

Význam sexuálních steroidů pro integritu skeletu

I. ŽOFKOVÁ, K. ZAJÍČKOVÁ

Endokrinologický ústav a 3. lékařská fakulta UK, Praha

SOUHRN

Žofková I., Zajíčková K.: **Význam sexuálních steroidů pro integritu skeletu.**

Sexuální steroidy svým významem pro kost převyšují klasické osteotropní systémy parathormon – 1,25(OH)₂ vitamin D a somatotropin – IGF-I. Estrogen působí na několika úrovních kostní remodelace a je stejně významným prediktorem kostní hmoty u žen i u mužů. Mimořádný význam estrogenu pro integritu kosti obou pohlaví pravděpodobně souvisí s vývojem specifických jaderných receptorů v časně fázi evoluce dávno před vznikem receptorů androgenních. Autoři prokázali asociaci cirkulujících prekurzorů sexuálních steroidů s kandidátními geny pro kostní hmotu. Tato vazba podporuje hypotézu o společné evoluci dvou významných funkčně propojených systémů – skeletu a reprodukce. V přehledu je věnována pozornost mechanismům účinků sexuálních steroidů ve fyziologii a v procesu stárnutí kostí.

Klíčová slova: sexuální steroidy – estrogen – testosteron – dehydroepiandrosteron – androstendion – kostní remodelace – kandidátní geny kostního metabolismu – evoluce.

SUMMARY

Žofková I., Zajíčková K.: **Importance of sexual steroids for integrity of the skeleton.**

Importance of sexual steroids for the skeleton exceeds that of other classic calciotropic systems such as parathyroid hormone – 1,25(OH)₂ vitamin D or somatotropin – IGF-I. Estrogen acts at several levels of bone remodeling and it is a potent predictor of bone mass in women as well as in men. Extraordinary importance of estrogen for integrity of male and female skeleton is probably connected with development of specific nuclear receptors early in the evolution, long ago before androgen receptors. Authors observed association between circulating precursors of sex-steroids and some candidate genes for bone mass. This association strengthens the hypothesis on common evolution of both important interrelating systems – the skeleton and reproduction. In this review the attention is devoted to mechanisms of sex-steroid action and their role in the processes of bone development and aging.

Keywords: sexual steroids – estrogen – testosterone – dehydroepiandrosterone – androstenedione – bone remodeling – candidate genes for bone metabolism – evolution.

Osteologický bulletin 2004;9(4):127–129

Adresa: prof. MUDr. Ivana Žofková, DrSc., Endokrinologický ústav, Národní 8, 116 94 Praha 1

Došlo do redakce: 1. 9. 2004

Úvod

Involuční osteoporóza je považována za jedno z nejzávažnějších onemocnění souvisejících se stárnutím. Postihuje 35 % postmenopauzálních žen bílé populace a 19 % mužů. Osteoporóza významně zvyšuje morbiditu i mortalitu postižených jedinců neboť je spojena s vysokým rizikem fraktur.

Hlavními hormonálními okruhy regulujícími kostní metabolismus jsou sexuální steroidy (estrogeny, androgeny a jejich prekurzory) a systémy somatotropin – IGF-I a PTH – 1,25(OH)₂ vitamin D₃.

Vývoj problematiky. Vysoký výskyt osteoporózy u postmenopauzálních žen a zmírnění ztráty kostní hmoty při substituci estrogeny jsou dávno známá pozorování. V roce 1998 Riggs a spol. [1] poukázali na širší patogenetický význam deficitu estrogenů – při vzniku časně (akcelerované) i pozdní (pomalé) ztráty kostní hmoty u žen a na význam estrogenů pro integritu kosti mužské.

Zdroje sexuálních steroidů u žen. Estrogeny jsou tvořeny z 95 % v ovariu, zbytek vzniká periferní konverzí z androgenů. Testosteron je v premenopauze syntetizován z 25 % v ovariu, z 25 % v nadledvině a z 50 % periferní konverzí. Substráty (meziprodukty) pro intra- i extragonadální syntézu sexuálních steroidů jsou C19 androgeny, z nichž DHEA je produkován převážně v kůře nadledviny, zatímco 8α-androstendion v nadledvině a ovariu.

Sexuální steroidy jsou syntetizovány také v kosti, kde byly identifikovány klíčové enzymy steroidogeneze aktivované 1,25(OH)₂ vitaminem D a inhibované glukokortikoidy. Jsou jimi 17β hydroxysteroid dehydrogenáza (pro syntézu testosteronu z androstendionu), aromatáza (pro konverzi androgenu na estrogen) a 5α reduktáza (pro syntézu dihydrotestosteronu). Lokálně produkované sexuální steroidy mají v kosti významnou parakrinní funkci [2].

Molekulární mechanismy působení estrogenu na kost

Estrogen ovlivňuje kost přímo prostřednictvím alfa a beta receptorů jaderných, cytosolových a membránových na osteoblastech, osteoklastech a osteocytech. Molekula estrogenního receptoru (ER) je obdařena jednou doménou pro vazbu na DNK a dvěma doménami pro vazbu transkripčních faktorů. Neaktivní estrogenní receptor (ER) je vázán na heat shock protein.

Aktivace ER – genomický a nengenomický efekt estrogenu.

Po stimulaci ER dochází k uvolnění heat shock proteinu a ke vzniku komplexu ligand/receptor, jenž je dimerizován a konformován. Poté dochází k odkrytí domény pro vazbu na ERE (estrogen response element) v promotorové oblasti cílového genu a na AP-1 lokusu DNK [3]. Kromě klasického ERE a AP-1 se při aktivaci receptoru mohou uplatnit i další transkripční faktory, jaderný faktor NFκB a Sp1, a to nezávisle na ERE (*obr. 1*) [4,5]. Genová transkripce je indukována interakcí koaktivátorů a korepresorů s aktivací funkcí AF-1 nebo AF-2. Zatímco AF-1 je nezávislá na ligandu, AF-2 se váže na specifický ligand a určuje tak tkáňovou specifitu hormonu [6]. Sekreční odpověď indukovaná genomicky je pomalá. Rychlý, nengenomický efekt je zprostředkován membránovými receptory cílových buněk s účastí G-proteinů a následnou aktivací kalciových kanálů, adenylátcyklázy, fosfolipázy C a tyrosin kinázy [7].

Cílovými tkáněmi estrogenu jsou ženské reprodukční orgány včetně ovarií, testes, ale i další tkáně s 10–1 000krát nižším počtem receptorů, jimiž jsou hypofýza, mozek, nadledvina, endotel a svalovina cévní stěny (aktivace syntázy vazodilatačního působku NO), játra (útlum produkce LDL cholesterolu a vzestup hladiny HDL-cholesterolu), plíce, prostata, ledvina a kost [8].

Vliv estrogenu na kost

Estrogen tlumí kostní resorpci přímým působením na ER α a ER β . Obě formy receptorů mají stejné vazebné domény, ale ER β má efekt částečně antagonistický, takže vyřazení ER β obvykle zvýší citlivost ER α na estrogen [9]. ER α byly prokázány v kosti kortikální, zatímco ER β v kosti trabekulární. Prvé jsou kódovány na 6. chromosomu a polymorfismy XbaI a PvuII, druhé na 14. chromosomu. Estrogen prostřednictvím ER α tlumí apoptózu osteocytů a tím senzibilizuje mechanostat – zpětnovazební zařízení na osteocytech, které aktivuje kostní resorpci nebo novotvorbu v závislosti na objemu kostní hmoty. V menopauze v důsledku snížené citlivosti mechanostatu, zařízení indukujícího novotvorbu nebo ztrátu kosti v závislosti na aktuálním stavu kostní hmoty, dochází k nepříznivému poměru mezi přírůstkem a ztrátou kosti ve prospěch jejího úbytku [10].

Estrogen tlumí produkci osteoresorpčních cytokinů (IL-1, IL-6, TNF- α , GM-CSF) a PGE $_2$ monocytů i kostními buňkami [11, 12]. Blokuje expresi NF κ B (RANKL) v osteoblastech, tlumí diferenciaci a aktivaci osteoklastů a indukuje jejich apoptózu. Stimuluje produkci protiregulačního peptidu osteoprotegerinu (OPG) [4]. Výsledným efektem je zpomalení resorpce kosti. Estrogen také zvyšuje počet a mitogenní aktivitu osteoblastů, prodlužuje fázi novotvorby kosti a stimuluje syntézu prokolagenu. Fyziologický význam estrogenu spočívá i ve stimulaci produkce insulin-like-growth faktoru (IGF)-I a 1,25(OH) $_2$ vitamínu D a v senzibilizaci jejich receptorů.

Fyziologický význam estrogenu pro kost

Estrogen spolu s androgeny zrychluje pubertální zrání a sexuální dimorfismus skeletu, růst kosti do délky, periostální apozice a ztlustění trabekul. Spolu s androgeny a růstovými faktory urychluje nárůst kostní hmoty (peak bone mass) u obou pohlaví a zpomaluje její úbytek během stárnutí [13]. Zajišťuje integritu kostní mikroarchitektury. Estrogen je prvořadým prediktorem kostní hmoty, a to i u mužů [14].

Důsledkem fyziologického deficitu estrogenu u žen je menopauza. Z hlediska kostního metabolismu je třeba rozlišovat její čas-

nou a pozdní fázi. V prvních 4–5 letech po ztrátě menstruačního cyklu dochází k remodelační nerovnováze, kdy se resorpce kosti v důsledku zvýšení aktivační frekvence (zmnožení kostních remodelačních jednotek) zrychlí až o 90 %, zatímco formace se zrychlí jen o 45 % [15]. Současně je významnou měrou tlumena funkce mechanostatu. Důsledkem těchto změn je ztráta převážně trabekulární kosti. Později (10–15 let po menopauze) dochází k útlumu osteoblastické funkce, ke zpomalení syntézy 1,25(OH) $_2$ vitamínu D a v důsledku negativní bilance kalcia k druhotné hyperparatyreóze. V této fázi ubývá především kost kortikální [16].

Estrogen a mužská kost

Estrogen je dominantním hormonem kontroly kostní resorpce a mechanostatu i u mužů. U ER α knockoutovaných myších samců byl pozorován 25% úbytek kostní hmoty a zástava růstu dlouhých kostí. Pozitivní účinek testosteronu je částečně zprostředkován estrogény vznikajícími z androgenů působením tkáňové aromatázy. Knockout genu pro aromatázu má za následek snížení objemu trabekulární kosti [17].

Androgeny a kost

Podobně jako estrogény pozitivně ovlivňují kost obou pohlaví, androgeny působí i na kost ženskou, a to prostřednictvím receptorů v osteoblastech, osteoklastech a osteocytech [18]. Ukazuje se, že významnou roli mají androgeny produkované přímo v kosti působením 5 α -reduktázy a 17 β -hydroxysteroid-dehydrogenázy. Na kost působí nejen přímo, ale i prostřednictvím estradiolu a estroonu, na něž jsou konvertovány.

Také odpověď kosti na androgen je jednak pomalá, indukovaná aktivací osteoklastických jaderných receptorů a jednak okamžitá, zprostředkovaná negenomicky membránovými receptory. Androgeny, podobně jako estrogény, tlumí produkci osteoresorpčních cytokinů a odpověď kosti na osteoresorpční působení parathormonu. Naopak pozitivně ovlivňují aktivitu osteoprotegerinu a proliferaci a mitogenní aktivitu osteoblastů. Androgeny významnou měrou ovlivňují kostní metabolismus zvýšením exprese růstových faktorů a jejich receptorů, především IGF-I, TGF (transforming growth factor) α a TGF β [19]. Výsledkem je posun rovnováhy kostní remodelace ve prospěch novotvorby. Androgeny mimoto zlepšují bilanci kalcia v organismu stimulací vstřebávání iontu ve střevě. Specifickým projevem vlivu androgenů je vzestup periostální apozice kosti, efekt, který výrazně diferencuje kost mužskou a ženskou.

Význam nedostatku androgenů pro mužskou a ženskou kost

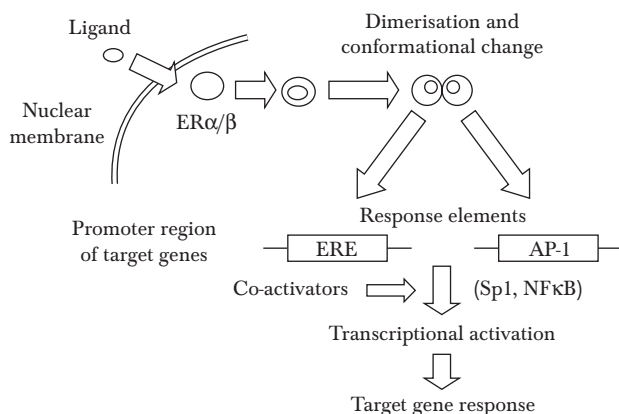
Fyziologický pokles hladin androgenů u mužů je projevem andropauzy, jež v důsledku pozvolného útlumu produkce testosteronu i estrogenu vede k poklesu formační a vzestupu resorpční aktivity a ke ztrátě kostní hmoty. Současně v důsledku vzestupu hladin SHBG klesá biologická dostupnost sexuálních steroidů. Pulzatilní sekrece somatotropinu se oploštuje a klesá produkce IGF-I a IGF binding proteinu-3. Fyziologické zpomalení metabolisme vitamínu D v průběhu stárnutí vede k druhotné hyperparatyreóze a k dalšímu zrychlení ztráty kortikální kosti. Důsledkem dlouhodobého nedostatku androgenů nebo rezistence jejich receptorů u mužů i u žen je zrychlení kostní remodelace a vznik osteoporózy [20].

Genetická kontrola syntézy sexuálních steroidů a její souvislost s kontrolou kostního metabolismu

Je známo, že transport a štěpení cholesterolu jsou kódovány genem pro mitochondriální enzym – CYP11A1 (polymorfismus P450). Iniciální fáze steroidogeneze, syntéza 17-OH pregnenolonu a DHEA je pak determinována genem pro CYP17 [21], zatímco syntéza dalších mezičlánků androstendionu a testosteronu je kódována geny pro 3 β -hydroxysteroidní dehydrogenázu a 17-hydroxysteroidní dehydrogenázu a genem pro CYP19 [22]. Syntéza estrogenu je pod kontrolou genu pro aromatázu.

Obr. 1

Estrogenní signalizace – genomický účinek. Ligand – 17 β -estradiol po přesunu k jádru vytvoří komplex s estrogenním receptorem (ER). Následuje dimerizace a konformační změna v transkripčně kompetentní komplex, který se váže na responsivní prvky v cílovém genu citlivém na estrogen. Mimo klasické ERE a AP-1 lokusy existují další transkripční faktory – NF κ B a Sp1, které mohou reagovat s estrogenními receptory a modulovat genovou transkripci (podle: J. E. Compstonové [27]).



Předmětem našeho výzkumu bylo sledování vztahů mezi hladinami sexuálních steroidů, především jejich prekurzorů k vybraným kandidátním genům pro osteoporózu. Asociační studie provedené na souboru nesubstituovaných postmenopauzálních žen přinesly průkaz vazby některých jednotlivých kroků steroidogeneze k těmto genům. Překvapivým zjištěním byla vazba časné fáze steroidogeneze – produkce DHEA z cholesterolu ke genům pro VDR (Fok I polymorfismus) [23] a ke genu pro apolipoprotein E (ApoE) [24]. Nejvyšší hladiny dehydroepiandrosteronu byly zaznamenány u nositelů genotypů Ff a E3/4. Další krok steroidogeneze – produkce androstendionu byl vázán na gen pro ER α [25] a na gen pro kalcitoninový receptor [26]. Konečná fáze steroidogeneze – produkce testosteronu byla pak vázána na gen pro ApoE [24]. Syntéza a metabolismus nejvýznamnějších osteotropních hormonů – sexuálních steroidů jsou tedy pravděpodobně determinovány polygenně se spoluúčastí kandidátních genů pro kostní metabolismus.

Z dosavadních poznatků i z našich výsledků vyplývá, že mezi sexuálními steroidy a kostí je vzájemná funkční vazba vysvětlitelná společnou evolucí reprodukčního systému a kalciového metabolismu. Již u ptáků reprodukce závisí na mineralizaci vaječné skořápky. Genetická kontrola steroidogeneze a kalciového metabolismu stejnými geny je pravděpodobně projevem společné evoluce dvou významných a funkčně propojených systémů – skeletu a reprodukce. Tuto hypotézu by posílila identifikace dalších společných genů pro kost a steroidogenezi. Výzkum v budoucím desetiletí bude také pravděpodobně směřovat k hledání nových modulátorů ER se selektivním účinkem na kost a k jeho využití v léčbě mužské osteoporózy. Klinický význam by mohla mít aplikace estrenu, „ideálního“ syntetického estrogenu s minimálními vedlejšími účinky, působícího negenomickým mechanismem. Hlubší poznání patofyziologie pubertální kosti umožní využít selektivní sexageny k modulaci nárůstu kostní hmoty v peripubertálním věku.

Genotypizace [cit. 26] byla podpořena grantem NR/7827-3 IGA MZ České republiky.

Literatura

- Riggs BL, Khosla S, Melton III LJ. A unitary model for involutional osteoporosis: estrogen deficiency causes both type I and type II osteoporosis in postmenopausal women and contributes to bone loss in aging men. *J Bone Miner Res* 1998;13:763–73.
- Eyre LJ, Bland R, Bujalska IJ, et al. Characterization of aromatase and 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase expression in rat osteoblastic cells. *J Bone Miner Res* 1998;13:996–1004.
- McKenna NJ, Lanz RB, O'Malley BW. Nuclear receptor coregulators: cellular and molecular biology. *Endocr Rev* 1999;20:321–44.
- Stein B, Yang MX. Repression of the interleukin-6 promoter by estrogen receptor is mediated by NF kappa B and C/EBP beta. *Mol Cell Biol* 1995;15:4971–79.
- Porter W, Seville B, Horvik D, Safe S. Functional synergy between the transcription factor Sp1 and the estrogen receptor. *Mol Endocrinol* 1997;11:1569–80.
- Jenster G. Coactivators and corepressors as mediators of nuclear function: an update. *Med Cell Endocrinol* 1998;143:1–7.
- Simoncini T, Genazzani AR. Non-genomic actions of sex steroid hormones. *Eur J Endocrinology* 2003;148:281–92.
- Mosselman S, Polman J, Dilema R. ER β : identification and characterization of a novel human estrogen receptor. *FEBS Lett* 1996;392:49–53.
- Kuiper GGJM, Van Den Bemd GCM, Van Leeuwen JPTM. Estrogen receptor and the SERM concept. *J Endocrinol Invest* 1999;22:594–603.
- Frost HM. The role of changes in mechanical usage set points in the pathogenesis of osteoporosis. *J Bone Miner Res* 1992;7:253–61.
- Ralston SH, Russell RGG, Gowen M. Estrogen inhibits release of tumor necrosis factor from peripheral blood mononuclear cells in postmenopausal women. *J Bone Miner Res* 1990;5:983–88.
- Pacifici R, Brown C, Puschek E, et al. Effect of surgical menopause and estrogen replacement on cytokine release from human blood mononuclear cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991;88:5134–38.
- Bonjour JP, Rizzoli R. Bone acquisition in adolescence. In: Osteoporosis, ed. Marcus R, Feldman D, Kelsey J. San Diego, CA: Academic, 1996:465–76.
- de Ronde W, Pols HAP, van Leeuwen JPTM, de Jong FH. The importance of oestrogens in males. *Clin Endocrinology* 2003;58:529–42.
- Manolagas SC. Birth and death of bone cells: basic regulatory mechanisms and implications for the pathogenesis and treatment of osteoporosis. *Endocr Rev* 2000;21:115–37.
- Ledger GA, Burritt MF, Kao PC. Abnormalities of parathyroid hormone secretion in elderly women that are reversible by short term therapy with 1,25-dihydroxyvitamin D $_3$. *J Clin Endocrinol Metab* 1994;79:211–16.
- Riggs BL, Khosla S, Melton LJ. Sex steroids and the construction and conservation of the adult skeleton. *Endocr Rev* 2002;23:279–302.
- Abu E, Horner A, Kusec V, et al. The localization of androgen receptors in human bone. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82:3493–97.
- Kasperk C, Wergedal JE, Farley JR, et al. Androgens directly stimulate proliferation of bone cells in vitro. *Endocrinology* 1989;124:1576–79.
- Anderson FH, Francis RM, Peaston RT, Wastell HJ. Androgen supplementation in eugonadal men with osteoporosis: effects of six months' treatment on markers of bone formation and resorption. *J Bone Miner Res* 1997;12:472–78.
- Huang J, Ushiyama T, Inoue K, et al. Possible association of CYP17 gene polymorphism with the onset of rheumatoid arthritis. *Clin Exp Rheumatol* 1999;17:721–24.
- Durocher F, Morrisette J, Labrie Y, et al. Mapping of the HSD17B2 gene encoding type II 17 α -hydroxysteroid dehydrogenase close to D16S422 on chromosome 16q24.1-q24.2. *Genomics* 1995;25:724–26.
- Žofková I, Hill M, Zajíčková K. Dehydroepiandrosterone status in postmenopausal women is determined by the gene for the vitamin D receptor. *Horm Metab Res* 2002;34:127–31.
- Žofková I, Zajíčková K, Hill M. The estrogen receptor alpha gene determines serum androstenedione levels in postmenopausal women. *Steroids* 2002;67:815–19.
- Žofková I, Zajíčková K, Hill M, Hořínek A. Apolipoprotein E gene determines serum testosterone and dehydroepiandrosterone levels in postmenopausal women. *Eur J Endocrinology* 2002;147:503–06.
- Žofková I, Zajíčková K, Hill M. Postmenopausal serum androstenedione levels are associated with the calcitonin receptor gene polymorphism T1377C. A pilot study. *J Endocrinol Invest* 2004:27.
- Compston JE. Sex steroids and bone. *Physiological Res* 2001;81:419–47.