

Tea Lanišnik Rižner¹, Jasna Šinkovec²

Vloga hidroksisteroid-dehidrogenaz pri uravnavanju aktivnosti estrogenov in progestagenov: primer raka endometrija in endometrioze

The Role of Hydroxysteroid Dehydrogenases in the Regulation of Estrogen and Progesterone Activity: a Case of Endometrial Cancer and Endometriosis

IZVLEČEK

KLJUČNE BESEDE: endometrijske novotvorbe, endometrijoza, hidroksisteroid dehidrogenaze, estrogeni, progestageni

Rak endometrija in endometrijoza sta zelo razširjeni od estrogenov odvisni bolezni. Rak endometrija je tretja najpogostejša oblika raka pri ženskah, endometrijoza pa se pojavlja pri 15–20 % žensk v reproduktivnem obdobju in je v 30–50 % vzrok neplodnosti. Povišana koncentracija estrogenov ob znižani koncentraciji progestagenov vodi do delitev celic endometrija in s tem večje možnosti naključnih genetskih napak, ki lahko vodijo do hiperplazije endometrija in raka endometrija. Uravnavanje biološke aktivnosti estrogenov in progestagenov poteka na ravni receptorjev, pa tudi na predreceptorski ravni, s pomočjo encimov, ki biološko aktivni obliki (estradiol, progesteron) pretvorijo v neaktivni obliki (estron, 20 α -hidroksiprogesteron). Encimi, ki na predreceptorski ravni uravnavajo aktivnost estrogenov in progestagenov, so 17 β -hidroksisteroid-dehidrogenaze in 20 α -hidroksisteroid-dehidrogenaze. Prekomerno ali prešibko izražanje teh encimov v rakavem tkivu endometrija in endometriotičnem tkivu se lahko odraža v zvišani koncentraciji estrogenov in znižani koncentraciji progestagenov, kar lahko vodi do razvoja raka endometrija oziroma endometrioze.

ABSTRACT

KEY WORDS: endometrial neoplasms, endometriosis, hydroxysteroid dehydrogenases, estrogens, progestational hormones

Endometrial cancer and endometriosis are very common estrogen-dependent diseases. Endometrial cancer is the third most common cancer in women, while endometriosis affects around 15–20% of women of reproductive age and leads to infertility in 30–50% of patients. The current hypothesis postulates that exposure to estrogens unopposed by progestagens increases the mitotic activity of endometrial cells and the number of errors during DNA replication that can lead to hyperplasia or a malignant phenotype. The activity of estrogens and progestagens is regulated at the receptor and pre-receptor levels, by interconversions between the active forms (estradiol, progesterone) and inactive forms (estron, 20 α -hydroxyprogesterone). The enzymes which are responsible for these interconversions are 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase and 20 α -hydroxysteroid dehydrogenase. The difference in the expression of these enzymes in endometrial cancer and endometriosis may lead to high estrogen concentrations and low progestagen concentrations, which could result in the development of endometrial cancer or endometriosis.

¹ Doc. dr. Tea Lanišnik Rižner, univ. dipl. inž. kem., Inštitut za biokemijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Vrazov trg 2, 1000 Ljubljana.

² Prim. asist. Jasna Šinkovec, dr. med., Služba za patomorfologijo in citološko diagnostiko, SPS Ginekološka klinika, Klinični center, Šlajmerjeva 3, 1000 Ljubljana.

RAK ENDOMETRIJA

Rak endometrija je najpogostejši rak ženskega reproduktivnega trakta, pojavnost je največja pri ženskah po menopavzi, pojavlja pa se tudi pri ženskah pred menopavzo (1). Povprečna starost žensk ob postavljeni diagnozi raka endometrija je 60 let (2). V ZDA, zahodni Evropi, pa tudi v Sloveniji je rak endometrija tretja najpogostejša oblika raka pri ženskah (3, 4). Rak endometrija je primarni maligni epiteljski tumor, običajno z žlezno diferenciacijo, ki vznikne v endometriju in se lahko vrašča v miometrij in okolne organe (ovarij, omentum itd.). Ločimo dva tipa:

- Tip 1, ki je odvisen od estrogenov, se razvija preko atipičnih hiperplazij endometrija in je pogostejši pri mlajših ženskah (80–90%). Je dobro in zmerno diferenciran (G1 ali G2), ločimo pa endometrioidni in mucinozni adenokarcinom endometrija (5–7).
- Tip 2 je od estrogenov neodvisen, nastane *de novo* v atrofičnem endometriju, lahko kot intraepiteljski adenokarcinom, je slabo diferenciran (G3) in se pojavlja kot serozni papilarni in svetlocelični adenokarcinom pri starejših ženskah (6). Zaradi infiltracije v miometrij in slabe diferenciacije ima tip 2 slabo napoved (5–7).

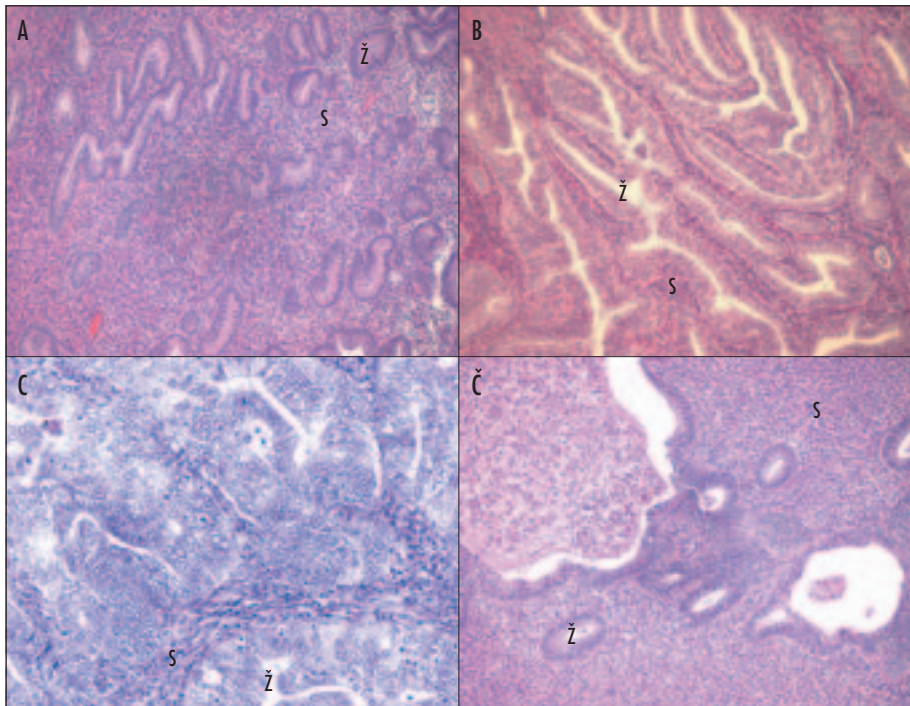
S pomočjo modernih molekularnobioloških metod so pokazali, da se pri od estrogenov odvisnem tipu (tip 1) pogosto pojavljajo mutacije in metilacije promotorske regije genov, ki so odgovorni za popraviljanje napak v prepisovanju DNA (MLH1, MSH2, MSH6) (angl. *DNA-mismatch repair genes*), mutacije onkogenega K-ras, tumor zavirajočega gena PTEN in gena beta-katenina, ki vzdržuje normalno adhezijo celic (6–9). Pri od estrogenov neodvisnem tipu (tip 2) pa se pojavlja aneuploidnost, mutacije tumor zavirajočega gena p53 in pomnoževanje in prekomerno izražanje onkogenega HER-2/neu (6–9). Rak endometrija povezujejo z različnimi dejavniki tveganja: prekomerno izpostavljenostjo estrogenom (hormonska nadomestna zdravljenja), zgodnjo prvo menstruacijo, pozno menopavzo, neplodnostjo, debelostjo, prehrano in drugimi dejavniki (10, 11).

ENDOMETRIOZA

Pri endometriozii se ektopične endometrijske žleze s stromo razrastejo zunaj maternice v peritonealni votlini (12, 13). Endometrioza je kompleksna poligenska bolezen, ki se pojavlja pri 15–20% žensk v plodnem obdobju in je v 30–50% vzrok neplodnosti (12–16). Patogenezo endometriozie lahko razložimo s splošno sprejeto Sampsonovo teorijo o presaditvi endometrijskega tkiva v peritonealno votlino preko jajcevodov s tako imenovano retrogradno menstruacijo (17). Delci endometrija se lahko vsadijo po celotni peritonealni votlini (jajcevod, črevo, omentum itd.). Poleg retrogradne menstruacije, ki se pojavlja pri 80% žensk v plodni dobi, so za nastanek endometriozie zagotovo odgovorni še drugi dejavniki, kot so na primer: napake imunskega sistema pri odstranjevanju endometrijskih celic s peritonealnih površin, spremembe v koncentraciji in delovanju estrogenov in progesteragenov, in drugi (12, 18). Endometriozo povezujejo z različnimi dejavniki tveganja oziroma z endometriotičnim fenotipom, ki ga določajo predvsem zgodnja menstruacija, kratki ciklusi, boleče menstruacije in znižana plodnost (19).

RAK ENDOMETRIJA IN ENDOMETRIOZA STA HORMONSKO ODVISNI BOLEZNI

Obe bolezni, rak endometrija in endometrioza, sta povezani s prekomernim delovanjem estrogenov ob hkratnem zmanjšanem delovanju progesteragenov. Po splošno sprejeti hipotezi zvišana koncentracija endogenih ali eksogenih estrogenov ob znižani koncentraciji endogenih ali eksogenih progesteragenov vodi do delitev endometrijskih celic in s tem večje možnosti naključnih napak pri podvojevanju DNA, ki lahko vodijo do hiperplazije endometrija in raka endometrija (slika 1) (1, 7, 11). Progesteron inducira diferenciacijo endometrija in na ta način nasprotuje mitogenemu delovanju estrogenov (20). Hipotezo o pomenu estrogenov pri raku endometrija potrjujejo študije, ki kažejo povečano pojavnost (20–35%) raka endometrija pri ženskah, ki so jih v primeru hormonskega nadomestnega



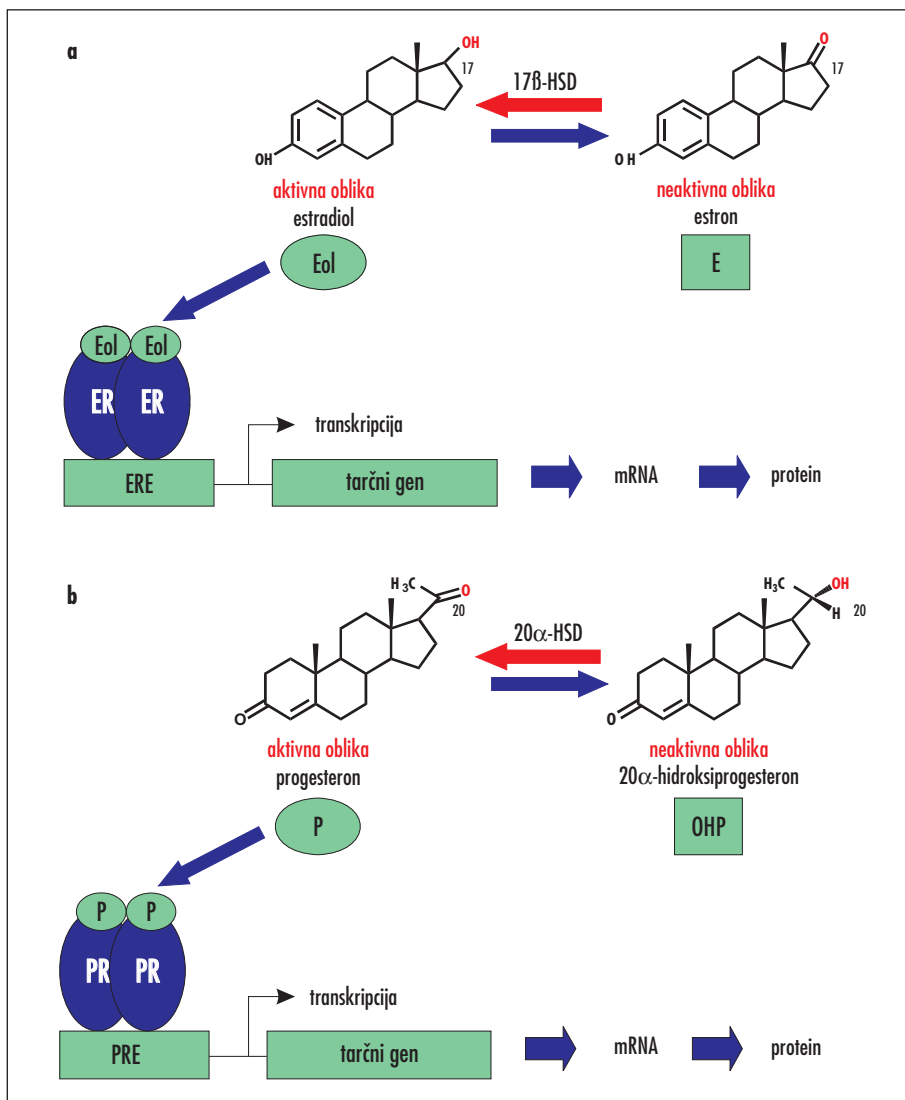
Slika 1. Histologija normalnega endometrija, hiperplazije endometrija, raka endometrija in endometrioze. A. Proliferacijski endometrij (100×povečava); B. Zelo atipična hiperplazija endometrija (200×povečava); C. Dobro diferenciran endometrioidni adenokarcinom G1 (400×povečava); Č. Endometriotični otočki (peritonealna endometrioza) (200×povečava); Ž – žlezne celice; S – stroma; barvanje s hematoksilinom in eozinom.

zdravljenja zdravili z estrogeni brez dodatka progestagenov (1, 21). Pomen estrogenov pri endometriozi pa se kaže v odsotnosti bolezni pri ženskah po menopavzi in ponovnem pojavu v primeru uporabe estrogenskega nadomestnega zdravljenja (12). Pomen progesterona pri obeh boleznih potrjuje uspešna uporaba derivatov progesterona (medroksi-progesteron acetat, megestrol in drugi) pri zdravljenju atipične hiperplazije endometrija, dobro diferenciranega endometrioidnega adenokarcinoma pri mlajših ženskah in endometrioze (22–26).

ESTROGENI, PROGESTAGENI IN NJIHOVO DELOVANJE

V endometriju se med proliferacijsko in sekrecijsko fazo menstruacijskega ciklusa izmenjuje delovanje estrogenov in progestagenov. Estrogeni spodbujajo proliferacijo žleznega epitelijskega tkiva, medtem ko progesteron nasprotuje

delovanju estrogenov in preusmerja celice strome in žleznega epitelijskega tkiva v diferenciacijo (27, 28). Estrogeni obstajajo v več oblikah (slika 2a): v obliki estradiola, ki je zaradi svoje strukture (hidroksilni skupini na C3 in C17) biološko aktiven, v obliki estrona, ki predstavlja oksidirano obliko estradiola in je biološko neaktiven (njegova aktivnost predstavlja le 1% aktivnosti estradiola) (29), in v oblikah estriola in estron-sulfata, ki sta prav tako neaktivni obliki (30). Tudi progestageni se v organizmu nahajajo v več oblikah (slika 2b), biološko aktiven je progesteron, medtem ko je reducirana oblika 20 α -hidroksiprogesteron neaktivna (31). V organizmu se progestageni nahajajo tudi v obliki 5 α -dihidroprogesterona (5 α -pregnan-3,20-dion) in alopregnanolona (5 α -pregnan-3 α -hidroksi-20-on), ki sta pomembna nevrosteroida (32). Alopregnanolon deluje kot pozitivni alosterični modulator receptorja tipa A za γ -aminobutirno kislino (GABA_A-receptorja) in ima na ta način močan

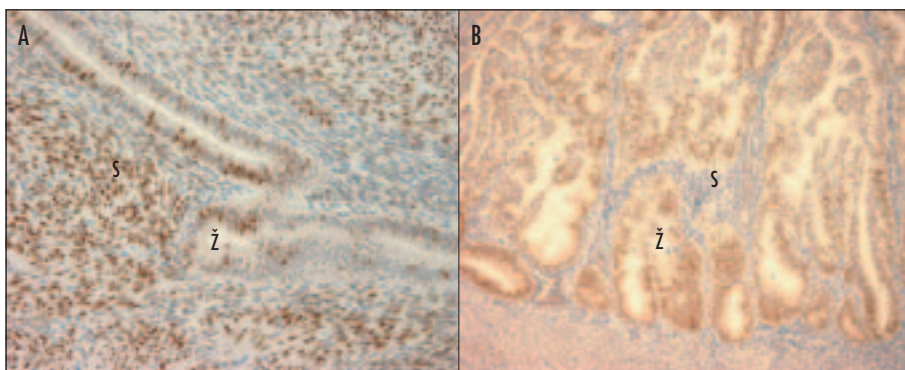


Slika 2. Aktivni in neaktivni obliki estrogenov in progestagenov in encimi, ki uravnavajo njihovo aktivnost na predreceptorski ravni. a. 17 α -HSD uravnavajo aktivnost estrogenov s pretvarjanjem estrona v estradiol in obratno. Estradiol se veže na estrogenske receptorje (ER), sledi dimerizacija, vezava na specifične odzivne elemente (ERE) tarčnih genov (primer: gen za tumorski rastni faktor TGF β , ki stimulira proliferacijo tumorskih celic), prepis v mRNA in ustrezen protein. b. 20 α -HSD uravnavajo aktivnost progestagenov s pretvarjanjem 20 α -hidroksiprogesterona v progesteron in obratno. Progesteron se veže na progesteronske receptorje (PR), sledi dimerizacija, vezava na specifične odzivne elemente (PRE) tarčnih genov (primer: desmoplakin, ki ga povezujejo z diferenciacijo epitela), prepis v mRNA in ustrezen protein.

anksiolitični, antikonvulzivni in anestetični učinek (32).

Estrogeni in progestageni delujejo na dva načina; preko ustreznih znotrajceličnih receptorjev in na ta način vplivajo na prepisovanje

tarčnih genov (slika 2) in pa preko membranskih receptorjev in citosolnih signalnih poti (18, 21, 33). V večini primerov delujejo estrogeni in progestageni preko znotrajceličnih receptorjev na ravni prepisovanja (21).



Slika 3. Izražanje progesteronskih receptorjev v endometriju. A. Proliferacijski endometriji z izraženimi progesteronskimi receptorji (PRA in PRb) v nekaterih žleznih celicah in v stromi. ($200\times$ povečava); B. Endometrioidni adenokarcinom G1 z izraženimi progesteronskimi receptorji (PRA in PRb) predvsem v žlezah in manj v stromi. ($100\times$ povečava); Detekcija je potekala z monoklonskimi mišjimi protitelesi, ki prepoznajo PRA in PRb, s hrenovo perksohidazo konjugiranimi sekundarnimi protitelesi in z barvno reakcijo z diamino-benzidinom (DAB) in H_2O_2 .

Estrogeni in progestageni se v aktivni obliki z veliko afiniteto vežejo na ustrezne receptorje, sledi dimerizacija, s tem nastanek homodimerov ali heterodimerov, fosforilacija receptorjev in vezava na specifične odzivne elemente (ERE ali PRE) tarčnih genov (slika 2). Receptorji za estrogene in progestagene so transkripcijski faktorji, ki spadajo v naddružino jedrnih receptorjev. Zgrajeni so iz transaktivacijske domene (AF-1) v N-terminalnem delu, DNA-vezavne domene v centralnem delu in domene za vezavo liganda, ki je hkrati aktivacijska domena (AF-2) v C-terminalnem delu (21, 30).

Obstajata dve vrsti receptorjev za estrogene, beljakovini $ER\alpha$ 66 kDa in $ER\beta$ 59 kDa, ki se izražata v različnih tkivih. $ER\alpha$ so zasledili v hipofizi, jajčnikih, maternici, ledvicah, nadledvični žlezi in dojkah, medtem ko je $ER\beta$ izražen v jajčnikih, maternici, pljučih in različnih predelih centralnega in perifernega živčnega sistema (21, 30). Med menstruacijskim ciklusom se količina $ER\alpha/ER\beta$ spreminja v povezavi s spreminjanjem koncentracije estradiola in progesterona (18). Pred kratkim so ugotovili, da v določenih primerih $ER\beta$ lahko nasprotuje delovanju $ER\alpha$ in da je pri raku endometrija $ER\beta$ šibkeje izražen kot $ER\alpha$ (18).

Prav tako obstajata dve vrsti receptorjev za progestagene, PRA in PRb. PRA (94 kDa) in PRb (114 kDa) se razlikujeta le v N-terminalnem delu, ki je pri PRA-obliki za 164 aminokisljin krajši. PRb ima tako, poleg AF-1 in

AF-2, še dodatno domeno za aktivacijo (AF-3) (35). PRA in PRb se pri človeku lahko izražata v istih tarčnih tkivih, vendar je izražanje ene ali druge oblike oziroma razmerja med njima odvisno od trenutnega fiziološkega stanja (36). Pri raku dojk in endometrija se izraža večinoma le PRA-oblika (35). PRA nasprotuje delovanju PRb oziroma njegovi vezavi na ustrezne na progesteron odzivne regije (PRE) (36). Ugotovili so, da PRb lahko deluje tudi brez liganda in v tem primeru vpliva na proliferacijo (proliferacijska faza), medtem ko PRb z vezanim ligandom preusmeri endometriji v diferenciacijo (sekrecijska faza) (37). Tudi količina PRA/PRb se med menstruacijskim ciklusom spreminja v povezavi s spreminjanjem koncentracije estradiola, ki preko $ER\alpha$ izražanje PR inducira (18).

Študije delecij genov, ki kodirajo za $ER\alpha$, $ER\beta$, PRA in PRb pri miši, so pokazale, da $ER\alpha$, $ER\beta$, kakor tudi PRA in PRb uravnava-jo vrsto različnih tarčnih genov (36, 38, 39).

URAVNAVANJE NA PREDRECEPTORSKI RAVNI

Uravnavanje biološke aktivnosti estrogenov in progestagenov poteka na ravni izražanja receptorjev, pa tudi na predreceptorski ravni, s pomočjo encimov, ki biološko aktivni obliki (estradiol, progesteron) pretvorijo v neaktivni obliki (estron, 20α -hidroksiprogesteron) in obratno (slika 2). Biološko aktivni obliki

imata večjo afiniteto do ustreznih receptorjev, medtem ko imata biološko neaktivni obliki manjšo afiniteto vezave. Encimi, ki na predreptorski ravni uravnavajo aktivnost estrogenov, so 17β -hidroksisteroid-dehidrogenaze (17β -HSD), encimi, ki uravnavajo aktivnost progestagenov, pa so 20α -hidroksisteroid-dehidrogenaze (20α -HSD) (slika 2). Poleg HSD pa aktivnost estrogenov na predreptorski ravni uravnavajo tudi aromataza, ki katalizira redukcijo androstendiona v estron, sulfotransferaza, ki z vezavo sulfata estron dodatno inaktivira in sulfataza, ki estron-sulfat z odcepom sulfata aktivira (31). Vendar pa dokončno aktivacijo estrona, z redukcijo ketoskupine na C17, omogočajo le redukativne izoencimske oblike 17β -HSD (40).

Estrogeni pri ženskah pred menopavzo nastajajo v celicah granulose jajčnikov, po menopavzi pa nastajajo v perifernih tkivih, predvsem v maščobnem tkivu in koži, iz androgenov nadledvične žleze in jajčnikov (22). Tkivno in celično specifično izražanje 17β -HSD, 20α -HSD, aromataze, sulfotransferaze in sulfataze uravnava koncentracije aktivnih oblik estrogenov in progestagenov na ravni tkiva oziroma intrakrino, na ravni posamezne vrste celic (31).

HIDROKSISTEROID-DEHIDROGENAZE

Hidroksisteroid-dehidrogenaze (HSD), ki uravnavajo aktivnost estrogenov in progestagenov na predreptorski ravni, spadajo v beljakovinski naddružini kratkoveržnih dehidrogenaz/reduktaz (SDR) in aldo-keto-reduktaz (AKR) (41). Večina 17β -HSD spada v SDR-naddružino (42, 43). Beljakovine iz te naddružine so dimeri ali tetrameri z molekulskimi masami podenot med 25 in 35 kDa; te beljakovine so pogosto vezane na membrane mitohondrijev ali peroksisomov (42, 43). 20α -HSD uvrščamo v AKR-naddružino. AKR-beljakovine so monomerne, citosolne beljakovine z molekulskimi masami med 34 in 37 kDa (41, 44, 45). Te beljakovine poimenujemo s kratico AKR, ki ji sledi številka, ki označuje družino, črka, ki označuje poddružino, in ponovno številka, ki označuje posamezno beljakovino, primer AKR1C1 (41, 44, 45).

Vloga 17β -hidroksisteroid-dehidrogenaz

Pri človeku so do sedaj odkrili devet izoencimskih oblik 17β -HSD (42, 43). V intaktnih celicah različne izoencimske oblike delujejo predvsem v eni smeri; nekateri izoencimi 17β -HSD (tip 1, 5 in 7) delujejo kot reduktaze in katalizirajo pretvorbo estrona v aktivni estradiol ter na ta način aktivirajo estrogene (slika 2a); druge izoencimske oblike (tip 2, 4, 8, 10 in 11) pa delujejo kot oksidaze, katalizirajo pretvorbo estradiola v estron in so odgovorne za inaktivacijo estrogenov (slika 2a) (42, 46–48). V endometriju so izražene različne izoencimske oblike 17β -HSD; do sedaj so v endometriju preučevali izražanje tipov 1, 2, 4 in 8 (49, 50).

Vloga 20α -hidroksisteroid-dehidrogenaz

20α -HSD-aktivnost pri človeku povezujejo z različnimi encimi, s 17β -HSD tipa 1 in 2 iz naddružine SDR, ki v manjši meri delujeta tudi kot 20α -HSD (41), in z izoencimi AKR1C1-AKR1C3 iz naddružine AKR (41). Izoencimi AKR1C1-AKR1C3 so HSD, ki delujejo na različnih mestih steroidnega skeleta, saj imajo v različnih merah izražene 3α -, 17β - in 20α -HSD-aktivnosti (51). Vendar pa edino AKR1C1 deluje predvsem kot 20α -HSD (52). 17β -HSD tipa 1 in izoencimi AKR1C1-AKR1C3 delujejo kot reduktaze in katalizirajo redukcijo progesterona v neaktivni 20α -OHP (31, 41). 17β -HSD tipa 2 pa je oksidaza in tako deluje ravno nasprotno, saj katalizira oksidacijo 20α -OHP nazaj v biološko aktivni progesteron (slika 2b) (31, 41). V endometriju so dokazali prisotnost obeh encimov iz SDR-naddružine (50, 51) in vseh treh izoencimov iz naddružine AKR (51, 52).

PRIMER NORMALNEGA ENDOMETRIJA

V normalnem endometriju so s pomočjo *in situ* hibridizacije in northern analize dokazali prisotnost izoencimskih oblik 17β -HSD, ki so odgovorne za inaktivacijo estrogenov (tip 2, 4 in 8) in aktivacijo zaščitnih progestagenov (tip 2) (49). 17β -HSD tipa 4 in 8 naj bi bila konstitutivno izražena, medtem ko naj bi se

izražanje 17 β -HSD tipa 2 spreminjalo med menstruacijskim ciklusom in doseglo maksimum v sekrecijski fazi (40). 17 β -HSD tipa 1, ki aktivira estron v estradiol, v endometriju niso zasledili niti med proliferacijsko niti sekrecijsko fazo (22). Ugotovili so, da sta ER α /ER β najmočnejše izražena v proliferacijski fazi in najšibkeje v sekrecijski (22). Tudi izražanje PRa in PRb v žlezem epiteliju in stromi endometrija se spreminja med menstruacijskim ciklusom. V žlezem epiteliju prevladuje PRb med srednjo sekrecijsko fazo, kar nakazuje na pomembno vlogo tega receptorja; v stromi endometrija pa med proliferacijsko in sekrecijsko fazo prevladuje PRa-oblika (27).

V normalnem endometriju periferna sinteza biološko aktivnega estradiola verjetno ne poteka, 17 β -HSD tipa 2 pa naj bi bila odgovorna za inaktivacijo estradiola in za vzdrževanje ustrezne koncentracije progesterona. Izražanja ostalih izoencimskih oblik 17 β -HSD, poleg tipov 2, 4 in 8 in 20 α -HSD, še niso preučevali.

PRIMER RAKA ENDOMETRIJA

Do sedaj so v rakavem tkivu endometrija zasledovali izražanje 17 β -HSD tipa 1 in 2. Utsunomiya s sodelavci je s pomočjo imunohistokemijskih metod ugotovil, da je tip 2 izražen v 75 % vzorcev hiperplazije in le v 37 % vzorcev raka endometrija, medtem ko 17 β -HSD tipa 1 v vzorcih ni zasledil (22, 50). Ugotovil je, da je izražanje 17 β -HSD tipa 2 sovpadalo s prisotnostjo PRa/PRb (50), kar nakazuje na zaščitno vlogo tega encima. Sasaki s sodelavci pa je poročal, da je pri raku endometrija moteno delovanje progesterona na ravni receptorjev, saj je gen za PRb hipermetiliran in posledično ni izražen (20). Glede izražanja ER α /ER β pri raku endometrija so študije pokazale, da se v primeru slabše diferencirane oblike raka endometrija (G3), ki so jo primerjali z dobro diferenciranimi oblikami raka (G1), razmerje med ER α in ER β spreminja v korist ER β (54, 56).

Pri raku endometrija torej reduktivna 17 β -HSD tipa 1, ki aktivira estrogene, ni prisotna, oksidativno 17 β -HSD tipa 2, ki estroge-

ne inaktivira, pa so odkrili le v manjšem številu vzorcev. Tovrstno izražanje izoencimov 17 β -HSD nakazuje, da je metabolizem estrogenov v rakavem tkivu moten. Glede na to, da izražanja ostalih izoencimskih oblik 17 β -HSD in 20 α -HSD še niso preučevali, je možno, da je pri raku endometrija izražena še kakšna druga reduktivna izooblika 17 β -HSD, ki je odgovorna za prekomerno intrakrino sintezo estradiola.

PRIMER ENDOMETRIOZE

V endometriotičnem tkivu so dokazali prisotnost izoencimskih oblik 17 β -HSD, ki aktivirajo estrogene (tip 1), tistih, ki estrogene inaktivirajo, pa niso uspeli zaslediti (tip 2) (1, 40). V endometriotičnem tkivu je poleg 17 β -HSD tipa 1 močno izražena tudi aromataza, ki katalizira pretvorbo androstendiona v estron; oba encima skupaj pa usmerjata metabolizem androgenov in estrogenov v nastanek biološko aktivnega estradiola (1, 40). Študije prisotnosti ER α in ER β v endometriotičnem tkivu so pokazale, da je močnejše izražena ER α oblika, razmerje med ER α in ER β je bilo višje v vzorcih peritonealne endometrioze, v primeru ovarijske endometrioze pa je bilo razmerje nižje (53). Izmed PR je v endometriotičnem tkivu izražena le PRa oblika, ki deluje kot represor PRb, PRb-oblike pa niso zasledili (54).

V endometriotičnem tkivu 17 β -HSD tipa 2, ki pretvarja estradiol v neaktivni estron, ni izražena, kar pomeni, da je v tem tkivu inaktivacija estradiola v estron motena. Poleg tega pa je tudi koncentracija »zaščitnega« progesterona močno znižana, saj 17 β -HSD tipa 2, ki bi 20 α -OHP lahko pretvorila nazaj v aktivni progesteron, ni prisotna; 17 β -HSD tipa 1, ki prav tako deluje tudi kot 20 α -HSD, pa pretvarja biološko aktivni progesteron v neaktivno obliko 20 α -hidroksi progesteron. Delovanje progesterona je onemogočeno tudi na ravni receptorjev, saj receptor PRb ni izražen. Izražanja ostalih izoencimskih oblik 17 β -HSD (tip 5, 7, 8, 10 in 11) in 20 α -HSD iz AKR-naddružine (AKR1C1-AKR1C3) in njihove kolokalizacije z ER α /ER β , PRa in PRb v endometriotičnem tkivu še niso preučevali.

POMEN RAZISKAV HSD V POVEZAVI Z RAKOM ENDOMETRIJA IN ENDOMETRIOZO

Vloga 17 β -HSD in 20 α -HSD pri raku endometrija in endometriozii še ni povsem razjasnjena. Ni znano, ali se v normalnem, rakavem ali endometriotičnem tkivu endometrija izražajo samo tipi 1, 2, 4 in 8 ali tudi druge izoencimske oblike 17 β -HSD in 20 α -HSD. Poleg tega do sedaj kolokalizacije diferencialno izraženih izoencimov 17 β -HSD, 20 α -HSD in ER α , ER β , PRa in PRb, razen v primeru izoencima 17 β -HSD tip 2 in PRa/b, še niso preučevali.

Glede vloge 17 β -HSD in 20 α -HSD pri uravnavanju aktivnosti estrogenov in progesteragenov torej ostaja še mnogo odprtih vprašanj. Treba bo ugotoviti, katere izoencimske oblike 17 β -HSD in 20 α -HSD so izražene pri raku endometrija oziroma endometriozii in katere od njih se izražajo močnejše ali šibkeje v bolezenskem tkivu v primerjavi z normalnim. V primeru, da izražanje teh izoencimov sovпада z izražanjem ER α /ER β oziroma PRa/PRb,

bo to potrdilo, da pri raku endometrija in endometriozii ni moteno samo uravnavanje aktivnosti estrogenov in progesteragenov na ravnih receptorjev, pač pa tudi uravnavanje na predreceptorjski ravni. V tem primeru bodo diferencialno izraženi izoencimi HSD predstavljali nove potencialne tarče za razvoj zdravil za zdravljenje raka endometrija in endometriozie. Tkivno in celično specifično izražanje teh encimov (tarč) pa bo lahko omogočilo razvoj tako imenovanih selektivnih intrakrinih modulatorjev – inhibitorjev, ki bodo preprečevali periferno sintezo estradiola oziroma inaktivacijo zaščitnega progesterona.

Primer inhibitorjev, ki na predreceptorjski ravni preprečujejo sintezo estradiola, so inhibitorji aromataze (letrozol, anastrozol ali exemestan) (57). Aromataza omogoča sintezo estrogenov iz androgenov nadledvične žleze ali ovarijev (12, 40, 57) in je v endometriotičnem tkivu prekomerno izražena. Inhibitor letrozol v kombinaciji s progesteragenom so Ailawadi in sodelavci že uspešno uporabili pri zdravljenju endometriozie v primeru desetih bolnic (12, 40, 57, 58).

LITERATURA

1. Akhmedkhanov A, Zeleniuch-Jacquotte A, Toniolo P. Role of exogenous and endogenous hormones in endometrial cancer. *Ann N Y Acad Sci* 2001; 943: 296–15.
2. Fiorica JV. Update on the treatment of cervical and uterine carcinoma: focus on topotecan. *The Oncologist* 2002; 7: 36–5.
3. Persson I. Estrogens in the causation of breast, endometrial and ovarian cancers – evidence and hypothesis from epidemiological findings. *J Steroid Biochem Molec Biol* 2000; 74: 357–64.
4. Pompe-Kirn V. Incidenca raka v Sloveniji 2000. Ljubljana: Onkološki inštitut, Register raka za Slovenijo, 2003.
5. Takač I. Etiologija, epidemiologija in histopatologija raka endometrija. *Med razgl* 2000; 39: 191–8.
6. Oehler MK, Brand A, Wain GV. Molecular genetics and endometrial cancer. *Br Menopause Soc* 2003; 9: 27–31.
7. Inoue M. Current molecular aspects of the carcinogenesis of the uterine endometrium. *Int J Gynecol Cancer* 2001; 11: 339–348.
8. Mathias-Guiu X, Catusas L, Bussaglia E, Lagarda H, Garcia A, Pons C, Munoz J, Arguelles R, Machin P, Prat J. Molecular pathology of endometrial hyperplasia and carcinoma. *Hum Pathol* 2001; 32: 569–577.
9. Nephew KP, Huang TH. Epigenetic gene silencing in cancer initiation and progression. *Cancer Lett* 2003; 190: 124–133.
10. Hale GE, Hughes CL, Cline JM. Endometrial cancer: hormonal factors, the perimenopausal »window of risk« and isoflavones. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 3–15.
11. Henderson BE, Feigelson HS. Hormonal cancerogenesis. *Carcinogenesis* 2000; 21: 427–433.
12. Bulun SE, Gurates B, Fang Z, Tamura M, Sebastian S, Zhou J, Amin S, Yang S. Mechanisms of excessive estrogen formation in endometriosis. *J Reprod Immunol* 2002; 55: 21–33.
13. Matarese G, De Placido G, Nikas Y, Alviggi C. Pathogenesis of endometriosis: natural immunity dysfunction or autoimmune disease? *Trends in Molecular Medicine* 2003; 9: 223–228.
14. Vessey MP, Villard-Mackintosh L, Painter R. Epidemiology of endometriosis in women attending family planning clinics. *Br Med J* 1993; 306: 182–184.
15. Rice VM. Conventional medical therapies for endometriosis. *Ann NY Acad Sci* 2002; 955: 343–352.
16. Kitawaki J, Kado N, Ishihara H, Koshiba H, Kitaoka Y, Honjo H. Endometriosis: the pathophysiology as an estrogen-dependent disease. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2003; 83: 149–155.

17. Sampson JA. Peritoneal endometriosis due to the menstrual dissemination of endometrial tissue into the peritoneal cavity. *Am J Obstet Gynecol* 1927; 14: 422-425.
18. Moutsatsou P, Sekeris CE. Steroid receptors in the uterus: implications in endometriosis. *Ann NY Acad Sci* 2003; 997: 209-222.
19. Cramer DW, Missmer SA. The epidemiology of endometriosis. *Ann NY Acad Sci* 2002; 955: 396-406.
20. Sasaki M, Dharia A, Oh BR, Tanaka Y, Fujimoto S, Dahiya R. Progesterone receptor B gene inactivation and CpG hypermethylation in human uterine endometrial cancer. *Cancer Res* 2001; 61: 97-102.
21. Flötotto T, Djahansouzi S, Gläser M, Hanstein B, Niederacher D, Brumm C, Beckmann MW. Hormones and hormone antagonists: mechanisms of action in carcinogenesis of endometrial and breast cancer. *Horm Metab Res* 2001; 33: 451-457.
22. Sasano H, Suzuki T, Takeyama J, Utsunomiya H, Ito K, Ariga N, Moriya T. 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase in human breast and endometrial carcinoma. *Oncology* 2000; 59: 5-12.
23. Kaku T, Yoshikawa H, Tsuda H, Sakamoto A, Fukunaga M, Kuwabara Y, Hateag M, Kodama S, Kuzuya K, Sato S, Nishimura T, Hiura M, Nakano H, Iwasaka T, Miyazaki K, Kamura T. Conservative therapy for adenocarcinoma and atypical endometrial hyperplasia of the endometrium in young women: central pathologic review and treatment outcome. *Cancer Letters* 2001; 167: 39-48.
24. Gotlieb WH, Beiner ME, Shalmon B, Korach Y, Segal Y, Zmira N, Koupolovic J, Ben-Baruch, G. Outcome of fertility-sparing treatment with progestins in young patients with endometrial cancer. *Obstet Gynecol* 2003; 102: 718-725.
25. Schindler AE. Progestins and endometrial cancer. *Gynecol Endocrinol* 2001; 6: 29-36.
26. Utsunomiya H, Suzuki T, Ito K, Moriya T, Konno R, Sato S, Yaegashi N, Okamura K, Sasano H. The correlation between the response to progestogen treatment and the expression of progesterone receptor B and 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 2 in human endometrial carcinoma. *Clinical Endocrinol* 2003; 58: 696-703.
27. Mote PA, Balleine RL, McGowan EM, Clarke CL. Colocalization of progesterone receptor A and B by dual immunofluorescence histochemistry in human endometrium during the menstrual cycle. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84: 2963-2971.
28. Yang S, Fang Z, Gurates B, Tamura M, Miller J, Ferrer K, Bulun SE. Stromal PRs mediate induction of 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 2 expression in human endometrial epithelium: a paracrine mechanism for inactivation of E2. *Mol Endocrinol* 2002; 15: 2093-2105.
29. Li XH, Li H, Xiao ZJ, Piao YS. Divergent effects of retinoic acid on the expression of ER α and 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 2 in endometrial carcinoma cells (RL 95-2). *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 640-649.
30. Krishnan V, Heath H, Bryant HU. Mechanism of Action of Estrogens and Selective Estrogen Receptor Modulators. *Vitamins and Hormones* 2000; 60: 123-147.
31. Nobel S, Abrahmsen L and Oppermann U. Metabolic conversion as a pre-receptor control mechanism for lipophilic hormones. *Eur J Biochem* 2001; 268: 4113-4125.
32. Griffin LD, Mellon H. Selective serotonin reuptake inhibitors directly alter activity of neurosteroidogenic enzymes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96: 13512-13517.
33. Brann DW, Hendry LB, Mahesh VB. Emerging diversities in the mechanism of action of steroid hormones. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1995; 52: 113-133.
34. Lindberg MK, Moverare S, Skrtic S, Gao H, Dahlman-Wright K, Gustafsson JA, Ohlsson C. Estrogen receptor ER- β reduces ER- α -regulated gene transcription, supporting a «ying-yang» relationship between ER α and ER β in mice. *Mol Endocrinol* 2003; 17: 203-208.
35. Graham JD and Clarke CL. Expression and transcriptional activity of progesterone receptor A and progesterone receptor B in mammalian cells. *Breast Cancer Res* 2002; 4: 187-190.
36. Conneely OM, Lydon JP. Progesterone receptors in reproduction: functional impact of the A and B isoform. *Steroids* 2000; 65: 571-577.
37. Bamberger AM, Bamberger CM, Gellersen B, Schulte HM. Modulation of AP-1 activity by the human progesterone receptor in endometrial adenocarcinoma cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 6169-6174.
38. Lydon JP, DeMayo FJ, Funk CR, Mani SK, Hughes AR, Montgomery CA, Shyamala G, Conneely OM, O'Malley BW. Mice lacking progesterone receptor exhibit pleiotropic reproductive abnormalities. *Genes and Development* 1995; 9: 2266-2278.
39. Korach KS, Emmen JMA, Walker VR, Hewitt SC, Yates M, Hall JM, Swope DL, Harrell, JC, Couse JF. Update on animal models for analysis of estrogen receptor biological activity. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2003; 86: 387-391.
40. Bulun SE, Zeitoun KM, Takayama K and Sasano HJ. Estrogen biosynthesis in endometriosis: molecular basis and clinical relevance. *Mol Endocrinol* 2000; 25: 35-42.
41. Penning TM. Molecular endocrinology of hydroxysteroid dehydrogenases. *Endocr Rev* 1997; 18: 281-305.
42. Adamski J, Jakob FJ. A guide to 17 β -hydroxysteroid dehydrogenases. *Mol Cell Endocrinol* 2001; 171: 1-4.

43. Peltoketo H, Luu-The V, Simard J, Adamski J. 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase (HSD)/17-ketosteroid reductase (KSR) family; nomenclature and main characteristics of the 17HSD/KSR enzymes. *J Mol Endocrinol* 1999; 23: 1-11.
44. Hyndman D, Bauman DR, Heredia VV, Penning TM. The aldo-keto reductase superfamily homepage. *Chem Biol Interact* 2003; 1: 621-31.
45. Jez JM, Flynn TG, Penning TM. A new nomenclature for the aldo-keto reductase superfamily. *Biochem Pharmacol* 1997; 54: 639-47.
46. Luu-The V, Zhang Y, Poirier D and Labrie F. Characteristics of human types 1, 2 and 3 17beta-hydroxysteroid dehydrogenase activities: oxidation/reduction and inhibition. *J Steroid Biochem Molec Biol*. 1995; 55: 581-587.
47. Chai Z, Brereton P, Suzuki T, Sasano H, Obeyesekere V, Escher G, Saffery R, Fuller P, Enriquez C, Krozowski Z. 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase type XI localizes to human steroidogenic cells. *Endocrinology* 2003; 144: 2084-2091.
48. Shafqat N, Marschall H-U, Filling C, Nordling E, Wu X-Q, Bjoerk L, Thyberg J, Martensson E, Salim S, Joernvall H, Oppermann U. Expanded substrate screenings of human and Drosophila type 10 17 β -hydroxysteroid dehydrogenases (HSDs) reveal multiple specificities in bile acid and steroid hormone metabolism: characterization of multifunctional 3 α /7 α /7 β /17 β /20 β /21-HSD. *Biochem J* 2003; 376: 49-60.
49. Husen B, Psonka N, Jacob-Meisel M, Keil C and Rune GMJ. Differential expression of 17beta-hydroxysteroid dehydrogenases types 2 and 4 in human endometrial epithelial cell lines. *Mol Endocrinol* 2000; 24: 135-144.
50. Utsunomiya H, Suzuki T, Kaneko C, Takeyama J, Nakamura J, Kimura K, Yoshihama M, Harada N, Ito K, Konno R, Sato S, Okamura K And Sasano H J. The analysis of 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase isozymes in human endometrial hyperplasia and carcinoma. *Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 3436-3443.
51. Penning TM, Burczynski ME, Jez ME, Hung CF, Lin HK, Ma H, Moore M, Palackal N, Ratnam K. Human 3 α -hydroxysteroid dehydrogenase isoforms (AKR1C1-AKR1C4) of the aldo-keto reductase superfamily: functional plasticity and tissue distribution reveals roles in the inactivation and formation of male and female sex steroids. *Biochem J* 2000; 351: 67-77.
52. Zhang Y, Dufort I, Rheault P, Luu-The V. Characterization of a human 20 α -hydroxysteroid dehydrogenase. *J Mol Endocrinol* 2000; 25: 221-228.
53. Matsuzaki S, Murakami T, Uehara S, Canis M, Sasano H, Okamura K. Expression of estrogen receptor alpha and beta in peritoneal and ovarian endometriosis. *Fertil Steril* 2001; 75: 1198-1205.
54. Attia GR, Zeitoun K, Edwards D, Johns A, Carr BR, Bulun SE. Progesterone receptor isoform A but not B is expressed in endometriosis. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85: 2897-2902.
55. Sakaguchi H, Fujimoto J, Aoki I, Toyoki H, Khatun S, Tamaya T. Expression of oestrogen receptor α and β in uterine endometrial and ovarian cancers. *Eur J Cancer* 2002; 6: S74-S75.
56. Saegusa M, Okayasu I. Changes in expression of estrogen receptors alpha and beta in relation to progesterone receptor and pS2 status in normal and malignant endometrium. *Jpn J Cancer Res* 2000; 91: 510-518.
57. Ebert AD, Bartley J, David M, Schweppe KW. Aromatase inhibitors - theoretical concept and present experience in the treatment of endometriosis. *Zentralbl Gynakol* 2003; 125: 247-251.
58. Ailawadi RK, Jobanputra S, Kataria M, Gurates B, Bulun SE. Treatment of endometriosis and chronic pelvic pain with letrozole and norethindrone acetate: a pilot study. *Fertil Steril* 2004; 81: 290-296.

Prispelo 28. 4. 2004