

Μη κλασικές οδοί σηματοδότησης της τεστοστερόνης

Ιωάννης Ηλίας

*Τμήμα Ενδοκρινολογίας, Διαβήτη & Μεταβολισμού
Νοσοκομείο Έλενα Βενιζέλου, Αθήνα*

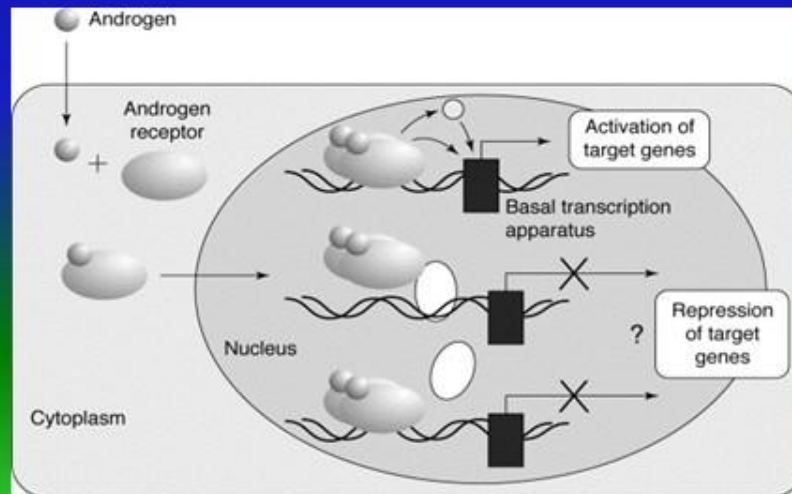


Εισαγωγή

- Βασικά στεροειδή ανδρογόνα
= T/DHT
- Βιολογικές επιδράσεις με
πολλούς κυτταρικούς
μηχανισμούς

Παραδοσιακά

- Δόγμα της ορμονικής ρύθμισης των βιολογικών λειτουργιών επικεντρώνεται
- γονιδιακή μεταγραφή και
- σύνθεση πρωτεϊνών



Προϋπόθεση ότι:

- Στεροειδικές ορμόνες
- Διασχίζουν ελεύθερα την κυττ/μβ
- Εισέρχονται στο κυτταρόπλασμα
- Δεσμεύουν/ενεργοποιούν AR
 - AR=παράγοντες μεταγραφής
- AR δεσμεύονται επί DNA-ARE
- Προκαλούν ενεργοποίηση ή καταστολή μεταγραφής

Τελευταίες δύο 10ετίες

- πειράματα υποστηρίζουν
- ορισμένες από τις δράσεις των στεροειδών, αλλά όχι όλες
- περιλαμβάνουν *μη κλασικούς και μη γονιδιωματικούς μηχανισμούς*

Περί του
Λόγου το
Αληθές

- **Δεσμευμένοι με ορμόνες/ενεργοποιημένοι πυρηνικοί υποδοχείς είναι ικανοί να αλληλεπιδρούν με άλλους παράγοντες μεταγραφής σε προαγωγούς γονιδίου-στόχου χωρίς άμεση δέσμευση στο DNA**

Περί του
Λόγου το
Αληθές

- **Υποδοχείς στεροειδών** είναι σε θέση να ενεργοποιήσουν ενδοκυττάρια σηματοδοτικά μόρια **MAPK/ERK 1/2**, με μηχανισμούς **ανεξάρτητους της μεταγραφής**

Περί του
Λόγου το
Αληθές

- **Στεροειδή έχει επίσης αποδειχθεί ότι προκαλούν κυτταρικές αποκρίσεις με γρήγορο τρόπο ακόμα και όταν εμποδίζεται η είσοδος τους στα κύτταρα**

Η πιο σταθερή κυτταρική απόκριση σε στεροειδικές ορμόνες

- Ενδεικτική μη γονιδιωματικής δράσης = ταχεία αύξηση ενδοκυττ [Ca²⁺]_i, σε ποικίλους κυττ τύπους
- Αποτελέσματα: *sec – min* & έχουν περιγραφεί για όλες τις κατηγορίες στεροειδών
- Πιο μελετημένα όμως = E

Βασικά κριτήρια

- ώστε μια ανταπόκριση που προκαλείται από ανδρογόνο να θεωρείται μη γονιδιωματικής φύσης

α) Ταχύτητα

- Τα αποτελέσματα θα πρέπει να εμφανίζονται σε ένα χρονικό πλαίσιο (sec-min) μικρότερο αυτού που απαιτεί η μεταγραφή/μετάφραση γονιδίων

β) Διαμεσολαβούμενη από μβ

- Απόκριση μπορεί να περιλαμβάνει
- ενσωματωμένους ή
- συνδεδεμένους μβ υποδοχείς ή
- δεσμευτικές πρωτεΐνες
 - και με δράση που μπορεί να διεγερθεί
- **ακόμη και όταν** το στεροειδές είναι συζευγμένο με μόρια τα οποία του απαγορεύουν να εισέλθει βαθιά μέσα στο κυτταρόπλασμα ή
- να μετατοπιστεί στον πυρήνα όταν είναι δεσμευμένο σε έναν υποδοχέα

γ) Έλλειψη ενεργοποίησης μηχανισμού μεταγραφής/μετάφρασης

- Πειράματα που χρησιμοποιούν
 - είτε κυτταρικές σειρές που δεν διαθέτουν μηχανισμό γονιδιωματικής απόκρισης ή
 - εμφανίζουν ανδρογονικά αποτελέσματα που δεν αποκλείονται από αναστολείς μεταγρ/μτφ
- αποδεικνύουν ότι ορισμένες αποκρίσεις στεροειδών μπορούν να προκληθούν σε συστήματα όπου
 - η μεταγραφή γονιδίων ή
 - η σύνθεση πρωτεϊνών δεν είναι δυνατές

Μη κλασικές δράσεις ορμονών = μη γονιδιωματικές

- Ορολογία = κάπως εσφαλμένη
- Μερικές από τις μη γενωμικές δράσεις ορμονών που περιγράφηκαν προηγουμένως μπορεί να οδηγήσουν σε γονιδιωματικές αποκρίσεις (=ενεργοποίηση 2ου αγγελιοφόρου)

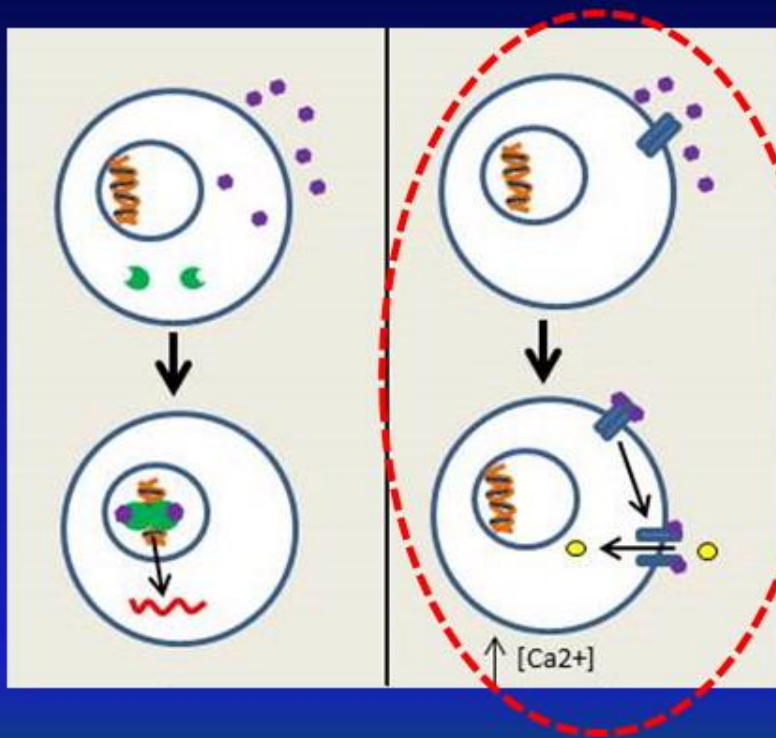
- **Δεν είναι πλέον έγκυρο** να υποθέτουμε ότι οι μεταβολές από λεπτό προς λεπτό στις συγκεντρώσεις στεροειδών δεν ρυθμίζουν βιολογικά σημαντικές βραχυπρόθεσμες αποκρίσεις



Τα ανδρογόνα μπορούν να αλληλεπιδράσουν με τους ενδοκυττάριους ρυθμιστικούς μηχανισμούς ασβεστίου

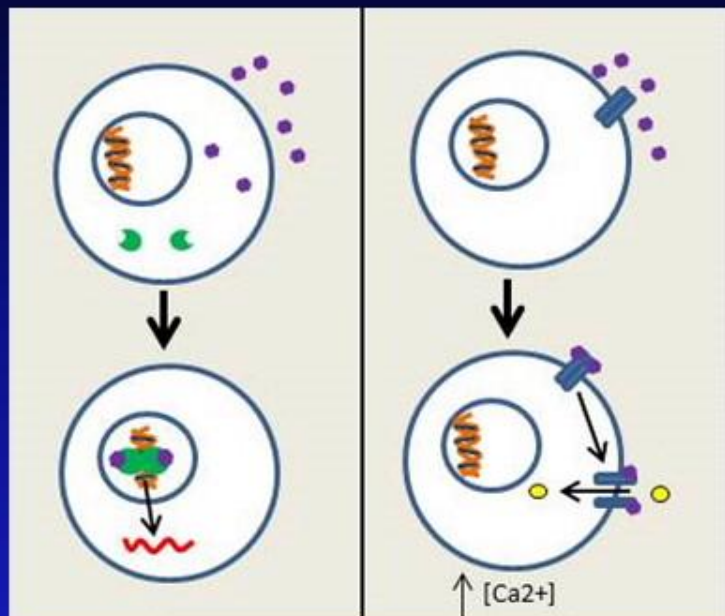
- Αν και τα δεδομένα που αποδεικνύουν τη μη γονιδιωματική δράση ανδρογόνου είναι περιορισμένα, η πιο συνεπής μη γονιδιωματική επίδραση της έκθεσης σε ανδρογόνα είναι μια **ταχεία αλλαγή στο $[Ca^{2+}]_i$**

- Επειδή η διαμόρφωση του $[Ca^{2+}]_i$ συμβαίνει μέσα σε $min-sec$, έχει υποτεθεί ότι το ανδρογόνο πρέπει να δεσμεύεται με κάποιο είδος υποδοχέα στην επιφάνεια του κυττάρου για να επιτευχθεί αυτό το αποτέλεσμα



- Είναι **ενδιαφέρον** ότι δεν επιδεικνύουν ταχεία απόκριση στα ανδρογόνα όλοι οι τύποι κυττάρων που εκφράζουν τον κλασικό πυρηνικό AR

Δεν είναι ακόμη γνωστό

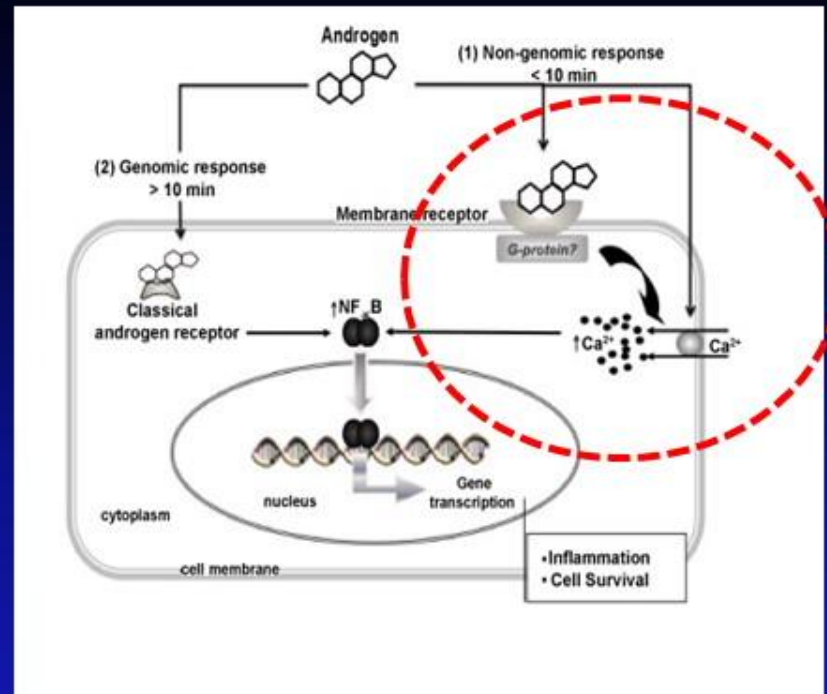


- Υποδοχέας που εντοπίζεται στην κυτταρική επιφάνεια = **κλασικός AR** συζευγμένος με άλλους μηχανισμούς μεταγωγής σήματος που βρίσκονται στη μεμβράνη ή
- = **μια μοναδική πρωτεΐνη** ικανή να δεσμεύει ανδρογόνα και να εκκινεί καταρράκτες μεταγωγής σήματος

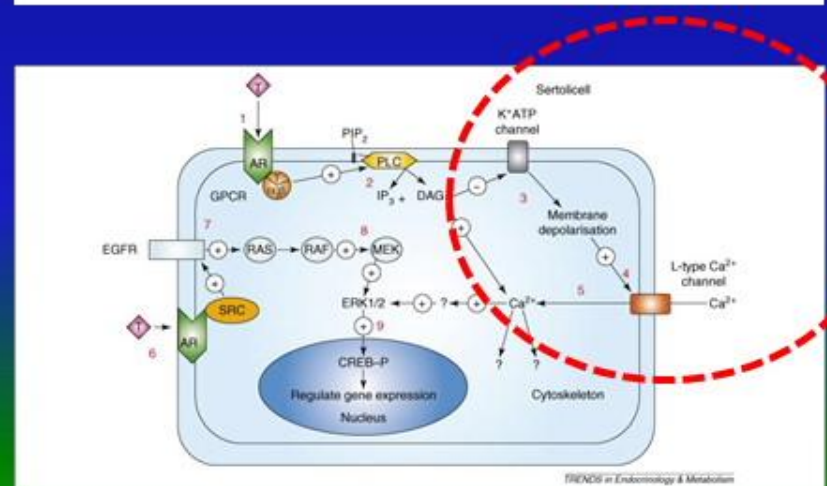


- Τα ανδρογόνα επιδρούν στα κύτταρα του ΚΑ συστήματος
 - Μπορούν να προκαλέσουν
 - χάλαση της αορτής και των στεφανιαίων,
 - μπορεί επίσης να διευκολύνουν την αγγειοσύσπαση

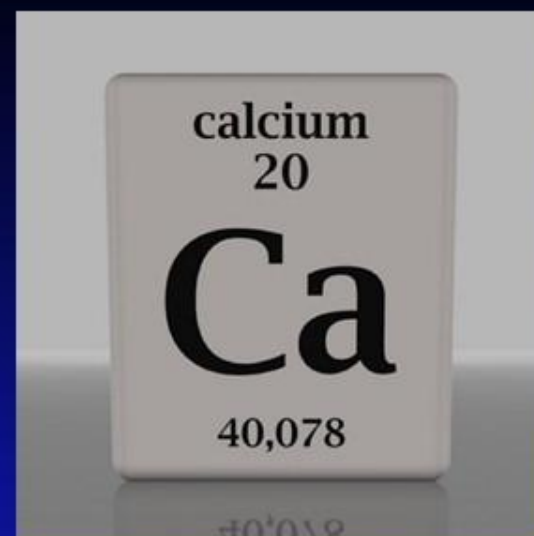
- Η ικανότητα της T να επάγει μια γρήγορη εισροή $[Ca^{2+}]_i$ έχει περιγραφεί σε καλλιέργειες κυττάρων Sertoli



- Η αύξηση $[Ca^{2+}]_i$ στα κύτταρα Sertoli εμφανίζεται +4' της χορήγησης T και μπορεί να ανασταλεί από ανταγωνιστή AR



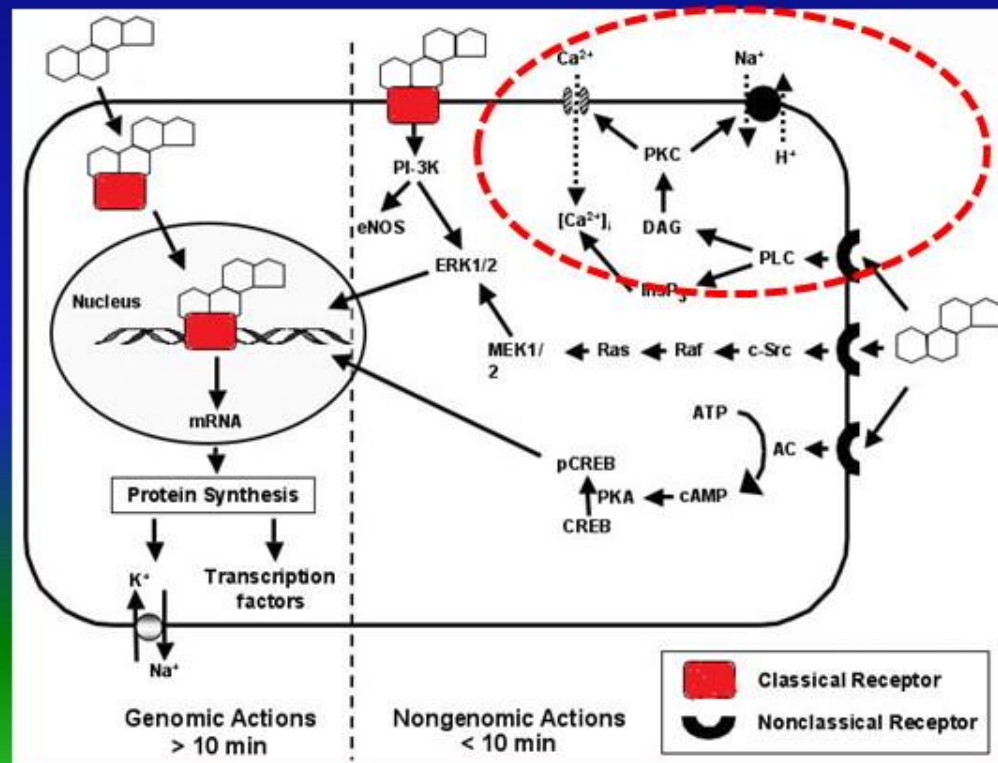
- Παρομοίως, η DHT έχει δειχθεί ότι αυξάνει το $[Ca^{2+}]_i$ σε ανθρώπινα καρκινικά κύτταρα προστάτη (LNCaP) και σε νευρώνες ιππόκαμπου
- Απόκριση που παρεμποδίζεται από ανταγωνιστή AR



Σχετικά λίγα είναι γνωστά για την τελική κυτταρική επίδραση επί του $[Ca^{2+}]_i$

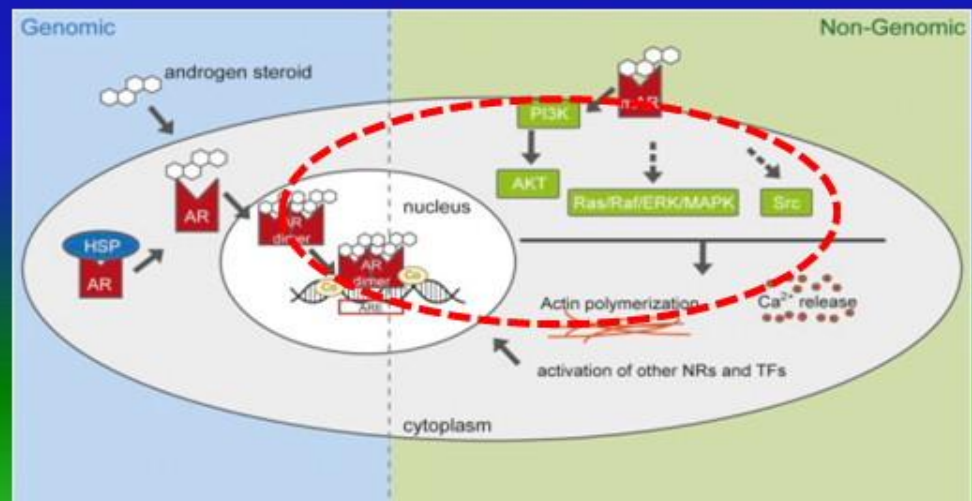
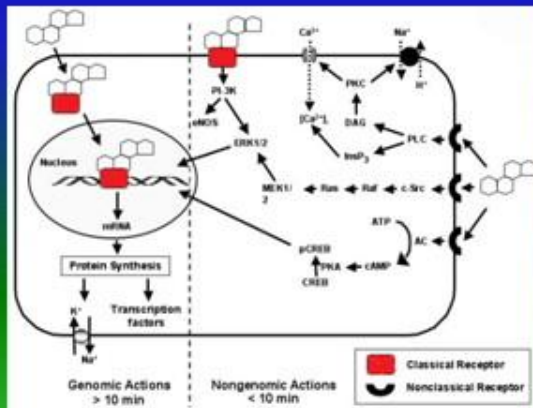
- Το $[Ca^{2+}]_i$ λειτουργεί ως ένα πανταχού παρόν 2ο αγγελιοφόρο μόριο
- Διαμόρφωση ενδοκυττάριου $[Ca^{2+}]_i$ επηρεάζει ευρύ φάσμα κυτταρικών διεργασιών
 - Κυτταρικού πολλαπλασιασμού
 - Απόπτωσης
 - Νέκρωσης
 - Κινητικότητας και
 - Γονιδιακής έκφρασης

- Η αύξηση του $[Ca^{2+}]_i$ ανιχνεύεται από συγκεκριμένα μόρια αισθητήρων $[Ca^{2+}]_i$ (συμπεριλαμβανομένης της PKC και της καλμοδουλίνης) για τη μεταγωγή σήματος και τη ρύθμιση της μεταγραφής

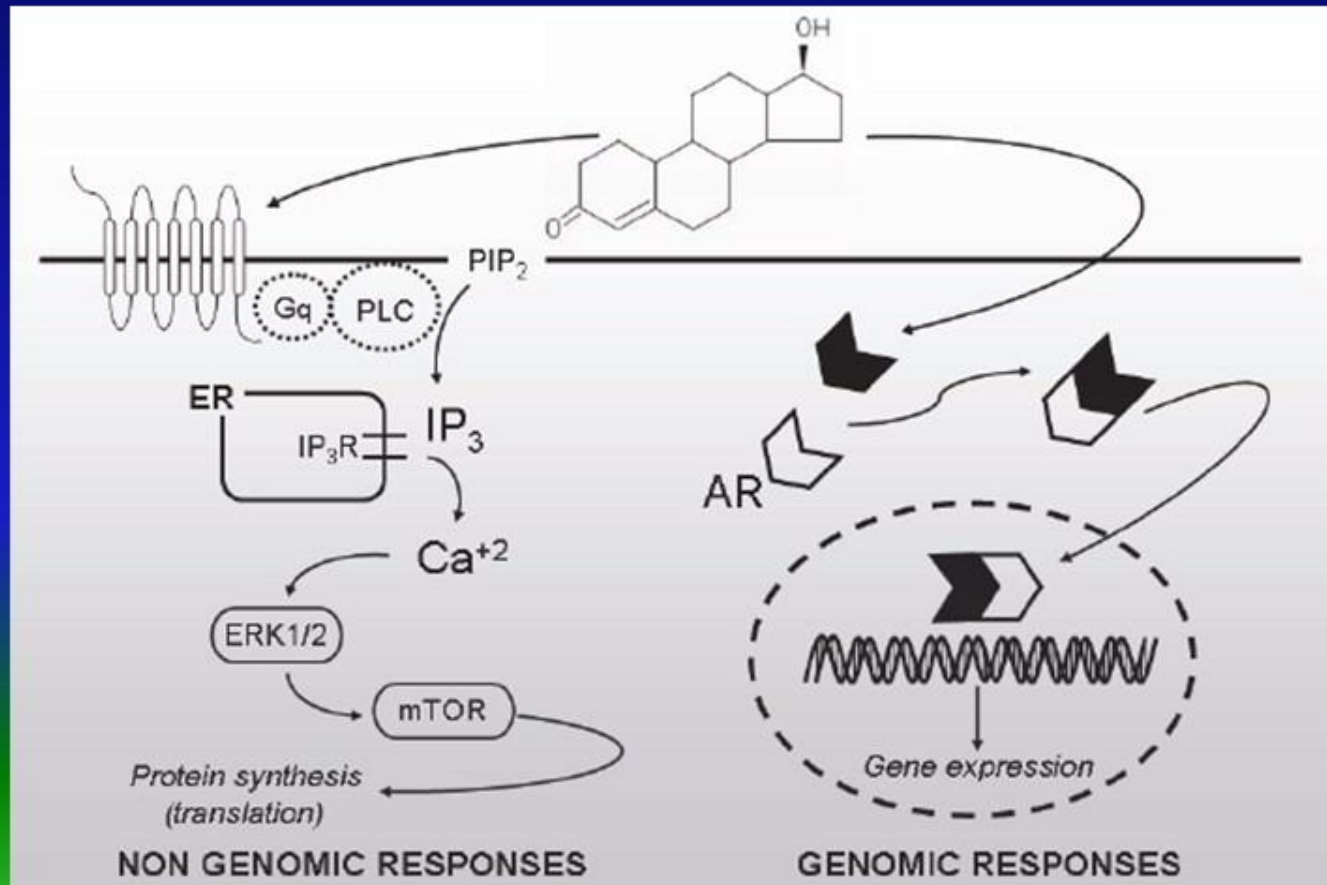


Ανδρογόνα

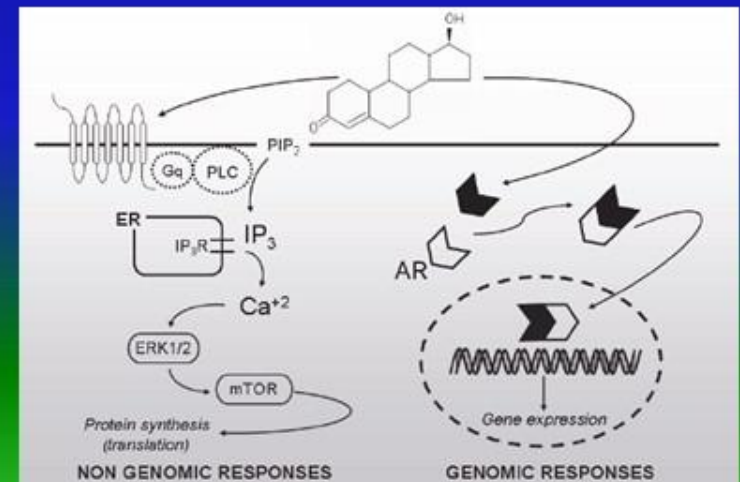
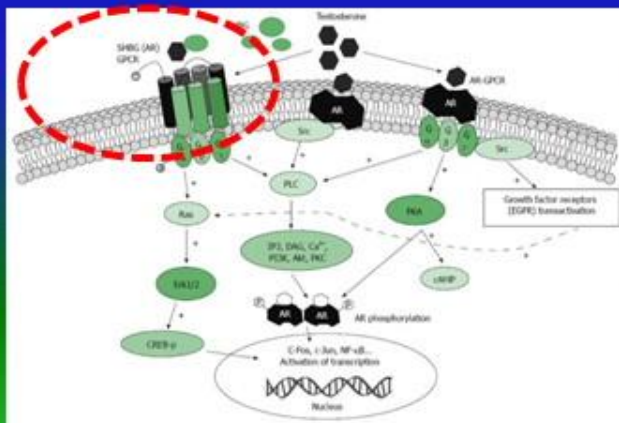
- Μπορούν να ενεργοποιήσουν οδούς εξαρτώμενες από κινάσες ασβέστιου
 - όπως ERK (extracellular signal-regulated kinase) ή
 - Src,
- οι οποίες θα μπορούσαν να φωσφορυλιώσουν τον AR και να ενισχύσουν τη δράση του



- Κυτταρική σηματοδότηση μπορεί επίσης να συμβεί **χωρίς ενεργοποίηση ERK**



- **Οι μη-ERK οδοί** περιλαμβάνουν
- ενεργοποίηση του στόχου mTOR μέσω της οδού PI3K/Akt ή
- εμπλοκής υποδοχέων συζευγμένων με πρωτεΐνη O (GPCRs) και υποδοχέων της SHBG που ρυθμίζουν τα επίπεδα συγκέντρωσης ενδοκυττάριου $[Ca^{2+}]_i$ και τα επίπεδα του cAMP, αντίστοιχα



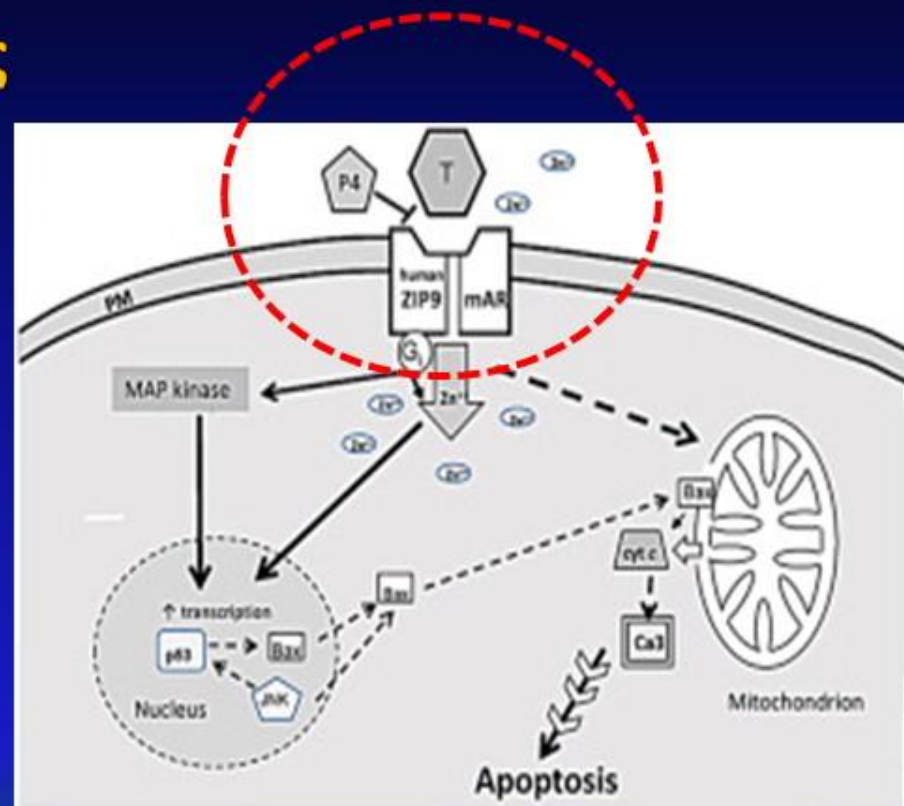
- Μη γενωμικά-διαμεσολαβούμενες από $[Ca^{2+}]_i$ δράσεις της T έχουν ταυτοποιηθεί σε κύτταρα **σκελετικών μυών**
- Αυτή η μη γονιδιωματική δράση προέρχεται από την κυτταρική μεμβράνη, έχει ταχεία έναρξη, κατευθύνεται από την IP3 και επάγει ταχύτερη μυική σύσπαση

A - αλλαγές στην "ευελιξία" της κυττ μβ

- **Μοριακοί μηχανισμοί που υποκρύπτουν τις μη γονιδιωματικές δράσεις δεν περιλαμβάνουν μόνο τη μετατόπιση του AR στην μεμβράνη κυτταρικής επιφάνειας**

- **Επιπλέον** των παραδοσιακών AR, άλλες πρωτεΐνες είναι ικανές να δεσμεύουν ανδρογόνα και να ενεργοποιούν **καταρράκτες μεταγωγής σήματος**

- Εκτός από τον AR, τα ανδρογόνα μπορούν επίσης να δεσμευτούν στα **λιπίδια της πλασματικής μεμβράνης**
- προωθώντας την άμεση τροποποίηση των διαύλων ιόντων
- την ενεργοποίηση του *GPRC6A* και
- την αλληλεπίδραση με τον *ZIP9*
 - έναν μεταφορέα Zn^{2+} από την οικογένεια του ψευδαργύρου-ρυθμιζόμενου μεταφορέα (ZRT), μίας πρωτεΐνης που προσομοιάζει με μεταφορέα σιδήρου (IRT)



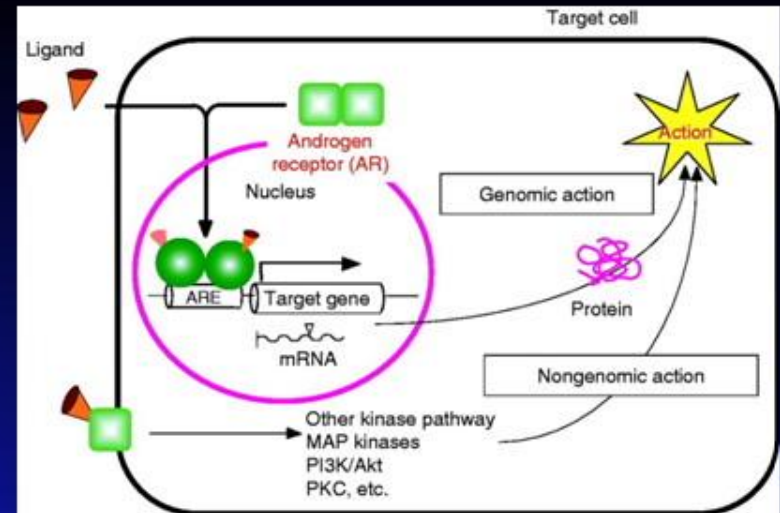
- Ανεξάρτητα από

- Υποδοχείς

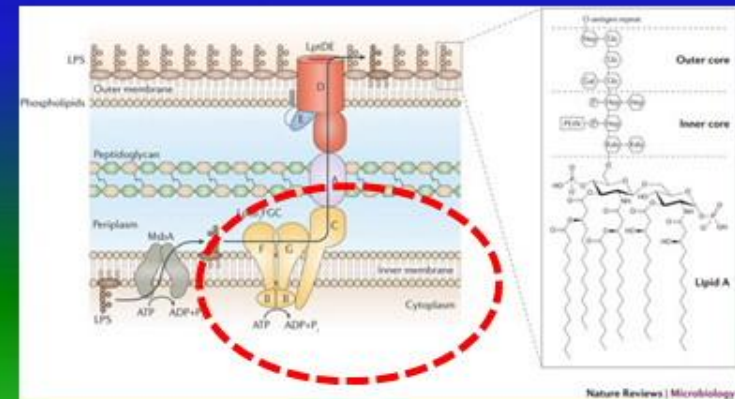
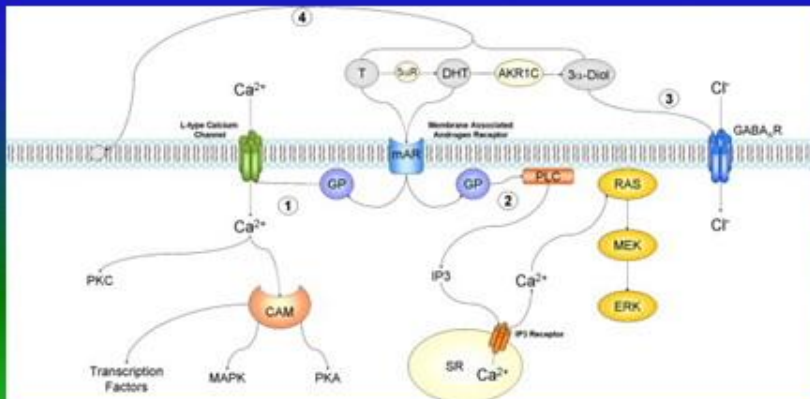
- Πόρους ή

- Οδούς 2ου αγγελιοφόρου

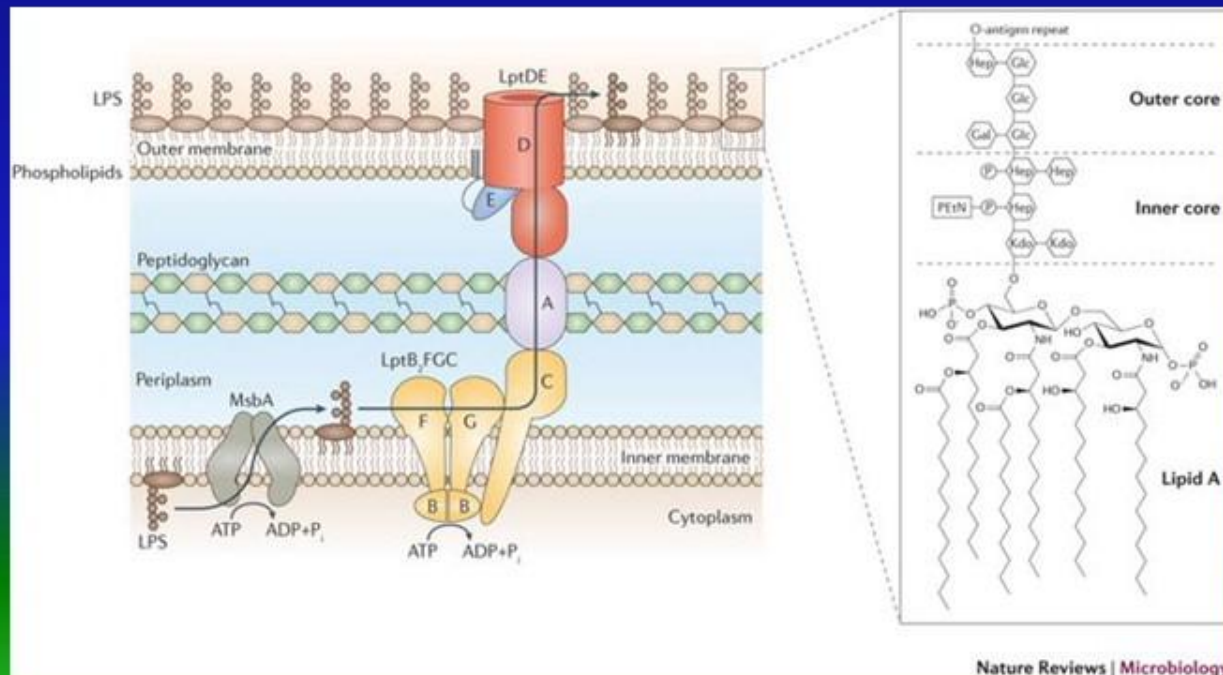
- Ανδρογόνα μπορούν να μεσολαβούν σε ορισμένες μη γονιδιωματικές δράσεις μέσω των **δομικών** τους ιδιοτήτων



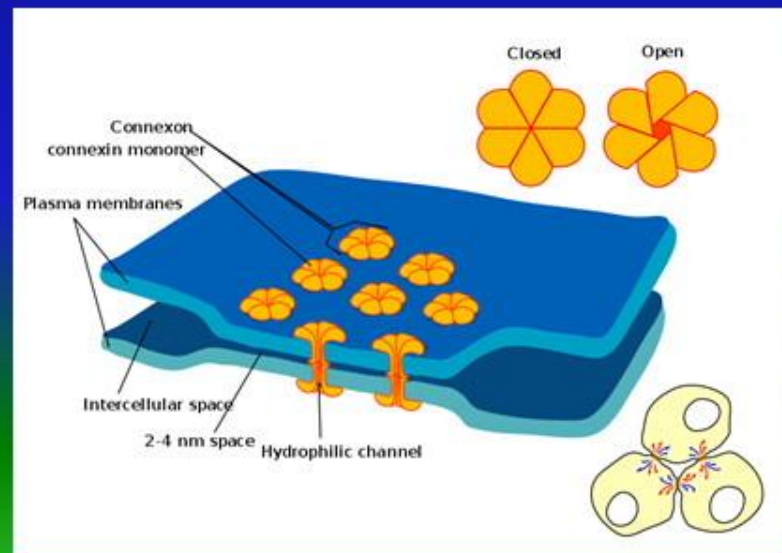
- Οι μεταβολίτες των ανδρογόνων αποκτούν **πρόσθετα φορτία** από θειικά υπολείμματα
- Με τη σειρά τους διεισδύουν στο σύμπλεγμα λιπιδίων/πρωτεϊνών της κυττ μβ
- Μειώνοντας έτσι την ευκαμψία της μεμβράνης
- Διαμορφώνουν τις δράσεις των ενζύμων που απαιτούνται για την υδρόλυση του ATP



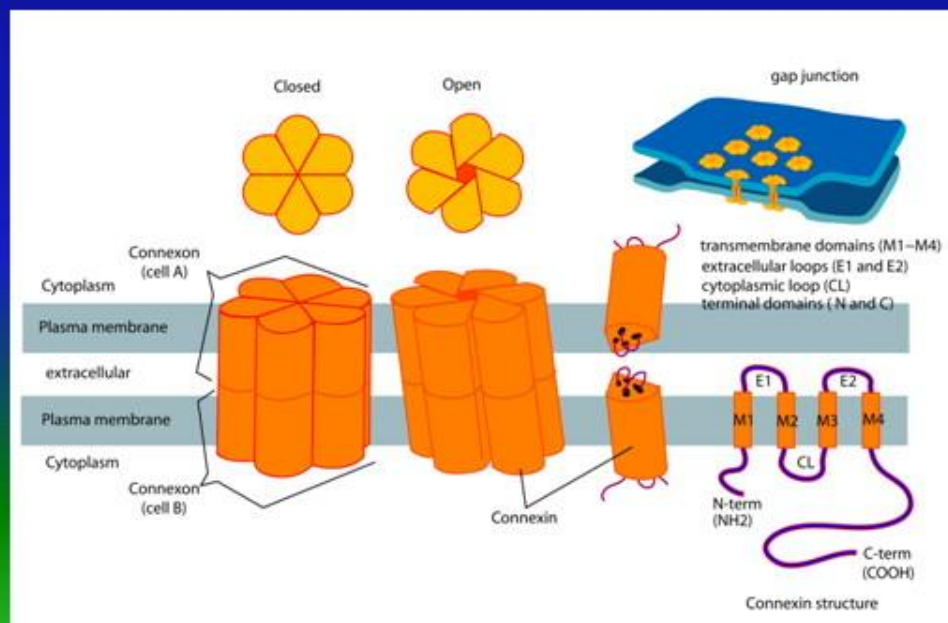
- Ομοίως, η T έχει δειχθεί ότι **εξασθενεί** τη σηματοδότηση των λιποπολυσακχαριτών.
- Η τεστοστερόνη μειώνει την επαγόμενη από λιποπολυσακχαρίτη ενεργοποίηση του προαγωγού c-fos και της παραγωγής NO



- Η Τ έχει επίσης αποδειχθεί ότι **παρεμβαίνει** στην άμεση διακυτταρική ανταλλαγή κυττάρων ιόντων και μορίων που συμβαίνει μέσω κόμβων διακένου (gap junctions) σε κύτταρα Sertoli και καρδιακά κύτταρα



- Το προκαλεί **ταχεία εξασθένιση** της διακυτταρικής σύζευξης. Αυτή η διακοπή της επικοινωνίας κυττάρου προς κύτταρο είναι εξαρτώμενη από τη δόση και αναστρέφεται προοδευτικά μετά την απομάκρυνση Τ

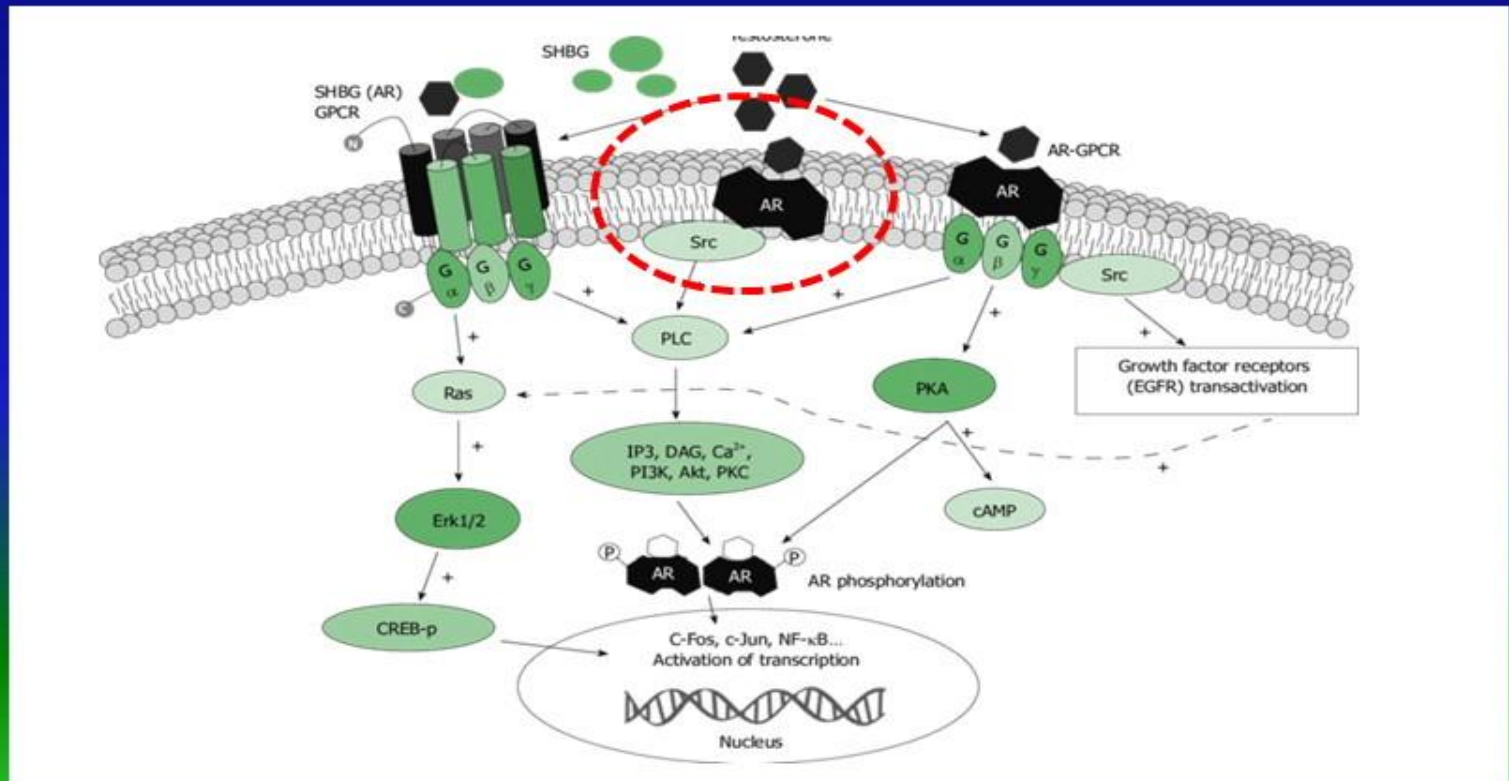


Τα ανδρογόνα ενεργοποιούν οδούς δεύτερου αγγελιοφόρου

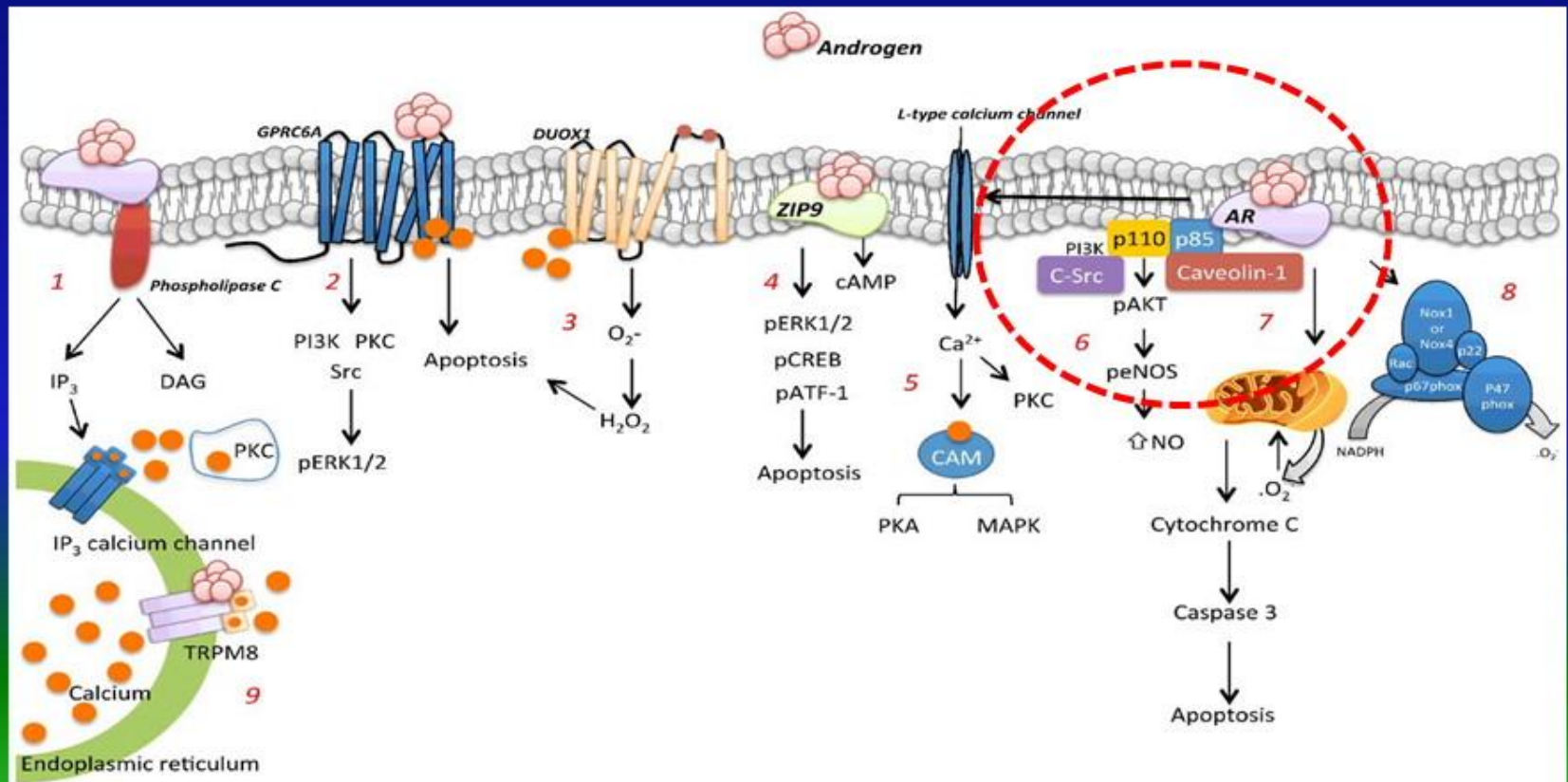
- Εκτός από το ασβέστιο, η τεστοστερόνη έχει αποδειχθεί ότι ενεργοποιεί γρήγορα άλλες οδούς δεύτερου αγγελιοφόρου
- Τ έχει αποδειχθεί ότι μειώνει την εισροή καλίου σε ωκύτταρα

**AR ενεργοποιούν οδούς 2ου
αγγελιοφόρου ανεξάρτητα από την
κλασική μεταγραφική τους
δραστηριότητα**

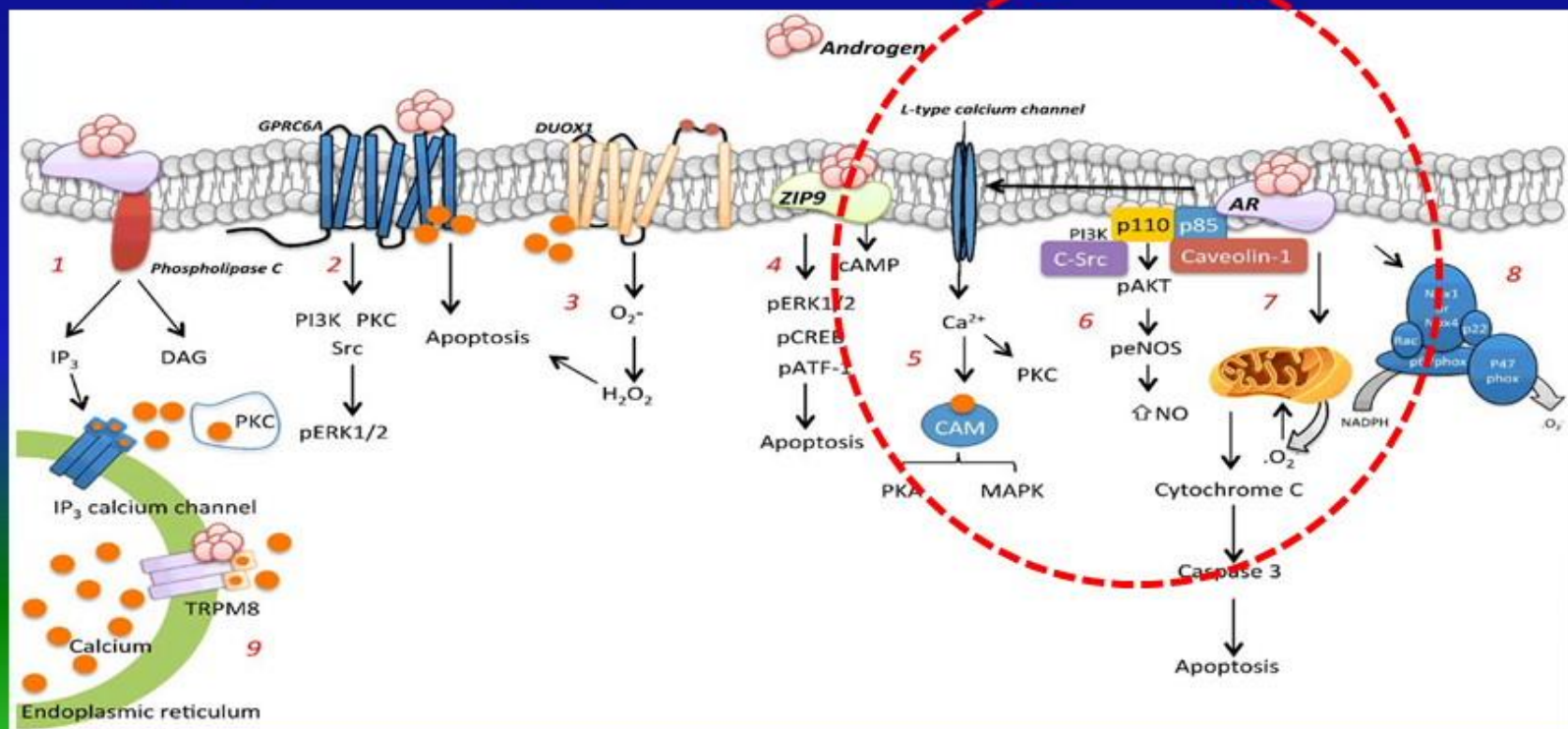
- Σύμφωνα με αυτόν τον τρόπο δράσης, βρέθηκε ότι ο **AR αλληλεπιδρά** και ενεργοποιεί την κινάση τυροσίνης c-Src
- Η c-Src στοχεύει στην εσωτερική επιφάνεια της κυτταρικής μεμβράνης



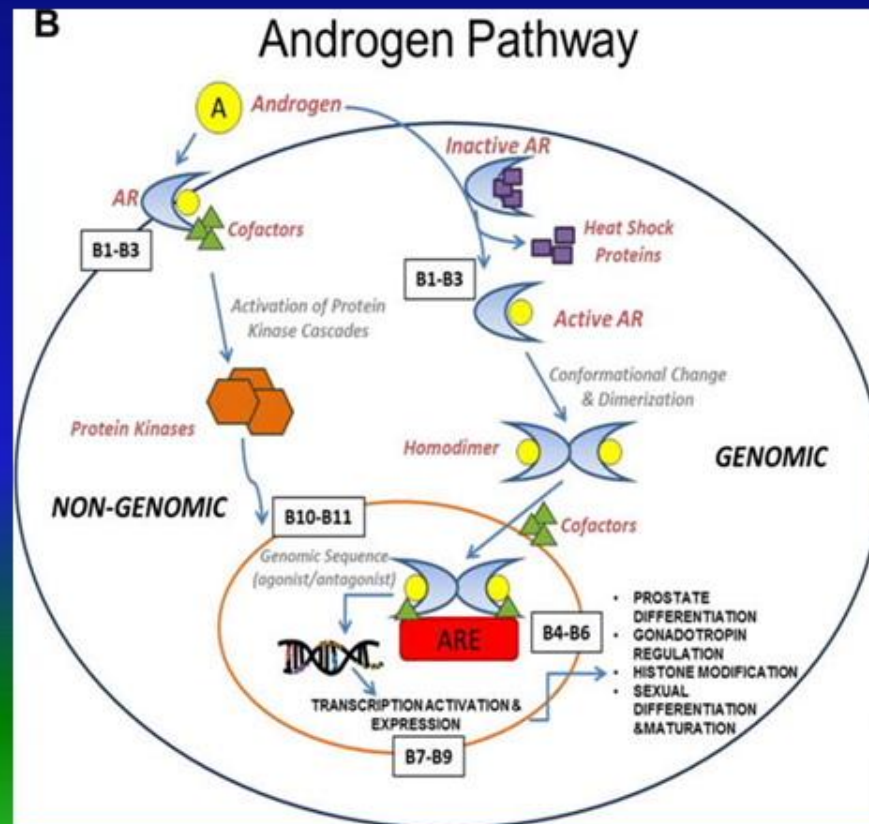
- Η **συσχέτιση του AR με την c-Src** καταλήγει σε διέγερση της δραστηριότητας της κινάσης c-Src μέσα σε 1 λεπτό στην κυτταρική γραμμή του καρκίνου του προστάτη LNCaP



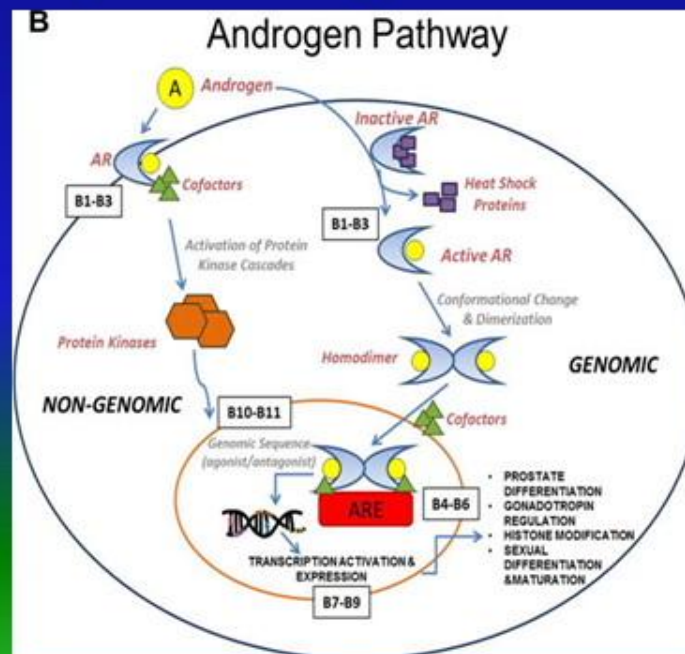
- Η δε μεσολαβούμενη από c-Src ενεργοποίηση της MAPK εμπλέκεται σε κυτταρικές διεργασίες, όπως η μετανάστευση, ο πολ/σμος και η διαφοροποίηση



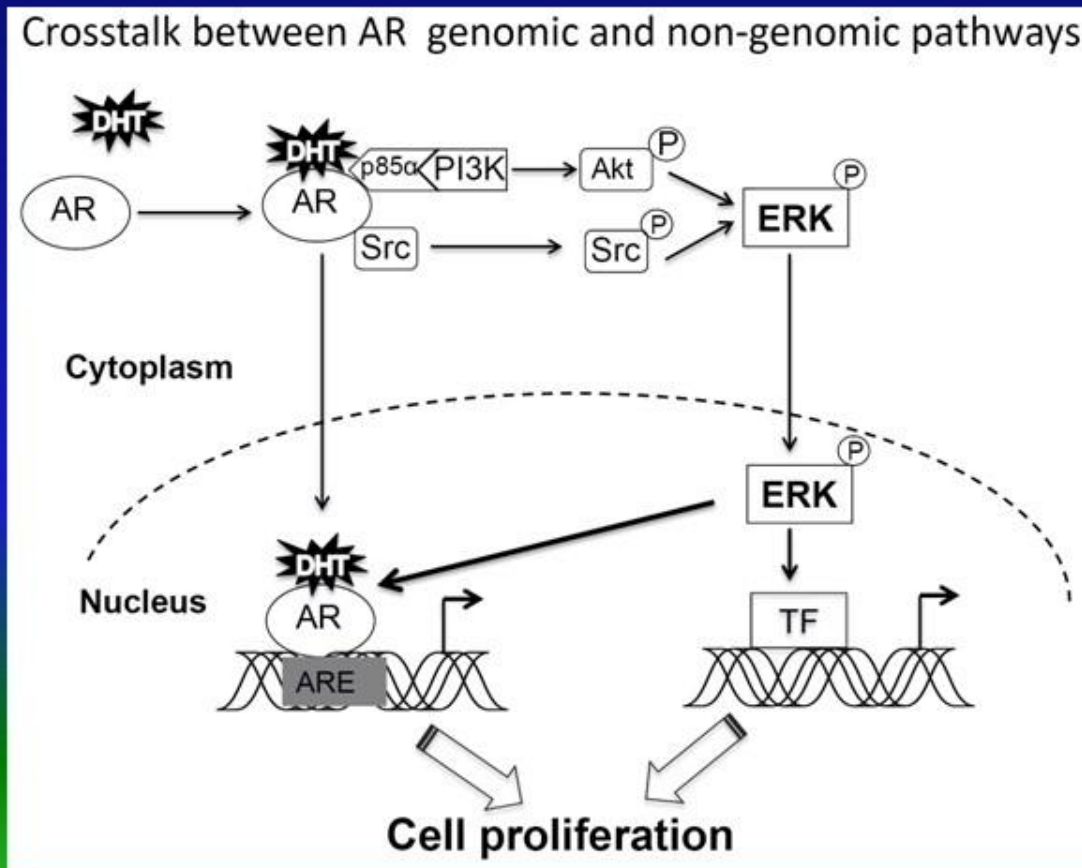
- Τα ανδρογόνα διεγείρουν δύο μέλη του **καταρράκτη σηματοδότησης MAPK**, των Raf-1 και ERK-2 εντός 5 λεπτών



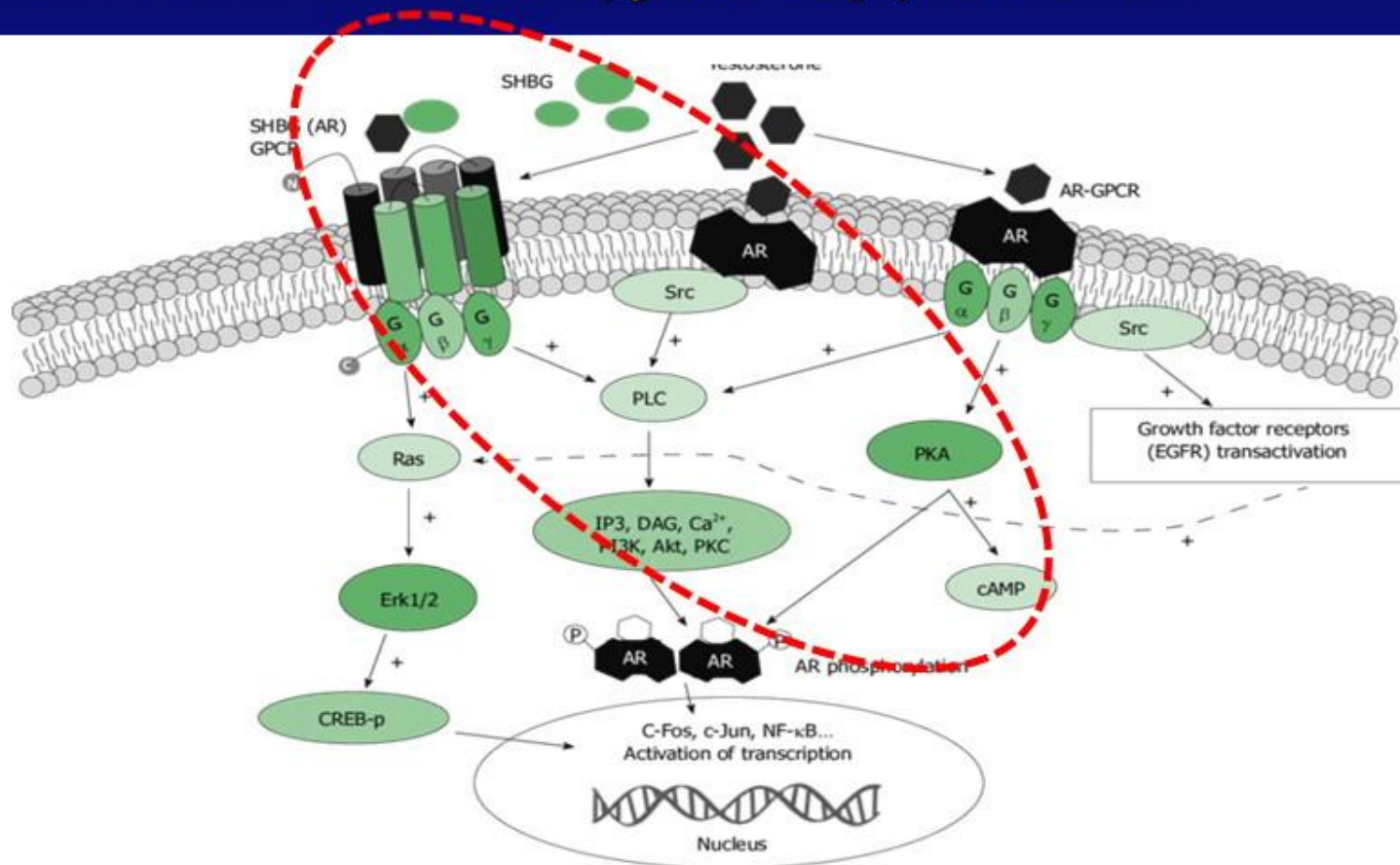
- Η ενεργοποίηση του **καταρράκτη Ras-Raf-MAPK/ERK** είναι το κύριο **μιτογόνο ερέθισμα** που προκαλείται από μη γονιδιωματικές δράσεις του AR
- Παρατηρείται σε ευαίσθητα σε ανδρογόνα κύτταρα του προστάτη



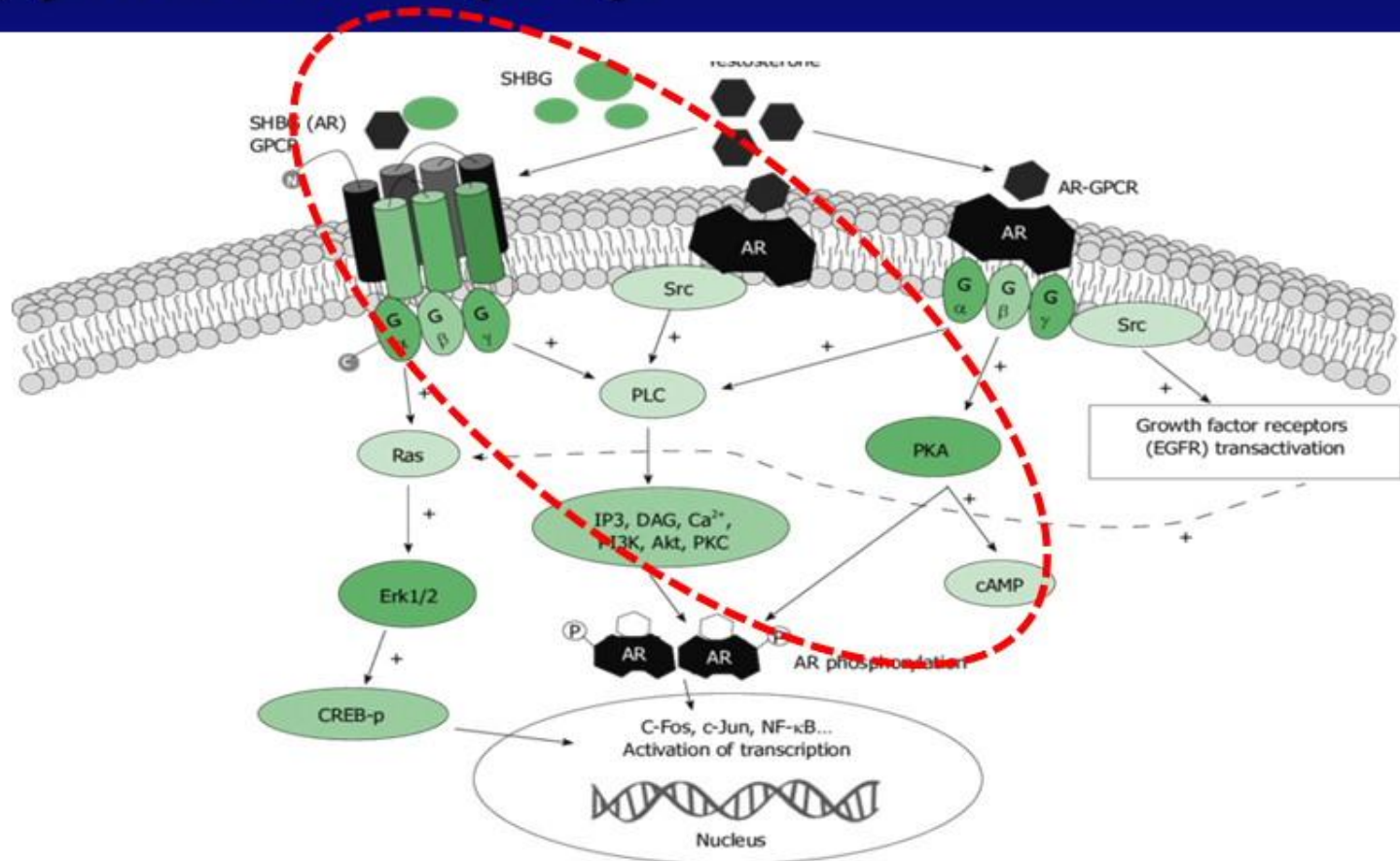
- Μία από τις **μη γονιδιωματικές δράσεις των** A τελικά θα μπορούσε να είναι το να **επηρεάζει την AR-διαμεσολαβούμενη μεταγραφική δραστηριότητα**



- Τα ανδρογόνα μπορούν επίσης να ενεργοποιήσουν τις cAMP και PKA μέσω του υποδοχέα της SHBG



- Ένας υποδοχέας της κυτταρικής επιφάνειας για την SHBG έχει αναγνωριστεί λειτουργικά σε προστάτη, όρχι, μαστό και ήπαρ



Η μεταγραφική δραστηριότητα του AR ενισχύεται με διέγερση PKA

- Εντούτοις, ο AR δεν περιέχει θέση φωσφορυλίωσης PKA και δεν φωσφορυλιώνεται άμεσα από την PKA
- Είναι πιθανό ότι η διέγερση ανδρογόνου-SHBG του PKA μπορεί να οδηγήσει σε μεταβολή της φωσφορυλίωσης των AR και να ρυθμίζει την μεταγραφική δραστηριότητα των AR

- Οι μη γονιδιωματικές οδοί σηματοδότησης AR πιθανόν να συμβάλλουν στην αντίσταση στη θεραπεία του καρκίνου του προστάτη με αντιανδρογόνα



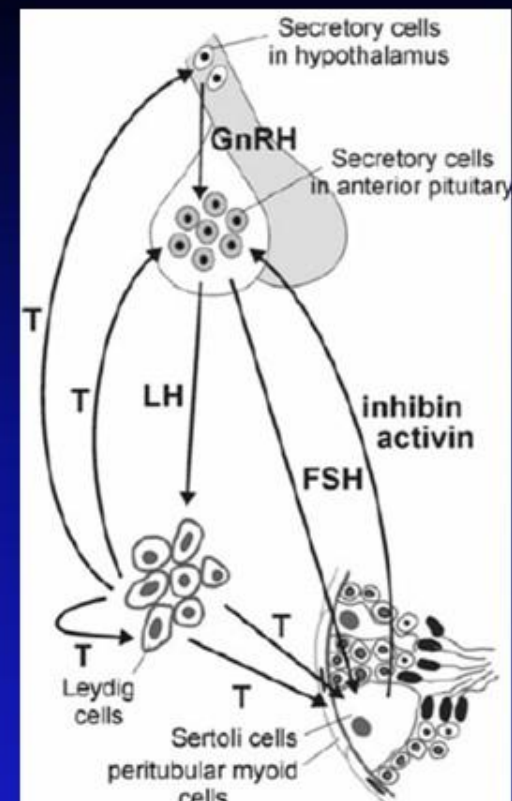
- Η **ταυτόχρονη αναστολή** των AR και των μη γενωμικών δράσεων του AR μπορεί να αποδειχθεί χρήσιμη για τους ασθενείς με καρκίνο του προστάτη (τέτοιες στρατηγικές βρίσκονται επί του παρόντος **υπό έρευνα**)



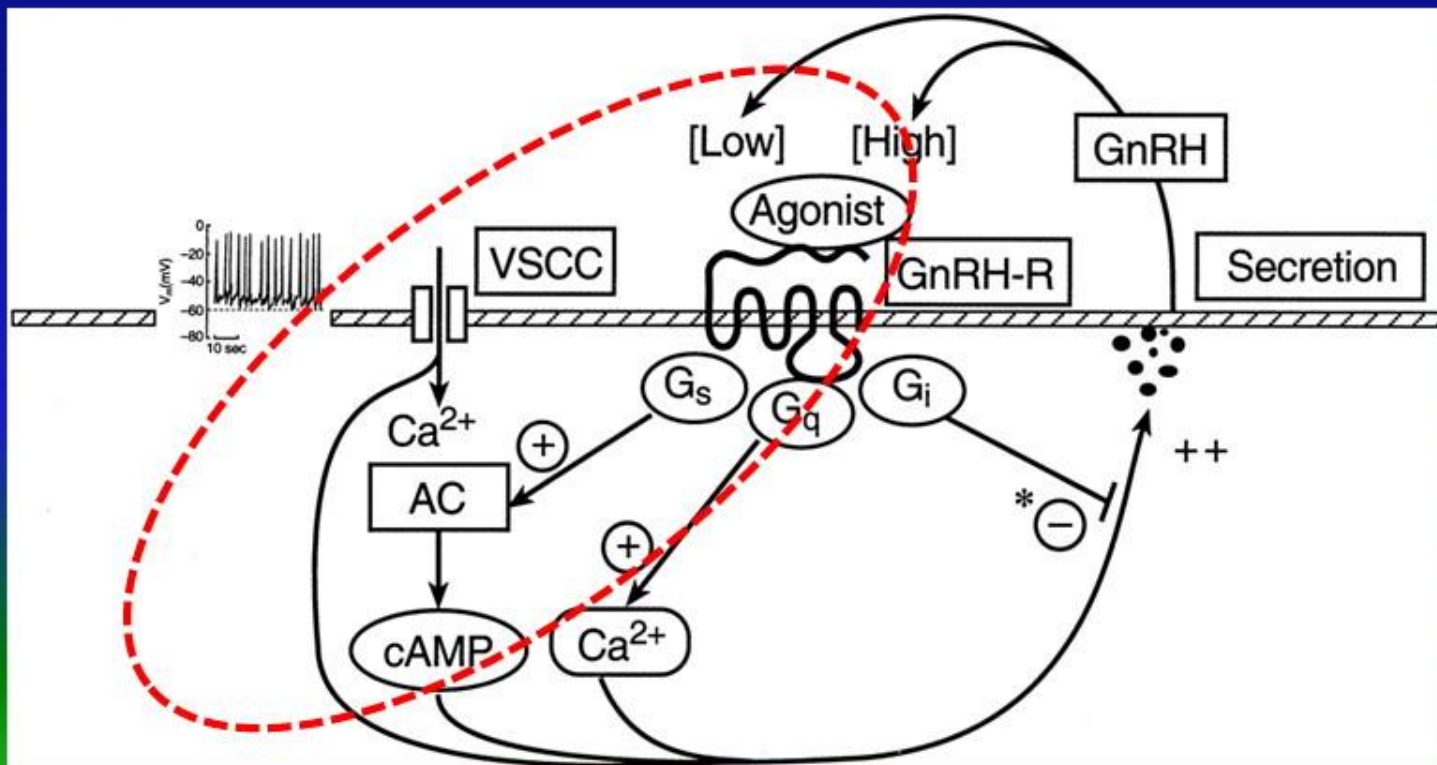
Ταχείες επιδράσεις ανδρογόνων στη ρύθμιση της απελευθέρωσης GnRH

- Ανδρογόνα εμπλέκονται στενά στον νευροενδοκρινικό έλεγχο της GnRH
- Τα ανδρογόνα είναι γνωστό ότι **αναστέλλουν την έκκριση της LH**, η οποία βρίσκεται υπό τον άμεσο έλεγχο του υποθαλάμου μέσω της έκκρισης GnRH

- Ενώ τα ανδρογόνα είναι γνωστό ότι επηρεάζουν την ευαισθησία της υπόφυσης στην GnRH, υπάρχουν ευρήματα, τα οποία υποδηλώνουν μία **νευρωνική συνιστώσα** στη ρύθμιση της έκκρισης LH μέσω των ανδρογόνων
- Οι συγκεκριμένες νευρωνικές θέσεις δράσης των ανδρογόνων παραμένουν σε μεγάλο βαθμό άγνωστες



- [!] Νευρώνες GnRH δεν περιέχουν AR
- Φαίνεται ότι η δράση ασκείται μέσω μεταβολών $[Ca^{2+}]_i$

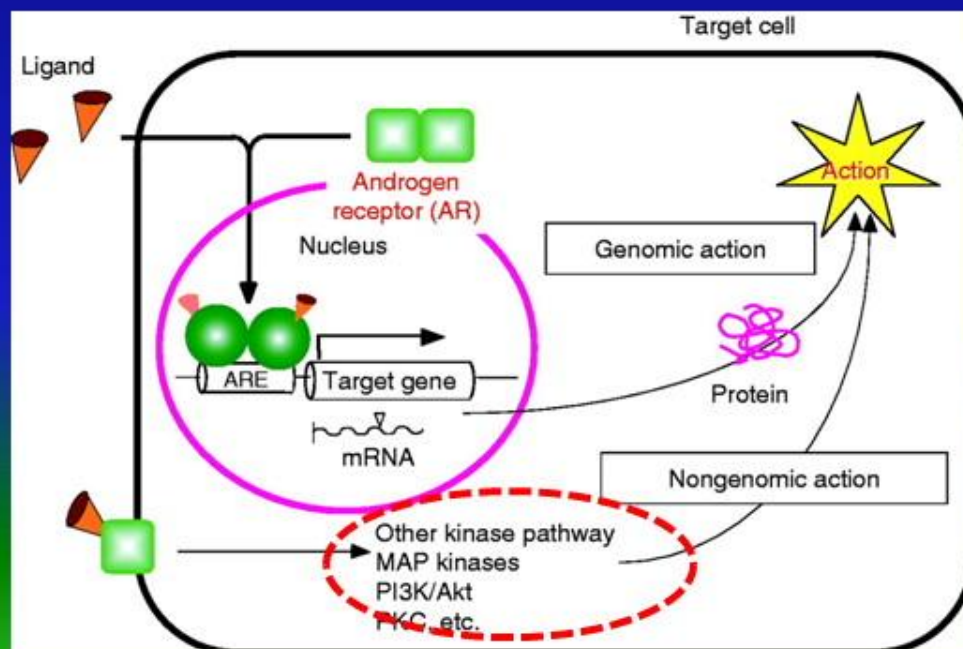


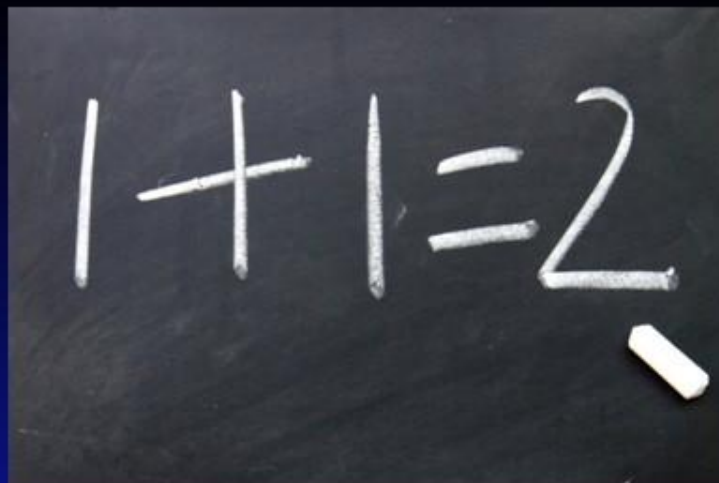
Μη γενωμικές δράσεις επί του ΚΝΣ

- Ανδρογόνα
 - νευροπροστατευτικό ή
 - νευροτοξικό αποτέλεσμα
- DHT ρυθμίζει την κυτταρική ανάπτυξη, τη διαφοροποίηση, την επιβίωση ή το θάνατο τόσο μέσω γενωμικών/μη γονιδιωματικών οδών σηματοδότησης

- Τα ανδρογόνα, συμπεριλαμβανομένων T/DHT, μπορούν να προστατεύσουν τους νευρώνες από τοξικές προσβολές σε καλλιέργειες
- Ωστόσο, τα υπερφυσιολογικά επίπεδα T έχει βρεθεί ότι αυξάνουν την απόπτωση των νευρώνων

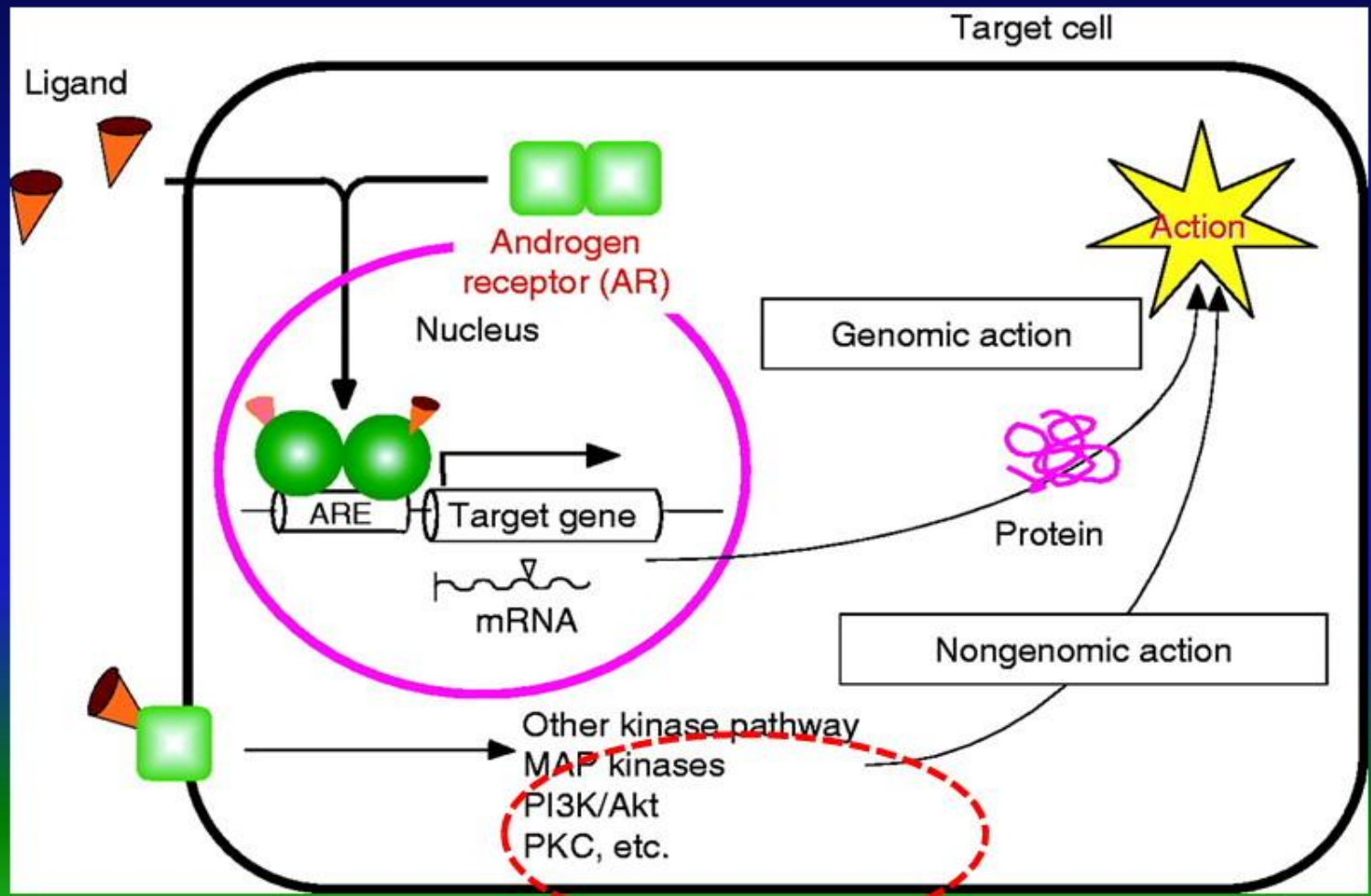
- Οι ενδοκυττάριας οδοί που βρίσκονται πίσω από την **προστατευτική ή την επιβλαβή δράση** των ανδρογόνων μπορούν να αποδοθούν στο γεγονός ότι τα ανδρογόνα προκαλούν **αντίθετες δράσεις** στις οδούς σηματοδότησης ERK/MAPK και Akt.




$$1 + 1 = 2$$

- Αναφορικά με την κυτταρική επιβίωση φαίνεται ότι υφίστανται δύο ανταγωνιστικά μονοπάτια
- ένα που σχετίζεται με την προστασία του εγκεφάλου και
- ένα άλλο που συνδέεται με την προαγωγή του κυτταρικού θανάτου

- Αυτή η αντίθετη δράση εξαρτάται από το εάν ενεργοποιείται **AR** μβ ή ενδοκυττάριος

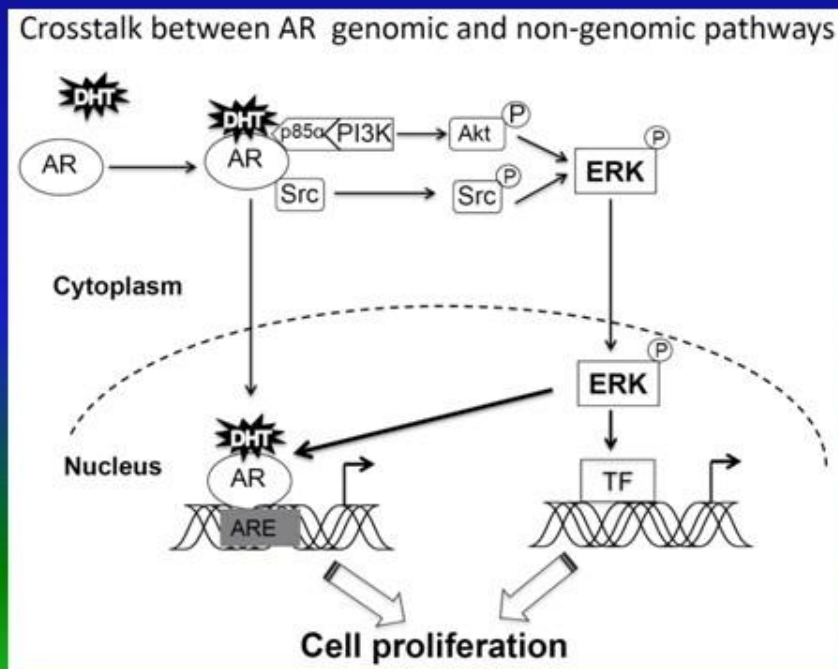


Συνολική θεώρηση



- Οι μη γονιδιωματικές δράσεις των ανδρογόνων μπορούν να λειτουργήσουν ανεξάρτητα, ή σε συνδυασμό, με άλλες - γονιδιωματικές - δράσεις

- Για να δώσουν το εναρκτήριο λάκτισμα σε μία κυτταρική ανταπόκριση



Συμπέρασμα

- Η ύπαρξη ταχείας, μη γονιδιωματικής σηματοδότησης των ανδρογόνων είναι αναμφισβήτητη

- Λειτουργούν μέσω της ενεργοποίησης **αλληλεπικαλυπτώμενων** σύνθετων σηματοδοτικών αλληλουχιών που οδηγούν στην έκφραση πολλαπλασιαστικών γονιδίων και αποκρίσεων

- Είναι σαφές ότι οι γονιδιωματικές και μη γονιδιωματικές δράσεις που προκαλούνται από τα ανδρογόνα μπορεί να είναι
- **προστατευτικές**, όπως με τη μείωση της λιπώδους μάζας
- έως **επιβλαβείς**, συμπεριλαμβανομένης της ενεργοποίησης προ-αποπτωτικών και προ-οξειδωτικών μονοπατιών σηματοδότησης

- Οι μη γενωμικές δράσεις των ανδρογόνων **έχουν επιπτώσεις**
- στην ανάπτυξη παθήσεων όπως
 - του καρδιαγγειακού
 - του προστάτη ή
 - του ΚΝΣ
- **Ερευνάται εάν μπορούν να στοχευθούν θεραπευτικά**

Βασικές πηγές

- *Age Ageing*. 2015;44:188-195.
- *FASEB J*. 1999;13:123-133.
- *Cell Signal*. 2016;28:1075-1085.
- *BMC Cancer*. 2005;5:148.
- *Steroids*. 2011;76:829-833.
- *J Sports Sci Med*. 2012;11:363-370.
- *Front Neuroendocrinol*. 2008;29:169-181.
- *Steroids*. 2018;133:1.
- *N Engl J Med*. 2013;369:1058-1059.
- *Exp Cell Res*. 2005;307:41-51.
- *Biol Pharm Bull*. 2013;36:8-12.
- *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2017;8:2.
- *Transl Androl Urol*. 2013;2:187-196.
- *Physiol Rev*. 2003;83:965-1016.
- *Life Sci*. 2011;89:577-583.
- *Clin Sci (Lond)*. 2017;131:1405-1418.
- *Front Neuroendocrinol*. 2008;29:182-198.
- *Steroid Biochem Mol Biol*. 2018;179:73-78.
- *Mol Endocrinol*. 2003;17:870-881.
- *Mol Oncol*. 2010;4:135-149.
- *Trends Endocrinol Metab*. 2007;18:371-378.
- *Cancer J*. 2016;22:326-329.
- *EPMA J*. 2016;7:22.
- *Biochim Biophys Acta*. 2014;1843:1172-1181.
- *CNS Neurosci Ther*. 2016;22:342-350.
- *Semin Cell Dev Biol*. 2014;30:2-13.
- *Urol J*. 2013;10:747-754.
- *Gen Comp Endocrinol*. 2018;257:130-136.
- *Ann N Y Acad Sci*. 2009;1160:205-212.
- *Cardiovasc Hematol Disord Drug Targets*. 2007;7:119-125.
- *Steroids*. 2011;76:1223-1231.
- *Steroids*. 2009;74:602-607.
- *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 2010;365:1557-1569.
- *Int J Mol Sci*. 2014;15:15412-15425.
- *Eur J Endocrinol*. 2010;162:825-830.
- *Steroids*. 2018;133:2-7.
- *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 2007;115:1-6.



Ευχαριστώ