

## ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ

### *Μπορεί η τεστοστερόνη να έχει θεραπευτικό ρόλο στον καρκίνο του προστάτη;*

**Κ. Σταματίου, Α. Λαμπρακόπουλος.**

Ουρολογική Κλινική, Γενικό Νοσοκομείο Πειραιά «Τζάνειο»

(Επιστημονικά Χρονικά 2012;17(2):71-78)

#### ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Παραδοσιακά, η τεστοστερόνη θεωρείται παράγοντας προαγωγής για την ανάπτυξη και την πρόοδο του καρκίνου του προστάτη. Ωστόσο, ενώ η αποστέρηση των ανδρογόνων υποστρέφει τον τοπικά προχωρημένο και μεταστατικό καρκίνο του προστάτη η αποκατάσταση της τεστοστερόνης δεν φαίνεται να προάγει την ανάπτυξή του. Πρόσφατες ανακαλύψεις παρέχουν ενδείξεις ότι ο ανδρογονικός υποδοχέας διαδραματίζει κρίσιμο ρόλο τόσο στην ανάπτυξη όσο και την πρόοδο του προστατικού καρκίνου. Η τελευταία, αποδείχτηκε ότι συνδέεται με αλλαγές στον άξονα του ανδρογονικού υποδοχέα και συγκεκριμένα με την μετατροπή του από μια παρακρινικά εξαρτώμενη σηματοδότηση του πολλαπλασιασμού των προστατικών κυττάρων σε μια ανεξάρτητη αυτοκρινή διαδικασία. Αυτή η κακοήθης μετατροπή οφείλεται σε λειτουργικές αλλαγές κατά τις οποίες οι ανδρογονικοί υποδοχείς ενεργοποιούν όχι μόνο τις φυσιολογικές γενομικές διαβιβάσεις των σημάτων πολλαπλασιασμού αλλά και νέες μη γενομικές διαβιβάσεις οι οποίες δεν είναι παρούσες στα φυσιολογικά προστατικά επιθηλιακά κύτταρα. Έτσι, τόσο η βοηθητική (adjuvant) ορμονοθεραπεία όσο και η βασική ορμονική θεραπεία βασίζονται στη ρύθμιση και το έλεγχο της μεταβολικής οδού των ανδρογόνων, στην οποία ο κυτταροπλασματικός ανδρογονικός υποδοχέας διαδραματίζει έναν ακέραιο ρόλο. Πρόσφατες ανακαλύψεις ωστόσο προσφέρουν ισχυρές ενδείξεις για μια άμεση αποπτωτική δραστηριότητα με την ενεργοποίηση των μεμβρανικών υποδοχέων ανδρογόνων (mAR) από το σύμπλεγμα λευκωματίνης-τεστοστερόνης (BSA).

**Λέξεις ευρητηρίου:** Τεστοστερόνη, καρκίνος προστάτη, σύμπλεγμα λευκωματίνης-τεστοστερόνης

(Υποβολή: 19/1/12, Αποδοχή: 10/3/12)

#### ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1. Μορφές κυκλοφορούσας τεστοστερόνης και ανδρογονικών υποδοχέων.

Ένα πολύ μικρό μέρος της παραγόμενης τεστοστερόνης κυκλοφορεί στο πλάσμα ελεύθερη. Περίπου το 50% είναι συνδεδεμένο με μια β-σφαιρίνη, την δεσμευτική σφαιρίνη των ορμονών του φύλου (SHBG). Το σύμπλοκο τεστοστερόνης-SHBG εμφανίζει υψηλή συγγένεια για την τεστοστερόνη αλλά της προσδίδει περιορισμένη συνδετική ικανότητα. Η υπόλοιπη ποσότητα είναι συνδεδεμένη με λευκωματίνη (αλμπουμίνη). Το σύμπλοκο τεστοστερόνης-λευκωματίνης εμφανίζει χαμηλή συγγένεια για την τεστοστερόνη αλλά της προσδίδει μια υψηλή

συνδετική ικανότητα. Λόγω της υψηλής δεσμευτικής συγγένειας της SHBG, μόνο η ελεύθερη τεστοστερόνη και ένα μικρό ποσοστό της συνδεδεμένης με λευκωματίνη τεστοστερόνης θεωρούνται βιοδραστικές.

Πράγματι, σύμφωνα με την ισχύουσα αντίληψη, τα στεροειδή μόρια όπως η τεστοστερόνη, εισέρχονται στο κύτταρο στόχο (πχ. του προστάτη αδένου), διαπερνώντας παθητικά την κυτταρική μεμβράνη (δια της διαχύσεως). Αφού συνδεθούν στο κυτταρόπλασμα με ενδοκυττάρους υποδοχείς ανδρογόνων (iAR) υφίστανται τροποποίηση στη δομή τους με την δημιουργία μιας δεσμευτικής περιοχής για το DNA. Το φαινόμενο αυτό πραγματοποιείται με τη μετατροπή της τεστοστερόνης στην δραστική της μορφή την

διυδροτεστοστερόνη). Το σύμπλεγμα που προκύπτει (διυδροτεστοστερόνη και υποδοχέας) μεταναστεύει στον πυρήνα, όπου πυροδοτεί την μεταγραφή των γονιδίων σε mRNA ώστε τελικά να παραχθούν πρωτεϊνικά μόρια, τα οποία ασκούν αυστηρά καθορισμένες βιολογικές λειτουργίες [1,2]. Το χρονικό διάστημα από την εκκίνηση έως την ολοκλήρωση της διαδικασίας που εντέλει η πρωτεϊνική έκφραση του γονιδίου μέσω αυτού του μηχανισμού διαρκεί τουλάχιστον 30-45 λεπτά, ενώ το χρονικό διάστημα που απαιτείται για να παραχθούν σημαντικά επίπεδα πρωτεΐνης είναι της τάξεως των 3-4 ωρών [3,4].

Έχει αποδειχθεί ωστόσο η παρουσία υποδοχέων σύνδεσης των στεροειδών ορμονών και στο κυτταρικό τοίχωμα του προστατικού κυττάρου, γεγονός άλλωστε που δικαιολογεί την υψηλή συνδετική ικανότητα του συμπλόκου τεστοστερόνης-λευκωματίνης [5]. Αξίζει επιπλέον να αναφερθεί ότι τα προστατικά κύτταρα διαθέτουν υποδοχείς για την SHBG, γεγονός που επιτρέπει την σύνδεση του συμπλόκου τεστοστερόνης-SHBG με το κυτταρόπλασμα. Όταν η δεσμευμένη τεστοστερόνη, εισέλθει στο κύτταρο στόχο (διαπερνώντας την κυτταρική μεμβράνη με τη βοήθεια μεταφορικών πρωτεϊνών) δρα σε τοπικά κανάλια στο κυτταρόπλασμα οδηγώντας στην ενεργοποίηση του κυκλικού AMP. Η δράση αυτή εκδηλώνεται σε διάστημα ελάχιστων λεπτών. Αποτελεί σημείο διχογνωμίας εάν αυτή η ταχεία κορτικοειδική δράση συνδέεται πράγματι με τους υποδοχείς σύνδεσης των στεροειδών ορμονών του κυτταρικού τοιχώματος ή εάν αντιπροσωπεύει μια πρόσθετη λειτουργία των κλασικών κυτταροπλασματικών υποδοχέων. Πράγματι, η σηματοδοτούμενη από στεροειδείς ορμόνες εκδήλωση ταχέων μη γενομικών φαινομένων μπορεί να διαμεσολαβείται από τους κλασικούς υποδοχείς όπως συμβαίνει στην περίπτωση εστραδιόλης και της προγεστερόνης, ωστόσο, πολυάριθμες στεροειδικές δράσεις που είναι ασυμβίβαστες με την ύπαρξη ενός αποκλειστικού κλασικού υποδοχέα συνηγορούν στην ύπαρξη μη κλασικών υποδοχέων (ενδεχομένως εντοπιζόμενων στην κυτταρική μεμβράνη) για τις στεροειδείς ορμόνες, που επιτελούν μια μη γενομική λειτουργία. Άλλωστε υπάρχουν πολλές κυτταρικές δραστηριότητες για των οποίων την πραγματοποίηση δεν χρειάζεται να προηγηθεί οποιαδήποτε δράση στο γονιδίωμα, όπως για παράδειγμα η μεταγραφή και η μετάφραση οι οποίες πραγματοποιούνται σε σύντομο χρονικό διάστημα και δεν επηρεάζονται από ανασταλτικούς παράγοντες (inhibitors).

2. Υποδοχείς στεροειδών ορμονών συνδεόμενοι με μη γενομικές δράσεις.

Πειραματικά συστήματα που υποδηλώνουν την παρουσία μορίων υποδοχέων στεροειδών που δεν είναι πανομοιότυποι με τους κλασικούς κυτταροπλασματικούς υποδοχείς των στεροειδών ορμονών αποτέλεσαν τις πρώτες ενδείξεις για την ύπαρξη τους [6]. Τέτοιοι υποδοχείς σύνδεσης στεροειδών ορμονών οι οποίοι επιπλέον συνδέονται με την έκλυση ταχέων μη γενομικών φαινομένων έχουν ήδη περιγραφεί σε διάφορους ιστούς από εικοσιπενταετίας είναι δε αξιοσημείωτο ότι, οι υποδοχείς αυτοί εντοπίστηκαν και σε κύτταρα που στερούνται των κλασικών υποδοχέων (μονοκύτταρα, T λεμφοκύτταρα) [7-9]. Μόλις προ δεκαετίας ταυτοποιήθηκαν μη κλασικοί στεροειδικοί υποδοχείς στη κυτταρική μεμβράνη κυττάρων που φέρουν τους κλασικούς υποδοχείς των ανδρογόνων όπως οι οστεοβλάστες και τα κύτταρα του προστατικού αδενικού επιθηλίου [5,10]. Η ακριβής επίδραση των στεροειδών μέσω των υποδοχέων αυτών δεν έχει διευκρινιστεί πλήρως. Έως τώρα έχει διαπιστωθεί η ρύθμιση των κινάσων (kinase regulation), η τροποποίηση των κυκλικών νουκλεοτιδίων (cyclic nucleotide modulation), και η ενδοκυττάρια αναδιάρθρωση του ασβεστίου (intracellular calcium changes) [11-17]. Οι παραπάνω δράσεις είναι ταχύτατες: η προγεστερόνη προκαλεί μια σημαντική αύξηση στο ενδοκυτταρικό ασβέστιο των σπερματοζωαρίων που πραγματοποιείται εντός ελάχιστων δευτερολέπτων [18], ενώ η αλδοστερόνη πυροδοτεί την ανταλλαγή ιόντων νατρίου-υδρογόνου στα κύτταρα λεπτού εντέρου σε χρονικό διάστημα μικρότερο του ενός λεπτού [19, 20]. Η επίδραση της τεστοστερόνης στους οστεοβλάστες αρσενικών ποντικών, προκάλεσε εντός μόλις πέντε δευτερολέπτων αύξηση του ενδοκυττάρου ασβεστίου [21] και σύνθεση IP3 και DAG εντός μόλις δέκα δευτερολέπτων [22]. Οι δράσεις αυτές είναι δόσο- εξαρτώμενες και δεν επηρεάζονται από εξωγενείς παράγοντες, ο δε χρόνος πραγματοποίησής τους είναι σταθερά ταχύς: Η επίδραση τεστοστερόνης σε φυσιολογικές τιμές (1-10nM) σε ενεργοποιημένα T λεμφοκύτταρα και σε υψηλές συγκεντρώσεις (0.3-3M) σε απομονωμένα κύτταρα Sertoli, αποδείχθηκε πως αυξάνει το ενδοκυττάριο ασβέστιο μέσω εισροής σε παρόμοια μικρό χρονικό διάστημα [23, 24]. Αντίστοιχη αύξηση του ενδοκυττάρου ασβεστίου και τριπλασιασμό των επιπέδων IP3 προξένησε η επίδραση 50-100 nM τεστοστερόνης σε μυϊκά κύτταρα αρσενικών ποντικών και ανδροστενεδιόνης σε ανθρώπινα και χοίρια ωθηκικά κύτταρα [25, 26]. Η αύξηση του ενδοκυττάρου ασβεστίου που παρατηρήθηκε στις παραπάνω μελέτες ήταν δόσο-εξαρτώμενη, με τη μέγιστη δραστηριότητα στα 1 nM

ανδροστενεδιόνης στα χοίρεια και 10 nM στα ανθρώπινα κύτταρα. Ταχεία ανδρογονική δράση έχει περιγραφεί και στον καρδιακό ιστό με άλλοτε άλλο βιολογικό αποτέλεσμα [27, 28] αλλά και στο νευρωνικό [29] και στο ηπατικό κύτταρο [30]. Το γεγονός ότι οι παραπάνω δράσεις διαπιστώνονται σε κύτταρα χωρίς λειτουργικό πυρήνα όπως τα ερυθροκύτταρα, τα αιμοπετάλια, ή τα σπερματοζωάρια αλλά και ότι δεν αναστέλλονται από τους ανταγωνιστές των πυρηνικών ανδρογονικών υποδοχέων (hydroxyflutamide & cyproterone), ενισχύουν την άποψη ότι αυτές πραγματοποιούνται διαμέσου των μη κλασικών στεροειδικών υποδοχέων [20]. Η άποψη αυτή ενισχύεται επιπλέον από την διαπίστωση αντίστοιχων ευρημάτων σε πειράματα με μακροφάγα κύτταρα ποντικών τα οποία αν και στερούνται τυπικών ανδρογονικών υποδοχέων εμφανίζουν ταχεία ανταπόκριση στον ερεθισμό από ανδρογόνα (IC-21) [31].

## ΑΝΔΡΟΓΟΝΙΚΟΙ ΥΠΟΔΟΧΕΙΣ ΚΑΙ ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΤΟΥ ΠΡΟΣΤΑΤΗ

1. Ο ρόλος των ανδρογόνων και των κλασικών ανδρογονικών υποδοχέων.  
Είναι ευρέως γνωστό ότι η τεστοστερόνη είναι ίσως ο σημαντικότερος παράγοντας για την αύξηση και λειτουργία του φυσιολογικού προστατικού αδένου. Τα αδένια και οι πόροι του προστατικού αδένου επενδύονται από ένα επιθηλιακό στρώμα που απαρτίζεται από δυο σειρές κυττάρων. Τα βασικά κύτταρα δεν φέρουν κλασικούς υποδοχείς ανδρογόνων ωστόσο διαφοροποιούνται (διαμέσου μιας μεταβατικής μορφής που επίσης δεν φέρει κλασικούς υποδοχείς ανδρογόνων) σε εκκριτικά και νευροενδοκρινή κύτταρα που έχουν υποδοχείς ανδρογόνων. Το επιθήλιο πλαισιώνεται από ένα ινομυώδες στρώμα τα κύτταρα του οποίου (λεία μυϊκά κύτταρα και ινοβλάστες) φέρουν επίσης υποδοχείς ανδρογόνων. Τα ανδρογόνα δραματίζουν σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη και την διατήρηση τόσο του φυσιολογικού όσο και του νεοπλασματικού προστατικού αδένου. Η εξάρτηση του προστατικού καρκίνου από τα ανδρογόνα είναι γνωστή από τα μέσα του προηγούμενου αιώνα από την ανακάλυψη της θεραπείας στέρησης ανδρογόνων του προστατικού καρκίνου από τους Huggins και Hodges. Ο ανδρογονικός αποκλεισμός στην πλήρη μορφή του (εξάλειψη της ορμικής τεστοστερόνης και ανταγωνισμός του κλασικού ανδρογονικού υποδοχέα) παραμένει ο χρυσός κανόνας στην αντιμετώπιση του μεταστατικού προστατικού καρκίνου, ενώ χρησιμοποιείται ως συμπληρωματική θεραπεία (adjuvant και neoadjuvant) στον προχωρημένο καρκίνο [32]. Δυστυχώς, παρά την αρχική ευνοϊκή απάντηση στη θεραπεία στέρησης ανδρογόνων,

πολλοί καρκίνοι εξελίσσονται σε ανδρογόνο-ανεξάρτητες ή ορμονο-ανθεκτικές μορφές και υποτροπιάζουν. Εξαιτίας αυτού η θεραπεία στέρησης ανδρογόνων είναι βοηθητική και όχι οριστική ανεξάρτητα από το πόσο πλήρης είναι η αφαίρεση. Υπεύθυνοι για την εξέλιξη είναι οι ίδιοι οι ανδρογονικοί υποδοχείς: αντίθετα με την παλαιότερη άποψη ότι εξαντλούνται σταδιακά ακολουθώντας την εξάλειψη των διαθέσιμων ανδρογόνων, σήμερα πιστεύεται ότι υφίστανται μεταλλάξεις ή γονιδιακή ενίσχυση. Αν και στην κατάσταση ορμονοαντοχής τα επίπεδα των ανιχνεύσιμων υποδοχέων ανδρογόνων του προστάτη περιορίζονται υπάρχουν ισχυρές ενδείξεις παρουσίας ανδρογονικών υποδοχέων στους ανδρογόνο-ανεξάρτητους, τους ευρισκόμενους υπό στέρηση ανδρογόνων και στους προστατικούς καρκίνους που υποτροπιάζουν στην θεραπεία αποστέρησης των ανδρογόνων [33]. Το γεγονός ότι η πρωτεΐνη του ανδρογονικού υποδοχέα εκφράζεται στους ασθενείς με ανδρογόνο-ανεξάρτητο προστατικό καρκίνο [33-35], υποδηλώνει την διατήρηση ή την επανάκαμψη του ανδρογονικού υποδοχέα [36]. Επιπλέον η διαπίστωση μιας ενδιάμεσης ορμονοανεξάρτητης κατάστασης από την ορμονοευαισθησία στην ορμονοαντοχή (σύνδρομο στέρησης αντιανδρογόνων) ενισχύει περισσότερο την παραπάνω άποψη καθώς θα μπορούσε να ερμηνευτεί ως φαινοτυπική εκδήλωση της φάσης μετάλλαξης του ανδρογονικού υποδοχέα [37]. Σύμφωνα με πειραματικά στοιχεία, τα θετικά σε ανδρογόνο-υποδοχείς κύτταρα παράγουν έναν αυξητικό παράγοντα που ενεργοποιεί με παρακρινικό τρόπο την παραγωγή αρνητικών σε ανδρογόνο-υποδοχείς κυττάρων [38]. Αν και, όπως προαναφέρθηκε, στην κατάσταση ορμονοαντοχής τα επίπεδα των ανιχνεύσιμων υποδοχέων ανδρογόνων του προστάτη περιορίζονται και τα ανδρογόνο-ανθεκτικά κύτταρα πολλαπλασιάζονται ανεξαρτήτως της παρουσίας ανδρογόνων, τα τελευταία έχουν ανάγκη τους υποδοχείς ανδρογόνων για την επιβίωσή τους [39]. Πράγματι, εάν με ενδοκυτταρική έγχυση, περιοριστεί πέρα από ένα σημείο, η έκφραση των ανδρογονικών υποδοχέων καρκινικών κυττάρων σειρών που προέρχονται από ανδρογόνο-ανθεκτικούς καρκίνους (LNCaP, LAPC-4, LAPC-9, MDA-PC-2B, V-Cap, DuCap, LNCaP), διακόπτεται ο πολλαπλασιασμός των ανδρογόνο-ανθεκτικών κυττάρων και τα κύτταρα αυτά πεθαίνουν [40-42]. Η ιδιότητα αυτή αφορά κατά κύριο λόγο τους μη κλασικούς υποδοχείς ανδρογόνων που εκφράζονται κατά προτίμηση στα ανθρώπινα προστατικά καρκινικά κύτταρα [43].

2. Ο ρόλος των μη κλασικών ανδρογονικών

υποδοχέων.

Αν και δεν έχουν διερευνηθεί επαρκώς, οι μεμβρανικοί ανδρογονικοί υποδοχείς επιτελούν μια σειρά από μη γενομικές δραστηριότητες που περιλαμβάνουν τη ρύθμιση των κινασών (kinase regulation), την τροποποίηση των κυκλικών νουκλεοτιδίων (cyclic nucleotide modulation), και την ενδοκυττάρια αναδιάταξη του ασβεστίου (intracellular calcium changes) [11-17]. Ειδικότερα, η ενδοκυττάρια αναδιάταξη του ασβεστίου φαίνεται πως συνδέεται με την αποπτωτική διαδικασία και τον προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο και έχει ξεχωριστή σημασία στο καρκινικό κύτταρο. Πράγματι, τα αποτελέσματα σχετικά πρόσφατων ερευνών τόσο σε καλλιεργημένα ανθρώπινα κύτταρα καρκίνου του προστάτη (LNCaP) όσο και σε άμεσο παρασκεύασμα ανθρώπινου καρκίνου του προστάτη προσφέρουν ισχυρές ενδείξεις για μια αντικαρκινική δραστηριότητα μετά απο την ενεργοποίηση των μεμβρανικών υποδοχέων ανδρογόνων (mAR) από το σύμπλεγμα λευκωματίνης-τεστοστερόνης (BSA) [43-46]. Συγκεκριμένα παρατηρήθηκαν, αναστολή της ανάπτυξης των LNCaP καρκινικών κυττάρων, επαγωγή της απόπτωσης και της απελευθέρωσης της προ-αποπτωτικής πρωτεΐνης Fas στα κύτταρα LNCaP και, σημαντική μείωση στη μετανάστευση, την προσκόλληση, και την ανάπτυξη των ανδρογονοανθεκτικών ανθρώπινων προστατικών καρκινικών κυττάρων DU145 [43-46]. Το γεγονός ότι οι παραπάνω αντινεοπλασματικές δράσεις παραμένουν ακόμα και επί παρουσίας του αντί-ανδρογόνου φλουταμίδη τόσο στα αρνητικά σε iAR, ανθρώπινα καρκινικά κύτταρα (DU145), όσο και σε επεξεργασμένα (με iAR antisense oligonucleotide), θετικά σε κυτταροπλασματικούς ανδρογονικούς υποδοχείς, καλλιεργημένα ανθρώπινα καρκινικά κύτταρα (LNCaP), δείχνει ότι η δράση αυτή συμβαίνει ανεξάρτητα από τους κυτταροπλασματικούς ανδρογονικούς υποδοχείς πιθανώς στο επίπεδο των μεμβρανικών ανδρογονικών υποδοχέων [43-46]. Είναι αξιοσημείωτο ότι η θεραπεία με το σύμπλεγμα τεστοστερόνης-BSA σε δόση (4.8 mg/kg βάρους σώματος) σε εμβολιασμένα με LNCaP κύτταρα ποντίκια για ένα μήνα οδήγησε σε 60% μείωση του μεγέθους του όγκου, χωρίς μάλιστα το αποτέλεσμα αυτό να επηρεαστεί από την χορήγηση αντιανδρογόνου όπως προαναφέρθηκε.

Αν και δεν έχει διαλευκανθεί πλήρως η δράση του συμπλέγματος λευκωματίνης-τεστοστερόνης στο προστατικό καρκινικό κύτταρο, ούτε έχει διευκρινιστεί η συμμετοχή της λευκωματίνης στην αντικαρκινική δραστηριότητα του συμπλόκου πέραν της δεσμευτικής της δράσης της επί της τεστοστερόνης (αν και είναι γνωστό ότι η λευκωματίνη αναστέλλει τη παραγωγή της ακτίνης

και επιδρά έτσι στο σχηματισμό του κυτταροσκελετού), τα παραπάνω αποτελέσματα αποσυνδέουν την τεστοστερόνη από την κλασική θεώρησή της ως επαγωγικό παράγοντα στον καρκίνο του προστάτη. Αξίζει να αναφερθεί ότι αντικαρκινικές δράσεις των ανδρογόνων έχουν διαπιστωθεί και στην περίπτωση της 3B-Adiol, ενός μεταβολίτη της διυδροτεστοστερόνης (5A-androstane-3B,17B-diol) η οποία μέσω της ενεργοποίησης του υποδοχέα οιστρογόνων B (ERB) και της επακόλουθης σηματοδότησης ασκεί ανασταλτική δράση στη μετανάστευση κυττάρων καρκίνου του προστάτη [47, 48]. Ένα άλλο βιοχημικό μονοπάτι που ενδεχομένως εμπλέκεται στην αποπτωτική διαδικασία είναι η ενεργοποίηση του υποδοχέα του νεκρωτικού παράγοντα όγκων TNF RSF6 (FAS) από τα ανδρογόνα, δεδομένου του ότι τα ανθρώπινα κύτταρα καρκίνου του προστάτη, καθώς και οι καρκινικές κυτταρικές σειρές LNCaP και DU145, εκφράζουν το γονίδιο FasL και παράγουν το τελικό προϊόν του [49, 50]. Σύγχρονες μελέτες απέδειξαν ότι το φαινόμενο αυτό αφορά και άλλα όργανα εκτός του προστάτη: η ενεργοποίηση των υποδοχέων των ανδρογόνων της κυτταρικής μεμβράνης σε καρκινικά κύτταρα του κόλον εμποδίζει τόσο in vitro όσο και in vivo την σηματοδότηση Akt/bad και vinculin/actin και εμποδίζει τη μετανάστευσή τους [51].

3. Η αποπτωτική οπισθοδρόμηση του καρκίνου προστάτη μέσω της ενεργοποίησης των μεμβρανικών υποδοχέων ανδρογόνων και της κινητοποίησης του ενδοκυττάρου ασβεστίου, στην ακτίνη του κυτταροσκελετού.

Η ακτίνη του κυτταροσκελετού αποτελεί δομικό στοιχείο του κυτταρικού υποστρώματος και επηρεάζει πολλές λειτουργίες του κυττάρου όπως την κινητικότητα, την διαίρεση (πολλαπλασιασμό) και την έκκριση και έχει ζωτική σημασία στην επιβίωση των κυττάρων. Ο μηχανισμός με τον οποίο ασκείται η μη γενομική επίδραση των ανδρογόνων στον κυτταροσκελετό μέσω των μεμβρανικών ανδρογονικών υποδοχέων, δεν είναι πλήρως διακριβωμένος. Σε πειραματικό επίπεδο, έχει παρατηρηθεί ότι η έκθεση προστατικών καρκινικών κυττάρων (LNCaP) στο σύμπλεγμα τεστοστερόνης βοείας λευκωματίνης (testosterone-BSA), προξενεί φωσφορυλίωση μιας πρωτεϊνικής τυροσινικής κινάσης, της FAK (focal adhesion kinase), η ένωση της οποίας με το σηματοδοτικό μόριο phosphatidylinositol-3 (PI-3) kinase, οδηγεί στην ενεργοποίηση του καθώς και στην ενεργοποίηση των Cdc42/Rac1 GTPασών. Η αλληλουχία των παραπάνω γεγονότων επιδρά στην διάταξη της ακτίνης του κυτταροσκελετού [52]. Είναι ήδη γνωστό ότι ποικίλα ερεθίσματα, συμπεριλαμβανομένων των integrins, των

παραγόντων αύξησης, των κυτοκινών, των νευροπεπτιδίων και των στεροειδών ορμονών όπως τα ανδρογόνα τροποποιούν τη δράση της focal adhesion kinase (FAK) η οποία με τη σειρά της ενεργοποιεί πρωτεϊνικά σήματα αναδιοργάνωσης του κυτταροσκελετού [17, 53]. Ωστόσο, σημείο κλειδί στον έλεγχο της κυτταρικής ανάπτυξης, στην κυτταρική επιβίωση, στην κακοήγη μεταλλαγή και στη διήθηση αποτελεί η PI-3 kinase η οποία φαίνεται πως ενεργοποιείται με διαφορετικές οδούς από την FAK (downstream) και τις Cdc42/Rac1 (upstream), προκαλώντας μεταβολές της διάταξης του κυτταροσκελετού με διαφορετική κατάληξη ανάλογα με την κατεύθυνση [54, 55]. Η ενεργοποίηση της PI-3 από την επίδραση του συμπλέγματος τεστοστερόνης-λευκωματίνης στους μεμβρανικούς ανδρογονικούς υποδοχείς ανθρώπινων καρκινικών LNCaP κυττάρων αύξησε σημαντικά την φωσφορυλίωση της FAK η σύνδεση της οποίας με την υπομονάδα p85 της PI-3 κινάσης προκάλεσε μέσω μιας ταχείας μη γενομικής δράσης την αναδιοργάνωση της ακτίνης του κυτταροσκελετού με τη δημιουργία προβολών της μεμβράνης του κυττάρου (filopodia, lamellipodia) [44]. Τέτοιες αναδιατάξεις του κυτταροσκελετού έχουν συνδεθεί με την κακοήγη μεταλλαγή, την κυτταρική μετανάστευση και την καρκινική διήθηση [56, 57]. Σε επιβεβαίωση των παραπάνω παρατηρήσεων, η FAK βρέθηκε ιδιαίτερα ενεργοποιημένη σε καρκινικό ιστό ασθενών με μεταστατικό καρκίνο του προστάτη [58]. Είναι μάλιστα αξιοσημείωτο ότι η σύνδεση της φωσφορυλιωμένης FAK με την υπομονάδα p85 στη μελέτη αυτή βρέθηκε σημαντικά υψηλότερη όταν ο μεμβρανικός ανδρογονικός υποδοχέας ενεργοποιήθηκε από το σύμπλοκο τεστοστερόνης-λευκωματίνης παρά απ' ότι με την διυδροτεστοστερόνη. Στην ίδια μελέτη -όπως προαναφέρθηκε- η επίδραση του συμπλέγματος τεστοστερόνης-λευκωματίνης οδηγεί σε ποσοτική αύξηση των Cdc42/Rac1 GTPασών, πιθανώς μέσω της upstream ενεργοποίησης της κινάσης PI-3. Παρόλο που οι μικρές GTPases θεωρούνται παράγοντες που επηρεάζουν σημαντικά την διηθητικότητα των καρκινικών κυττάρων (η μεν ενεργοποίηση του Cdc42 έχει ως αποτέλεσμα την δημιουργία filopodia, η δε ενεργοποίηση του Rac1 έχει ως αποτέλεσμα την δημιουργία κυματοειδών προεκβολών του κυτταροπλάσματος και lamellipodia), στην πραγματικότητα ο ρόλος τους στην κυτταρική απάντηση διαφέρει ανάλογα με τον τύπο του κυττάρου. Στα επιθηλιακά κύτταρα, όπως του προστάτη, η ενεργοποίηση των Cdc42 και Rac1 οδηγεί σε οπισθοδρόμηση των καρκινικών κυττάρων και εμποδίζει τη μετανάστευση και τη διήθηση [59]. Από τα παραπάνω καθίσταται πιθανό ότι η ευόδωση ή η αναστολή της ανάπτυξης

του καρκίνου εξαρτάται μάλλον από την κατεύθυνση της ενεργοποίησης της PI-3 των καρκινικών κυττάρων. Η παράλληλη παρουσία στοιχείων τόσο της downstream όσο και της upstream ενεργοποίησης στο πειραματικό μοντέλο (ανθρώπια καρκινικά LNCaP κύτταρα) και η διαφορετική κατάληξη ανά περίπτωση φαίνεται να στηρίζουν την παραπάνω υπόθεση [46]. Το φαινόμενο εμφανίζει δόσο-εξάρτηση και χρόνο-εξάρτηση: Η αντινεοπλασματική δραστηριότητα του συμπλέγματος εμμένει για περισσότερο από 48 ώρες, ακόμα και μετά από την απόσυρση του συμπλέγματος τεστοστερόνης-λευκωματίνης και μεμβρανικών ανδρογονικών υποδοχέων από το μέσο καλλιέργειας [46]. Σύμφωνα με πρόσφατες παρατηρήσεις, ο χρόνιος ερεθισμός των μεμβρανικών ανδρογονικών υποδοχέων οδηγεί πράγματι σε αναστολή της κυτταρικής ανάπτυξης και απόπτωση μέσω της ενεργοποίησης του μηχανισμού αποδιοργάνωσης της ακτίνης ενώ αντίθετα, η χρόνια αποστέρωση των ανδρογόνων φαίνεται πως αυξάνει την αντίσταση των καρκινικών κυττάρων στην επαγωγή της απόπτωσης μέσω του ίδιου μηχανισμού [52]. Πέρα από την αδιαμφισβήτητη διαπίστωση ότι οι μεμβρανικοί υποδοχείς αποτελούν τον μεσολαβητή των παραπάνω δραστηριοτήτων, παραμένουν αδιευκρίνιστοι πολλοί άλλοι μηχανισμοί μεταξύ των συμπλεγμάτων της τεστοστερόνης και των ανδρογονικών υποδοχέων καθώς και ο τρόπος αξιοποίησης αυτής της αντινεοπλασματικής δραστηριότητας.

## ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Συμπερασματικά, η διερεύνηση των μοριακών οδών της απόπτωσης μέσω της ενεργοποίησης του μεμβρανικού ανδρογονικού υποδοχέα στο ανδρογόνο-ανεξάρτητο προστατικό καρκινικό κύτταρο είναι σημαντική αφενός γιατί μπορεί να βοηθήσει στην κατανόηση και την ερμηνεία άγνωστων έως τώρα χαρακτηριστικών του καρκίνου του προστάτη και αφετέρου μπορεί να συμβάλλουν στην αξιοποίηση των μη κλασικών ανδρογονικών υποδοχέων. Το τελευταίο θα μπορούσε να αποτελέσει τη βάση μιας νέας προοπτικής στην κλασική θεώρηση της ορμονικής θεραπείας αρκεί να ληφθεί υπ' όψιν ότι ο προσδιορισμός μεμβρανικών περιοχών σύνδεσης της τεστοστερόνης αποτελεί ένα σταθερό χαρακτηριστικό τόσο των θετικών σε υποδοχείς ανδρογόνων καρκινικών κυττάρων όσο και των αρνητικών, ανεξάρτητα από την έκφραση των ενδοκυττάρων υποδοχέων. Στα πλαίσια μιας μελλοντικής θεραπείας του προστατικού καρκίνου το σύμπλεγμα τεστοστερόνης-λευκωματίνης μπορεί να αποτελέσει μια ξεχωριστή κατηγορία

αντινεοπλασματικών παραγόντων για τον καρκίνο του προστάτη, είτε να συνδυαστεί με τις

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Beato M, Chavez S, Truss M. Transcriptional regulation by steroid hormones. *Steroids*. 1996;6:240–251.
2. Beato M, Klug J. Steroid hormone receptors: an update. *Hum Reprod Update* 2000;6:225–236.
3. Shang Y, Hu X, DiRenzo J, Lazar MA, Brown M. Cofactor dynamics and sufficiency in estrogen receptor-regulated transcription. *Cell*. 2000;103:843–852.
4. Shang Y, Myers M, Brown M. Formation of the androgen receptor transcription complex. *Molecular Cell*. 2002;9:601–610
5. Lyng FM, Jones GR, Rommerts FF. Rapid androgen actions on calcium signaling in rat Sertoli cells and two human prostatic cell lines: similar biphasic responses between 1picomolar and 100 nanomolar concentrations. *Biol Reprod*. 2000;63:736–747.
6. Losel R, Falkenstein E, Feuring M, et al. Nongenomic Steroid Action: Controversies, Questions, and Answers. *Physiol Rev*. 2003;83:965-1016.
7. Falkenstein E, Tillmann HC, Christ M, Feuring M, Wehling M. Multiple actions of steroid hormones -a focus on rapid nongenomic effects. *Pharmacol Rev*. 2000;52:513–555.
8. Benten WP, Lieberherr M, Giese G, et al. Functional testosterone receptors in plasma membranes of T cells. *FASEB J*. 1999; 13:123–133.
9. Benten WP, Lieberherr M, Sekeris CE, Wunderlich F. Testosterone induces Ca<sup>2+</sup> influx via non-genomic surface receptors in activated T cells. *FEBS Lett*. 1997;407:211–214.
10. Armen TA, Gay CV. Simultaneous detection and functional response of testosterone and estradiol receptors in osteoblast plasma membranes. *J Cell Biochem*. 2000;79:620–627.
11. Chambliss KL, Shaul P. Estrogen modulation of endothelial nitric oxide synthase. *Endocr Rev*. 2002;23:665–686.
12. Chambliss KL, Shaul P. Rapid activation of endothelial NO synthase by estrogen: evidence for a steroid receptor fast-action complex (SRFC) in caveolae. *Steroids*. 2002;67:413–419.
13. Herve JC. Non-genomic effects of steroid hormones on membrane channels. *Mini Rev Med Chem*. 2002;2:411–417.
14. Levin ER. Cell localization, physiology and nongenomic actions of estrogen receptors. *J Appl Physiol*. 2001;91:1860–1867.
15. Cato AC, Nestl A, Mink S. Rapid actions of steroid receptors in cellular signaling pathways. *Sci STKE*. 2002:RE9
16. Davis PJ, Tillmann HC, Davis FB, Wehling M. Comparison of the mechanisms of nongenomic actions of thyroid hormone and steroid hormones. *J Endocrinol Invest*. 2002;25:377–388.
17. Koukouritaki S, Gravanis A, Stournaras C. Tyrosine-phosphorylation of focal adhesion kinase and paxillin regulates the signalling mechanism of the rapid nongenomic action of dexamethasone on actin cytoskeleton. *Mol Med*. 1999;5:731–742.
18. Blackmore PF, Beefe SJ, Danforth DR, Alexander N. Progesterone and 17 alphahydroxyprogesterone. Novel stimulators of calcium influx in human sperm. *J Biol Chem*. 1990;265:1376–1380.
19. Winter DC, Schneider MF, O'Sullivan GC, Harvey BJ, Geibel JP. Rapid effects of aldosterone on sodium-hydrogen exchange in isolated colonic crypts. *J Membr Biol*. 1999;170:17–26.
20. Wehling M. Specific non-genomic effects of steroid hormones. *Annu Rev Physiol*. 1997;59:365–393
21. Lieberherr M, Groose B. Androgens increase intracellular calcium concentration and inositol 1,4,5-trisphosphate and diacylglycerol formation via a pertussis toxin-sensitive G-protein. *J Biol Chem*. 1994;269:7217–7223.
22. Estrada M, Liberona JL, Miranda M, Jaimovich E. Aldosterone and testosterone mediated intracellular calcium response in skeletal muscle cell cultures. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2000;279:E132–E139.
23. Benten WP, Lieberherr M, Giese G, et al. Functional testosterone receptors in plasma membranes of T cells. *FASEB J*. 1999;13: 123–133.
24. Gorczyńska E, Handelsman DJ. Androgens rapidly increase the cytosolic calcium concentration in Sertoli cells. *Endocrinology*. 1995;136:2052–2059.
25. Lieberherr M, Grosse B, Machelon V. Phospholipase C-beta and ovarian sex steroids in pig granulosa cells. *J Cell Biochem*. 1999;74:50–60.
26. Machelon V, Nome F, Tesarik J. Nongenomic effects of androstenedione on human granulosa luteinizing cells. *J Clin Endocrinol*

υπάρχουσες αντιανδρογονικές θεραπείες.

- Metab. 1998;83:263–269.
27. Chou TM, Sudhir K, Hutchison SJ, et al. Testosterone induces dilation of canine coronary conductance and resistance arteries in vivo. *Circulation*. 1996;94:2614–2619.
  28. Ceballos G, Figueroa L, Rubio I, et al. Acute and nongenomic effects of testosterone on isolated and perfused rat heart. *J Cardiovasc Pharmacol*. 1999;33:691–697.
  29. Falkenstein E, Tillmann H, Christ M, Feuring M, Wehling M. Multiple actions of steroid hormones- a focus on rapid nongenomic effects. *Pharmacol Rev*. 2000;52:513–555.
  30. Diez A, Sancho MJ, Egana M, Trueba M, Marino A, Macarulla JM. An interaction of testosterone with cell membranes. *Horm Metab Res*. 1984;16:475–477.
  31. Benten WP, Lieberherr M, Stamm O, Wrehlke C, Guo Z, Wunderlich F. Testosterone signaling through inter-nalizable surface receptors in androgen receptor-free macrophages. *Mol Biol Cell*. 1999;10:3113–3123.
  32. Hellerstedt BA, Pienta KJ. The current state of hormonal therapy for prostate cancer. *CA Cancer J Clin*. 2002;52:154–179
  33. van der Kwast TH, Schalken J, Ruizeveld de Winter JA, et al. Androgen receptors in endocrine-therapy-resistant human prostate cancer. *Int J Cancer*. 1991;48:189–193.
  34. Ruizeveld de Winter JA, Janssen PJ, Sleddens HM, et al. Androgen receptor status in localized and locally progressive hormone refractory human prostate cancer. *Am J Pathol*. 1994;144:735–746.
  35. Hobisch A, Culig Z, Radmayr C, Bartsch G, Klocker H, Hittmair A. Distant metastases from prostatic carcinoma express androgen receptor protein. *Cancer Res* 1995;55:3068–3072.
  36. Shah RB, Mehra R, Chinnaiyan AM, et al. Androgen independent prostate cancer is a heterogeneous group of diseases: Lessons from a rapid autopsy program. *Cancer Res*. 2004;64:9209–9216.
  37. Kelly WK, Scher HI. Prostate specific antigen decline after antiandrogen withdrawal: the flutamide withdrawal syndrome. *J Urol*. 1993;149:607–9.
  38. Nonomura N, Nakamura N, Uchida N, et al. Growth-stimulatory effect of androgen-induced autocrine growth factor(s) secreted from Shionogi carcinoma 115 cells on androgen unresponsive cancer cells in a paracrine mechanism. *Cancer Res*. 1988;48:4904–4908.
  39. Litvinov IV, De Marzo AM, Isaacs JT. Is the Achilles' heel for prostate cancer therapy a gain of function in androgen receptor signaling? *J Clin Endocrinol Metab*. 2003;88(7):2972–82.
  40. Eder IE, Hoffmann J, Rogatsch H, et al. Inhibition of LNCaP prostate tumor growth in vivo by an antisense oligonucleotide directed against the human androgen receptor. *Cancer Gene Ther*. 2002;9:117–125.
  41. Zegarra-Moro OL, Schmidt LJ, Huang H & Tindall DJ. Disruption of androgen receptor function inhibits proliferation of androgen-refractory prostate cancer cells. *Cancer Res*. 2002;62:1008–1013.
  42. Solit DB, Zheng FF, Drobnjak M, et al. 17-Allylamino-17 demethoxy geldanamycin induces the degradation of androgen receptor and HER-2/neu and inhibits the growth of prostate cancer xenografts. *Clinical Cancer Research*. 2002;8:986–993.
  43. Stathopoulos EN, Dambaki C, Kampa M, et al. Membrane androgen binding sites are preferentially expressed in human prostate carcinoma cells. *BMC Clin Pathol*. 2003;3:1
  44. Papakonstanti E, Kampa M, Castanas E, Stourmaras C. A Rapid, Nongenomic, Signaling Pathway Regulates the Actin Reorganization Induced by Activation of Membrane Testosterone Receptors. *Mol Endocrinol*. 2003;17(5):870–881.
  45. Hatzoglou A, Kampa M, Kogia C, et al. Membrane androgen receptor activation induces apoptotic regression of human prostate cancer cells in vitro and in vivo. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90:893–903.
  46. Kampa M, Papakonstanti EA, Hatzoglou A, Stathopoulos S, Stourmaras C, Castanas E. The human prostate cancer cell line LNCaP bears functional membrane testosterone receptors, which increase PSA secretion and modify actin cytoskeleton. *FASEB J*. 2002;16:1429–1431.
  47. Guerini V, Sau D, Scaccianoce E, et al. The androgen derivative 5 $\alpha$ -Androstane-3 $\beta$ ,17 $\beta$ -Diol inhibits prostate cancer cell migration through activation of the estrogen receptor B subtype. *Cancer Res*. 2005;65(12):5445–53.
  48. Miyamoto H, Yeh S, Lardy H, Messing E, Chang C. Delta 5-Androstenediol is a natural hormone with androgenic activity in human prostate cancer cells. *PNAS*. 1998;95:11083–11088.
  49. Costa-Pereira AP, Cotter TG. Camptothecin sensitizes androgen-independent prostate cancer cells to anti-Fas-induced apoptosis. *Br J Cancer*. 1999;80(3-4):371–8.
  50. Hyer ML, Voelkel-Johnson C, Rubinchik S,

- Dong J, Norris JS. Intracellular Fas ligand expression causes Fas-mediated apoptosis in human prostate cancer cells resistant to monoclonal antibody-induced apoptosis. *Mol Ther* 2000;2:348–358.
51. Gu S, Papadopoulou N, Nasir O, et al. Activation of membrane androgen receptors in colon cancer inhibits the prosurvival signals Akt/bad in vitro and in vivo and blocks migration via vinculin/actin signaling. *Mol Med*. 2011;17(1-2):48-58.
  52. Hordijk PL, ten Klooster JP, van der Kammen RA, Michiels F, Oomen LC, Collard JG. Inhibition of invasion of epithelial cells by Tiam1-Rac signaling. *Science*. 1997;278:1464–1466.
  53. Burridge K, Chrzanowska-Wodnicka M. Focal adhesions, contractility, and signaling. *Annu Rev Cell Dev Biol*. 1996;12:463–518.
  54. Rodriguez-Fernandez JL. Why do so many stimuli induce tyrosine phosphorylation of FAK? *Bioessays* 1999;21:1069–1075.
  55. Hall A 1998 Rho GTPases and the actin cytoskeleton. *Science* 279:509–514.
  56. Krasilnikov MA Phosphatidylinositol-3 kinase dependent pathways: the role in control of cell growth, survival, and malignant transformation. *Biochemistry (Mosc)*. 2000;65:59-67.
  57. Jimenez C, Portela RA, Mellado M. Role of the PI3K regulatory subunit in the control of actin organization and cell migration. *J Cell Biol*. 2000;151:249–262.
  58. Adam L, Vadlamudi R, Kondapaka SB, Chernoff J, Mendelsohn J, Kumar R. Heregulin regulates cytoskeletal reorganization and cell migration through the p21- activated kinase-1 via phosphatidylinositol-3 kinase. *J Biol Chem*. 1998;273:28238–28246.
  59. Tremblay L, Hauck W, Aprikian AG, Begin LR, Chapdelaine A, Chevalier S. Focal adhesion kinase (pp125FAK) expression, activation and association with paxillin and p50CSK in human metastatic prostate carcinoma. *Int J Cancer*. 1996;68:164–171..

**Review****Is it possible for testosterone to have a therapeutic role in prostate cancer?****K. Stamatiou, A. Labrakopoulos.**

Department of Urology, "Tzaneio" General Hospital of Piraeus, Greece

*(Scientific Chronicles 2012;17(2):71-78)***ABSTRACT**

Traditionally, testosterone is being considered a promoting factor for the development and progression of prostate cancer. However, while androgen deprivation depresses locally advanced and metastatic prostate cancer, testosterone replacement seems not to promote prostate cancer growth. Current evidence suggests that it is androgen receptor that plays critical roles in both development and progression of prostate cancer. The last has been demonstrated to be associated with changes in the androgen receptor axis and more precisely with its conversion from a paracrine dependent signaling for proliferation and survival of prostatic cells to an independent autocrine process. This malignant conversion is due to function changes in which the androgen receptor activates not only the normal genomic but also novel non-genomic signaling pathways, which are not present in normal prostate epithelial cells. Therefore, treatment for neoadjuvant, adjuvant and recurrent disease, all center on the regulation and manipulation of the androgen pathway. Recent discoveries however offer strong evidence of a direct apoptotic action induced by activation of membrane androgen receptor by testosterone albumin conjugates.

**Keywords:** Testosterone, prostate cancer, testosterone-albumin conjugates*(Submitted: 19/1/12, Accepted: 10/3/12)*