a Prospective Study.* *Horm Cancer* 2016; 7(3): 178-187.
 40. Rizner TL, Smuc T, Ruprecht R et al. *AKR1C1 and AKR1C3 may determine progesterone and estrogen ratios in endometrial cancer.* *Mol Cell Endocrinol* 2006; 248(1-2): 126-135.
 41. Ito K, Suzuki T, Akahira J et al. *Expression of androgen receptor and 5alpha-reductases in the human normal endometrium and its disorders.* *Int J Cancer* 2002; 99(5): 652-657.
 42. Tanaka S, Miki Y, Hashimoto C et al. *The role of 5alpha-reductase type 1 associated with intratumoral dihydrotestosterone concentrations in human endometrial carcinoma.* *Mol Cell Endocrinol* 2015; 401: 56-64.
 43. Apparao KB, Lovely LP, Gui Y et al. *Elevated endometrial androgen receptor expression in women with polycystic ovarian syndrome.* *Biol Reprod* 2002; 66(2): 297-304.
 44. Horie K, Takakura K, Fujiwara H et al. *Immunohistochemical localization of androgen receptor in the human ovary throughout the menstrual cycle in relation to oestrogen and progesterone receptor expression.* *Hum Reprod* 1992; 7(2): 184-190.
 45. Kato J, Seto T. *Correlation of androgen receptors with histological differentiation in human endometrial carcinomas.* *Acta Obstet Gynecol Scand* 1985; 64(3): 209-212.
 46. Kamal AM, Bulmer JN, DeCruze SB et al. *Androgen receptors are acquired by healthy postmenopausal endometrial epithelium and their subsequent loss in endometrial cancer is associated with poor survival.* *Br J Cancer* 2016; 114(6): 688-696.
 47. Kamal A, Tempest N, Parkes C et al. *Hormones and endometrial carcinogenesis.* *Horm Mol Biol Clin Investig* 2016; 25(2): 129-148.
 48. La Spada AR, Wilson EM, Lubahn DB et al. *Androgen receptor gene mutations in X-linked spinal and bulbar muscular atrophy.* *Nature* 1991; 352(6330): 77-79.
 49. Rodríguez G, Bilbao C, Ramírez R et al. *Alleles with short CAG and GGN repeats in the androgen receptor gene are associated with benign endometrial cancer.* *Int J Cancer* 2006; 118(6): 1420-1425.
 50. Sasaki M, Oh BR, Dharia A et al. *Inactivation of the human androgen receptor gene is associated with CpG hypermethylation in uterine endometrial cancer.* *Mol Carcinog* 2000; 29(2): 59-66.
 51. Hackenberg R, Schulz KD. *Androgen receptor mediated growth control of breast cancer and endometrial cancer modulated by antiandrogen- and androgen-like steroids.* *J Steroid Biochem Mol Biol* 1996; 56(1-6 Spec No): 113-117.
 52. Hackenberg R, Beck S, Filmer A et al. *Androgen responsiveness of the new human endometrial cancer cell line MFE-296.* *Int J Cancer* 1994; 57(1): 117-122.
 53. Zang H, Sahlín L, Masironi B et al. *Effects of testosterone treatment on endometrial proliferation in postmenopausal women.* *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92(6): 2169-2175.
 54. Perrone AM, Cerpolini S, Maria Salfi NC et al. *Effect of long-term testosterone administration on the endometrium of female-to-male (FtM) transsexuals.* *J Sex Med* 2009; 6(11): 3193-3200.
 55. Portman DJ, Labrie F, Archer DF et al. *Lack of effect of intravaginal dehydroepiandrosterone (DHEA, prasterone) on the endometrium in postmenopausal women.* *Menopause* 2015; 22(12): 1289-1295.
 56. Moreno-Bueno G, Rodríguez-Perales S, Sánchez-Estévez C et al. *Cyclin D1 gene (CCND1) mutations in endometrial cancer.* *Oncogene* 2003; 22(38): 6115-6118.
 57. Nishida M, Kasahara K, Oki A et al. *Establishment of eighteen clones of Ishikawa cells.* *Hum Cell* 1996; 9(2): 109-116.
 58. Swerdlow AJ, Jones ME, Group BTSCS. *Tamoxifen treatment for breast cancer and risk of endometrial cancer: a case-control study.* *J Natl Cancer Inst* 2005; 97(5): 375-384.
 59. Tamm-Rosenstein K, Simm J, Suhorutshenko M et al. *Changes in the transcriptome of the human endometrial Ishikawa cancer cell line induced by estrogen, progesterone, tamoxifen, and mifepristone (RU486) as detected by RNA-sequencing.* *PLoS One* 2013; 8(7): e68907.
 60. Lanzino M, Sisci D, Morelli C et al. *Inhibition of cyclin D1 expression by androgen receptor in breast cancer cells--identification of a novel androgen response element.* *Nucleic Acids Res* 2010; 38(16): 5351-5365.
 61. Foradori CD, Weiser MJ, Handa RJ. *Non-genomic actions of androgens.* *Front Neuroendocrinol* 2008; 29(2): 169-181.

