

## Molecular action of insulin-sensitizing agents

*Olga Kacalska, Magdalena Krzyckowska-Sendrakowska, Tomasz Milewicz, Marta Żabińska-Popiela, Tomasz Bereza, Gracjana Krzysiek-Mączka, Józef Krzysiek*

*Department of Gynecological Endocrinology, Collegium Medicum Jagiellonian University, Kraków*

### Abstract

Atypical endometrial hyperplasia has been associated with progression to endometrial cancer, the most common genital malignancy. There are multiple risk factors for endometrial cancer, such as early menarche, exogenous estrogen exposure, obesity and diabetes. Diabetics have a 3-4 fold relative risk of endometrial cancer. Also, several studies have demonstrated an association between insulin resistance and endometrial cancer. There is known the first description of atypical endometrial hyperplasia resistant to progestogen therapy, which was subsequently treated with an insulin-sensitizing agent, metformin. Metformin is a biguanide antihyperglycemic agent used in the treatment of adult-onset diabetes. Unlike the sulfonylureas, metformin does not act primarily by increasing insulin secretion. In contrast, metformin lowers the rate of gluconeogenesis in the presence of insulin. Therefore, it is considered an insulin-sensitizer. Increased insulin sensitivity may improve the metabolic effect of insulin and decrease its mitogenic effect by tissue-specific mechanisms. One explanation for tissue specific differences in insulin binding and action may be through the relative expression of the insulin receptor (IR) isoforms. The IR isoforms IR-A and IR-D differ by 12 amino acid residues, owing to the alternative splicing of exon. The IR-A is predominantly expressed in malignant tissues and may lead to mitogenic effects within the cell. The relative expressions of IR-A and IR-B in normal and malignant endometrial tissue is not known. Besides direct effects on the IR, several additional mechanisms have been proposed for the mitogenic effect of insulin in endometrial cancer. In addition to the possible direct mitogenic effects of insulin through the IR-A, insulin resistance may be associated with alterations in expression of insulin-like growth factors (IGFs) and the IGF binding proteins (IGFBPs) or may inhibit the protective effect of progestagens. Binding sites for IGF-1 and IGF-2 have been confirmed in both normal and malignant endometrium. Binding of IGF-1 is significantly higher in endometrial cancer compared to normal endometrium. In the Ishikawa human endometrial cancer cell line IGF-1 was a more potent mitogen than insulin or IGF-2. Insulin may increase mitogenicity by regulating the expression of IGFBPs. The IGFBPs are a family of proteins that have both proliferative and anti-proliferative effects. While all six high-affinity IGFBPs are expressed in the endometrium, IGFBP-1 is the best characterized. Hyperinsulinemia can decrease IGFBP-1 even in the presence of progesterone, perhaps inhibiting progesterone's protective effects. Interestingly, IGFBP-1 was undetectable or minimally expressed in endometrial cancers. Nestler discussed results of a 6-month treatment of 100 nonobese women with PCOS, which showed a somewhat greater effect of metformin than rosiglitazone and no benefit of administering both agents in combination. Long-term treatment with oral contraceptives decreases endometrial cancer, with a

reduction in serum androgens and a decrease in hirsutism and acne, but may worsen insulin resistance and lead to deterioration in glucose tolerance. Insulin sensitizers, on the other hand, should decrease endometrial hyperplasia by inducing regular menses, but may not be as beneficial in improving androgen-related symptoms. Note that the Nurses Health Study (NHS) showed increased risk of diabetes in oral contraceptive users. These considerations may be related to the finding that women who used oral contraceptives have increased risk of myocardial infarction. Thus, in view of the particular increase in CVD risk among women with PCOS, one might be less likely to recommend oral contraceptives, while insulin sensitizers may be of particular benefit, decreasing androgens, improving ovulation and fertility, and reducing the risk of diabetes and CVD. Theoretically, metformin, a treatment which is now widely used to treat infertile women with PCOS, may have a role in preventing endometrial hyperstimulation by lowering insulin concentrations and restoring ovulation. However, the long-term effects of this drug in women with PCOS are not known and more studies are required before suggesting its use for preventing endometrial cancer.

## Molekularne podstawy antynowotworowego działania uwrażliwiaczy na insulinę

Olga Kacalska, Magdalena Krzyczkowska-Sendrakowska, Tomasz Milewicz, Marta Żabińska-Popiela, Tomasz Bereza, Gracjana Krzysiek-Mączka, Józef Krzysiek

Klinika Endokrynologii Ginekologicznej Katedry Ginekologii i Położnictwa Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie

### Streszczenie

Związki raka trzonu macicy oraz hiperplazji endometrialnej z cukrzycą znane są od dawna. Hiperinsulinemia może bowiem wywierać bezpośredni wpływ mitogeny na endometrium przeciwstawiając się antyproliferacyjnemu wpływowi progesteronu. Częstość raka endometrialnego w cukrzycy ocenia się na 3-4 razy wyższą niż w populacji. Podobne związki wykazywane są dla oporności tkanek na insulinę i częstości występowania raka trzonu macicy. Istnieją już pierwsze doniesienia o cofaniu się atypowego przerostu endometrialnego opornego na leczenie progesteronem pod wpływem czynników uwrażliwiających na insulinę. Istnieje zatem prawdopodobieństwo uzyskania nowej klasy leków wspomagających profilaktykę tego najczęstszego nowotworu ginekologicznego. Do leków tych należy metformina, przeciwcukrzycowy biguanid stosowany w cukrzycy dorosłych. W odróżnieniu od pochodnych sulfonylomocznika lek ten nie działa pierwotnie na wzmożenie sekrecji insuliny. Odwrotnie, powoduje on obniżenie glukoneogenezy w obecności insuliny. Uważa się go zatem za lek uwrażliwiający na insulinę.

Uwrażliwienie na insulinę może poprawiać metaboliczne efekty działania insuliny i hamować jej działanie mitogenne poprzez mechanizmy specyficzne tkankowo. Do mechanizmów tych proponuje się zaliczyć np. ekspresję izoform receptora insulinowego. Izofornie receptora insulinowego IR-A i IR-B różnią się resztą 12 aminokwasów. Ekspresję izofornie IR-A stwierdza się głównie w tkankach nowotworowych, gdzie wywiera efekt mitogeny w komórkach. Jednakże nie jest dotychczas poznane względne nasilenie ekspresji obu izoform w tkankach prawidłowych i nowotworowych.

Proponowane są także inne mechanizmy, pozareceptorowe, poprzez które insulina wywiera mitogeny wpływ na tkanki, szczególnie nowotworowe. Takim mechanizmem może być zmiana ekspresji insulinopodobnego czynnika wzrostu 1 (IGF-1) oraz jego białek wiążących (IGFBP) lub też modyfikacja antyproliferacyjnego działania progesteronu. Potwierdzono istnienie miejsc wiązania dla IGF-1 i IGF-2 zarówno

w endometrium prawidłowym jak i nowotworowym. Wiązanie IGF-1 w tkankach raka endometrium jest znamienne wyższe niż w zdrowej słuźowce jamy macicy. W hodowanej linii raka endometrialnego Ishikawa, IGF-1 jest silniejszym mitogenem niż insulina i IGF-2. Mitogenność insuliny może wzrastać przy zmianach ekspresji białek wiążących. Rodzina tych białek może wykazywać zarówno proliferacyjne jak i antyproliferacyjne działanie. W endometrium stwierdzono ekspresję wszystkich 6 białek wiążących IGF. Najlepiej scharakteryzowanym białkiem jest IGFBP-1. Hiperinsulinemia może obniżyć poziom IGFBP-1 nawet w obecności progesteronu, prawdopodobnie hamując jego protekcyjne działanie. Co ciekawe, ekspresja IGFBP 1 w raku endometrium jest niewykrywalna lub istnieje tylko w śladowej ilości.

Wieloletnie leczenie środkami antykoncepcyjnymi kobiet z zespołem policystycznych jajników zmniejsza częstość występowania raka endometrialnego oraz redukuje stężenia androgenów w surowicy jak również zmniejsza nasilenie hirsutyizmu i łądzika. Jednakże leczenie to pogarsza wrażliwość tkanek na insulinę. Uwrażliwiacze na insulinę zmniejszają częstość hiperplazji endometrium, indukując regularne miesiączki, ale wykazują niewystarczające działanie antyandrogenne. Należy zwrócić uwagę, że w badaniach Nurses Health Study (NHS) wykazano zwiększone ryzyko cukrzycy przy stosowaniu doustnych środków antykoncepcyjnych. Teoretycznie, metformina używana powszechnie w leczeniu niepłodności kobiet z zespołem policystycznych jajników powinna zapobiegać hiperplazji endometrium poprzez obniżenie stężenia insuliny oraz przywrócenie owulacji. Jednakże należy przeprowadzić dalsze badania, by móc zalecać to leczenie jako profilaktykę raka endometrium.



Klinika Endokrynologii Ginekologicznej  
Katedra Ginekologii i Położnictwa Collegium Medicum  
Uniwersytetu Jagiellońskiego  
Ul. Kopernika 23, 31 501 Kraków  
E-mail: sekret.endo@interia.pl

Wiele badań epidemiologicznych wykazuje, iż otyłość oraz cukrzyca typu II, którym nieodłącznie towarzyszy hiperinsulinemia, są związane ze zwiększonym ryzykiem wielu nowotworów, takich jak rak endometrium, rak piersi, rak jelita grubego. Istnieje coraz więcej dowodów na to, że insulina pełni rolę hormonu wzrostu dla guza. Do mechanizmów tkwiących u podstaw neoplazji wywołanej przez insulinę można zaliczyć wzmożoną syntezę DNA prowadzącą do wzrostu komórki

guza, zahamowanie apoptozy, modyfikację środowiska hormonów płciowych. W związku z tym zmniejszenie stężenia insuliny we krwi poprzez aktywność fizyczną, utratę wagi ciała, dietę bogatowłóknikową może redukować ryzyko raka. Także rola nowych leków przywracających wrażliwość na insulinę, a co za tym idzie zmniejszających hiperinsulinemię, wydaje się nabierać olbrzymiego znaczenia w prewencji nowotworów [1, 2].

Związki raka trzonu macicy oraz hiperplazji endometrialnej z cukrzycą typu II znane są od dawna. Hiperinsulinemia, poprzedzająca wystąpienie cukrzycy na wiele lat, może bowiem wywierać bezpośredni wpływ mitogeny na endometrium przeciwstawiając się antyproliferacyjnemu wpływowi progesteronu. Częstość raka endometrialnego w cukrzycy ocenia się na 3-4 razy wyższą niż w populacji. Podobne związki wykazywane są dla oporności tkanek na insulinę i częstości występowania raka trzonu macicy. Istnieją już pierwsze doniesienia o cofaniu się atypowego przerostu endometrialnego, opornego na leczenie progesteronem, pod wpływem czynników uwrażliwiających na insulinę. Istnieje zatem prawdopodobieństwo uzyskania nowej klasy leków wspomagających profilaktykę tego nowotworu. Do leków tych należy metformina, przeciwcukrzycowy biguanid, stosowany w cukrzycy dorosłych. W odróżnieniu od pochodnych sulfonilomocznika lek ten nie działa pierwotnie na wzmożenie sekrecji insuliny. Odwrotnie, powoduje on obniżenie glukoneogenezy w obecności insuliny. Uważa się go zatem za lek uwrażliwiający na insulinę [3].

Wyróżnia się 2 typy raka endometrium. Typ I, powstający na podłożu hiperplazji endometrium, związany jest z hiperestrogenizmem, ekspresją receptorów estrogenowych i progesteronowych oraz młodszym wiekiem. Natomiast dla typu II, niezależnego od stymulacji hormonalnej, charakterystyczne jest atroficzne endometrium, brak receptorów estrogenowych i progesteronowych oraz starszy wiek pacjentek. Histologicznie do typu I zaliczamy raka endometrioidalnego oraz śluzowego, natomiast do typu II raka surowiczego i jasnokomórkowego. Wiele badań wykazuje także odmienne ścieżki genetyczne w rozwoju obu typów nowotworów. Najczęstszą zmianą genetyczną w raku endometrioidalnym jest mutacja i inaktywacja genu supresorowego PTEN, a także niestabilność mikrosatelitarna (MIN) i mutacje K-ras i B-keniny. Mutacja genu p53 występuje w późnym stadium karcinogenezy i stwierdzana jest tylko w 10-20% przypadków. Natomiast w raku surowiczym mutacja p53 jest najczęstszą zmianą genetyczną, ponadto często mamy tu do czynienia z inaktywacją p16 i e-kadheryny oraz amplifikacją her2/neu [4].

Większość przypadków sporadycznego raka endometrium (70-80%) należy do typu I i zależna jest od niezrównoważonej stymulacji endometrium przez estrogeny zarówno pochodzenia endogenego, jak i egzogenego [5, 6]. Estrogeny (głównie E2) zwiększają proliferację komórek poprzez indukcję syntezy insulinopodobnego czynnika wzrostu (IGF-1) oraz ekspresję receptorów dla IGF-1 w macicy, w ten sposób IGF-1 realizuje swój mitogeny wpływ na endometrium („estromedin hypothesis”). Progesteron przeciwdziała proliferacji komórek endometrium indukowanej przez

estrogeny poprzez stymulację lokalnej syntezy dehydrogenazy 17 $\beta$ -hydroksysteroidu i sulfo-transferazy estrogeny. Enzymy te sprzyjają konwersji E2 w słabiej działający estron (E1) oraz w siarczyn estrogeny, które są szybko wydalane z komórek i z organizmu. Poza tym progesteron stymuluje syntezę peptydu wiążącego IGF-1 (IGF binding protein-1 - IGFBP-1), który kontrolując dostępność IGF-1 dla jej komórkowych receptorów, hamuje działanie IGF-1 w endometrium. Indukowana przez estrogeny synteza IGF-1, przy braku zależnej od progesteronu syntezy IGFBP-1, prowadzi do proliferacji komórek endometrium [7, 8].

Uwrażliwienie na insulinę może poprawiać metaboliczne efekty działania insuliny i hamować jej działanie mitogenne poprzez mechanizmy specyficzne tkankowo. Znanych jest kilka mechanizmów, za pośrednictwem których podwyższone poziomy insuliny prowadzą do rozwoju raka endometrium. [3]

Insulina może działać jako czynnik wzrostu, wywołując efekty podobne do IGF-1, choć prawdopodobnie nieco słabsze. Tkanki guza, także raka endometrium, mają zwiększoną ekspresję receptorów dla IGF-1 oraz dla insuliny. Wyróżniamy 2 izoformy receptora insulinowego IR-A i IR-B, które różnią się resztą 12 aminokwasów, istotnych dla alternatywnego splicingu eksonu. Ekspresję izoformy IR-A jako dominującej stwierdza się głównie w tkankach nowotworowych, gdzie wywiera efekt mitogeny w komórkach. Jednakże nie jest dotychczas poznane względne nasilenie ekspresji obu izoform w tkankach prawidłowych i nowotworowych. [3]

Proponowane są także inne mechanizmy, pozareceptorowe, poprzez które insulina wywiera mitogeny wpływ na tkanki, szczególnie nowotworowe. Takim mechanizmem może być zmiana ekspresji IGF-1 oraz jego białek wiążących (IGFBP) lub też hamowanie antyproliferacyjnego działania progesteronu. Wiązanie IGF-1 w tkankach raka endometrium jest znamienne wyższe niż w zdrowej śluzówce jamy macicy. W hodowanej linii raka endometrialnego Ishikawa, IGF-1 jest silniejszym mitogenem niż insulina i IGF-2. Insulina może wzmacniać działanie mitogenne także poprzez obniżenie ekspresji IGFBP-1. Hiperinsulinemia może obniżać poziom IGFBP-1 nawet w obecności progesteronu, prawdopodobnie hamując jego protekcyjne działanie. Co ciekawe, ekspresja IGFBP-1 w raku endometrium jest niewykrywalna lub istnieje tylko w śladowej ilości. [3]

Poza tym działanie insuliny powoduje zmiany środowiska hormonalnego. Insulina stymuluje jajnikową (i prawdopodobnie także nadnerczową) syntezę androgenów, szczególnie u kobiet z genetycznymi skłonnościami do rozwoju PCOS i w ten sposób może bezpośrednio przyczynić się do nadmiaru estrogenów i niedoboru progesteronu.

Insulina indukuje także hamowanie syntezy wątrobowej globuliny wiążącej steroidy płciowe (sex hormone-binding globulin – SHBG), co powoduje wzrost poziomów wolnego estradiolu [7, 8].

Niewątpliwy jest również związek między opornością na insulinę i rakiem piersi. Do 90% komórek raka piersi wykazuje ekspresję receptorów dla IGF-1, IGF-2 i insuliny. Insulina wywiera znaczący mitogeny wpływ na prawidłową tkankę gruczołów piersiowych oraz komórki raka piersi. W wielu przypadkach raka piersi występuje nadekspresja receptora insulinowego, poziomy IR są 6-10 razy wyższe niż w prawidłowym nabłonku. Izoforma IR-A receptora insulinowego uważana jest za dominującą w wielu rakach piersi. Choć w wielu badaniach sugerowano, iż nadekspresja receptora insulinowego w komórkach raka piersi wiąże się z korzystnym rokowaniem (prawdopodobnie ze względu na lepsze zróżnicowanie tych nowotworów), w jednym z ostatnich badań wykazano, iż kobiety z rakiem wykazującym ekspresję receptorów insulinowych mają gorsze rokowanie niż te bez ekspresji receptorów [9, 10].

Działanie insuliny rozpoczyna się po połączeniu z receptorem błonowym komórki, należącym do rodziny receptorów tyrozynowych. Wewnątrzkomórkowo, sygnał od insuliny prowadzi do kaskadowej fosforylacji i defosforylacji tyrozyny, a następnie seryny i treoniny. Początkowo dochodzi do fosforylacji substratów receptora insulinowego (insulin-receptor substrates 1/2 - IRS-1/2) i białka Shc. Uważa się, że do fosforylacji IRS dochodzi zarówno w przypadku metabolicznej jak i mitogennej działalności insuliny, natomiast fosforylacja Shc inicjuje wyłącznie szlaki mitogenne. W stanie oporności na insulinę działanie szlaku sygnalizacyjnego IRS-1/kinaza fosfatydyloinozytolu (PI)-3 jest osłabione, a sygnalizacja szlaku Shc-Ras-kaskada kinaz białkowych aktywowanych mitogenami (mitogen-activated proteine kinase – MAPK) prawidłowa lub nawet podwyższona [10].

Ostatnio wykazano również inny aspekt działania insuliny, a mianowicie jej zdolność do stymulacji prenylacji trifosfataz guaniny (guanine-triphosphatases - GTPases), takich jak p21Ras i Rho-A. Insulina sprzyja fosforylacji transferazy farnezylowej (FT-aza) oraz transferazy geranylgeranylowej I (GGT-aza I). Wykazano, iż indukowany przez insulinę wzrost poziomu farnezylowanej p21Ras i geranylgeranylowanej Rho-A zwiększał wrażliwość wielu tkanek na mitogeny wpływ różnych czynników wzrostu, takich jak IGF-1, nabłonkowy czynnik wzrostu (epidermal growth factor – EGF), płytkopochodny czynnik wzrostu (platelet derived growth factor – PDGF), kwas lizofosfatydowy (lysophosphatidic acid – LPA). W szlaku sygnalizacyjnym insuliny z FTazą i GGTazą I, całkowicie niezależnym od IRS-1, pośredniczy białko Shc oraz kinaza MAP [10].

Estradiol i progesteron są niewątpliwie związane z rozwojem raka piersi. Ekspresja receptorów estrogenowych (estrogen receptor - ER) i progesteronowych (progesterone receptor - PR) w raku piersi koreluje w stopniu znaczącym z odpowiedzią na terapię hormonalną. Około 2/3 raków piersi wykazuje ekspresję ER (ER+), z których część nie wykazuje ekspresji PR (PR-). Prawdopodobieństwo odpowiedzi tych guzów na leczenie hormonalne znacznie maleje w porównaniu do tych, które wykazują ekspresję obydwu typów receptorów (ER+/PR+). Wykazano, iż IGF, EGF, heregulina (heregulin – HRG) i insulina wywierają znaczący wpływ na zmniejszenie ekspresji PR w komórkach raka piersi poprzez mechanizm transkrypcyjny pośredniczony przez szlak sygnalizacyjny kinaza PI3/Akt. Obniżona ekspresja PR lub jej brak w pierwotnym raku piersi świadczy o agresywnym fenotypie guza, wiąże się z szybszą progresją nowotworu i złą reakcją na terapię hormonalną oraz, jak sugerują wyniki, może służyć jako wskaźnik wzmożonej aktywności czynników wzrostu w komórkach guza piersi. Zależność ta nie koreluje z ekspresją ER [11-13].

W komórkach nabłonkowych gruczołów piersiowych insulina i IGF-1, jako potencjalne mitogeny, działają synergistycznie z estrogenem stymulując proliferację komórkową. Estrogeny zmieniają ekspresję ligandów i receptorów IGF oraz białek wiążących ten czynnik wzrostu, sugerując potencjalne autokrynne i parakrynne mechanizmy odpowiadające za stymulowaną przez estrogen aktywność mitogenną. Poprzez zwiększenie ekspresji IGF-1R, estrogen uwrażliwia komórki na mitogenne efekty wysokich stężeń insuliny (działającej poprzez IGF-1R) oraz IGF-1 [9]. Ligandy stymulują IGF-1R, co prowadzi do fosforylacji kluczowych wewnątrzkomórkowych molekuł sygnalizacyjnych IRS-1-4. Zapoczątkowana przez estrogen indukcja ekspresji IGF-1R i IRS powoduje fosforylację tyrozyny w IRS-1, a w rezultacie zwiększoną aktywację kinazy MAP oraz kinazy PI-3 [14, 15].

Estrogen może działać za pomocą dwóch szlaków. Szlak genomowy to wiązanie estradiolu (E2) z receptorem jądrowym z następującym inicjowaniem transkrypcji genów. Poprzez szlak niegenomowy E2 wiąże się z receptorem estrogenowym  $\alpha$  (estrogen receptor  $\alpha$  – ER $\alpha$ ) zlokalizowanym w pobliżu błony komórkowej. Ponieważ ER $\alpha$ , w przeciwieństwie do innych czynników wzrostu, nie ma domeny transbłonowej, łączy się z białkiem Shc. Kompleks Shc/ER $\alpha$  wiąże się z receptorem czynnika wzrostu IGF-1R, co prowadzi do translokacji błonowej ER $\alpha$  oraz fosforylacji Shc, a to z kolei, poprzez kolejne przyłączanie białek Grb-2 i Sos, prowadzi do szybkiej aktywacji kinazy MAP. Innym białkiem, z którym może łączyć się ER $\alpha$  jest p85 $\alpha$ . Z kolei kompleks ER $\alpha$ /p85 $\alpha$ , wiążąc się

z wewnątrzkomórkową domeną IGF-1R, aktywuje szlak kinazy PI-3. Współdziałanie szlaków genomowego i niegenomowego prowadzi do proliferacji komórek i zapobiega apoptozie [16, 17].

Olbrzymią nadzieją profilaktyki raka piersi i raka endometrium wydają się być leki zwiększające insulinowrażliwość [3, 18].

Do leków tego rodzaju należą biguanidy (metformina) oraz pochodne tiazolidynodionu (troglitazon, pioglitazon, rozyglitazon) [19].

Wspomniana już wyżej metformina wywiera efekt hipoglikemizujący poprzez rozrywanie łańcucha oksydacyjnego w mitochondriach. Do swego działania wymaga obecności insuliny i przede wszystkim uwrażliwia na insulinę w wątrobie, hamując wątrobową syntezę glukozy, a także w adipocytach i mięśniach szkieletowych, zwiększając wykorzystanie glukozy. Postuluje się również aktywację kinazy białkowej  $\alpha 2$  aktywowanej przez monofosforan adenozyliny, co wiąże się z większym zużyciem glukozy i większym gromadzeniem glikogenu w mięśniach [19].

Tiazolidynodiony (TZD), należące do agonistów jądrowych receptorów aktywowanych przez proliferatory peroksysomów typu gamma (peroxisome proliferator-activated receptor gamma - PPAR $\gamma$ ), wywierają efekt antynowotworowy, przeciwwzapalny oraz regulujący metabolizm węglowodanów i tłuszczu [17]. Nie są substancjami pobudzającymi wydzielanie insuliny i obniżają jej stężenie nawet silniej niż metformina, ponadto obniżają częstość incydentów sercowo-naczyniowych poprzez poprawę profilu lipidowego i funkcji endotelium oraz obniżenie ciśnienia tętniczego, poziomu fibrynogenu, agregacji płytek, mikroalbuminurii [19].

Tiazolidynodiony poprawiają wrażliwość na insulinę w mięśniach szkieletowych, ułatwiają wychwyt i wykorzystanie glukozy poprzez ułatwienie transportu glukozy i zwiększenie syntezy glikogenu i oksydacji glukozy. Słabiej znoszą wątrobową oporność na insulinę i obniżają glukoneogenezę. Wzmagają różnicowanie preadipocytów do adipocytów - ekspresja PPAR $\gamma$  jest silniejsza w adipocytach niż w mięśniach szkieletowych, w których wymagana jest interakcja TZD z adipocytami i pośrednictwo wolnych kwasów tłuszczowych oraz takich hormonów jak czynnik martwicy nowotworów alfa (tumor necrosis factor  $\alpha$  - TNF $\alpha$ ), adiponektyna, leptyna, rezystyna [19].

Ekspresję PPAR $\gamma$  stwierdza się również w kilku nowotworowych liniach komórkowych, takich jak liposarcoma, rak piersi, rak prostaty, rak jelita grubego [20]. Przeciwnowotworowe mechanizmy działania agonistów PPAR $\gamma$  obejmują:

#### 1. mechanizmy proapoptotyczne

Agoniści PPAR $\gamma$  indukują apoptozę poprzez wzrost ekspresji proapoptotycznych protein BAX

i BAD, które powodują apoptozę poprzez uwolnienie cytochromu C i dalej aktywację kilku efektorowych kaspaz [17].

#### 2. mechanizmy antyproliferacyjne

Agoniści PPAR $\gamma$  powodują wzrost ekspresji inhibitorów kinaz zależnych od cyklin (CDK) takich jak P18 czy P21. Inhibitory CDK blokują progresję cyklu komórkowego poprzez inaktywację formowania kompleksów cykliny/CDK, które są kluczowe dla fosforylacji białka Rb tworzącego kompleks z czynnikiem transkrypcyjnym E2F. W postaci niesfosforylowanej Rb jest negatywnym regulatorem cyklu komórkowego prowadząc do zatrzymania cyklu komórkowego w fazie G1. Kolejnym efektem działania PPAR $\gamma$  jest powodowanie zatrzymania podziału komórkowego poprzez spadek ekspresji cykliny D1 w kilku nowotworowych liniach komórkowych, np. raka piersi [18, 21].

#### 3. mechanizmy różnicowania komórkowego

Agoniści PPAR $\gamma$  powodują wzrost ekspresji kilku markerów różnicowania takich jak E-kadheryna, antygen karcinoembrionalny, fosfataza alkaliczna. Aktywacja PPAR $\gamma$  powoduje transkrypcję i ekspresję genów, które mogą spowodować przekształcenie odróżnicowanych komórek nowotworowych z powrotem do nienowotworowych lub przynajmniej do mniej złośliwego stanu [18].

#### 4. inhibicja angiogenezy

Endotelium guza cechuje się dużą koncentracją PPAR $\gamma$ . Aktywacja PPAR $\gamma$  hamuje angiogenezę i neowaskularyzację i blokuje uwolnienie naczyniowego śródbłonkowego czynnika wzrostowego (vascular endothelial growth factor - VEGF) z komórek mięśni gładkich [18].

#### 5. właściwości przeciwinwazyjne

Agoniści PPAR $\gamma$  powodują hamowanie działania gelatynazy B (MMP-9) oraz blokują migrację w makrofagach i komórkach mięśniowych, co sugeruje, iż mogą zapobiegać inwazji komórek nowotworowych [22].

Zarówno pierwotny, jak i przerzutowy rak piersi cechuje się znaczną ekspresją PPAR $\gamma$  [18], która, jak jest sugerowane, jest niezależna od ekspresji receptorów estrogenowych, receptorów nabłonkowego czynnika wzrostu 2 (epidermal growth factor receptor 2 - EGFR2) oraz mutacji p53 [23]. Aktywacja PPAR $\gamma$  w hodowlanych komórkach raka piersi powodowała kumulację lipidów i zmiany w ekspresji genów w nabłonku gruczołów piersiowych, co było związane z bardziej zróżnicowanym, mniej złośliwym stanem, redukcją zdolności komórek do klonowania, zatrzymaniem cyklu komórkowego i apoptozą [18]. W badaniach na myszach, po wszczępieniu komórek raka piersi, Elstner i wsp. wykazali znaczne zmniejszenie rozmiaru i masy guza po doustnej terapii trogli-

tazonem [24]. Z kolei w badaniach na szczurach podanie agonistów PPAR $\gamma$  prowadziło do spadku częstości występowania nowotworu oraz zmniejszenie masy guza [18].

Wykazanie związków pomiędzy insulinoopornością a nowotworami piersi i endometrium daje nam podstawy twierdzić, iż leki zwiększające insulinooporność mają szansę stać się nową alternatywą dla profilaktyki tych nowotworów. Minihistoskopia, ambulatoryjna wizualizacja endometrium umożliwia bezpośredni nadzór procesu leczenia substytucyjnego. Uzyskane tą drogą wyniki z materiału biopsyjnego będą przedmiotem analizy skuteczności profilaktycznej uwarżliwaczy na insulinę, stosowanych w Klinice Endokrynologii Ginekologicznej. Rozpoczęto też realizację podobnego programu profilaktycznego z oceną wpływu terapii tymi lekami w przypadkach zmian w gruczołach piersiowych.

## Piśmiennictwo

- Gupta K, Krishnaswamy G, Karnad A, Peiris AN. Insulin: A Novel Factor in Carcinogenesis. *American Journal of the Medical Sciences* 2002; 323:140-145.
- Moore MA, Park CB, Tsuda H. Implications of the hyperinsulinaemia-diabetes-cancer link for preventive efforts. *Eur J Cancer Prev.* 1998; 7: 89-107.
- Session DR, Kalli KR, Tummon IS et al. Treatment of atypical endometrial hyperplasia with an insulin-sensitizing agent. *Gynecol Endocrinol* 2003; 17: 405-407.
- Lax SF. Molecular genetic pathways in various types of endometrial carcinoma: from a phenotypical to a molecular-based classification. *Virchows Arch* 2004; 444: 213-223.
- Piver MS. Podręcznik onkologii ginekologicznej. PZWL, Warszawa, 1996: 197-222.
- Markowska J. Onkologia ginekologiczna. Urban & Partner, Wrocław, 2002: 638-655.
- Kaaks R, Lukanova A, Kurzer MS. Obesity, Endogenous Hormones, and Endometrial Cancer Risk: A Synthetic Review. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention* 2002; 11: 1531-1543.
- Lukanova A, Zeleniuch-Jacquotte A, Lundin E et al. Prediagnostic levels of C-peptide, IGF-1, IGFBP-1, -2 and -3 and risk of endometrial cancer. *Int J Cancer* 2004; 108: 262-268.
- Michels KB, Solomon CG, Hu FB et al. Type 2 Diabetes and Subsequent Incidence of Breast Cancer in the Nurses' Health Study. *Diabetes Care* 2003; 26: 1752-1758.
- Finlayson CA, Chappell J, Leitner JW et al. Enhanced Insulin Signaling via Shc In Human Breast Cancer. *Metabolism* 2003; 52: 1606-1611.
- Cui X, Zhang P, Deng W et al. Insulin-Like Growth Factor-I Inhibits Progesterone Receptor Expression in Breast Cancer Cells via the Phosphatidylinositol 3-Kinase/Akt/Mammalian Target of Rapamycin Pathway: Progesterone Receptor as a Potential Indicator of Growth Factor Activity in Breast Cancer. *Molecular Endocrinology* 2003; 17: 575-588.
- Milewicz T, Kołodziejczyk J, Krzysiek J. Cyproterone, norethindrone, medroxyprogesterone and levonorgestrel are less potent local human growth hormone and insulin-like growth factor I secretion stimulators than progesterone in human breast cancer explants expressing the estrogen receptor. *Gynecol Endocrinol* 2002; 16: 319-329.
- Krzysiek J, Milewicz T, Augustowska K. The impact of progesterone on simultaneous local secretion of IGFBP-3/IGF-I (IGFBP-3/IGF-I index) by human malignant and non-malignant breast explants depends on tissue steroid receptor phenotype. *Gin Pol* 2003; 74: 767-774.
- Lai A, Sarcevic B, Prall OW, Sutherland RL. Insulin/Insulin-like Growth Factor-I and Estrogen Cooperate to Stimulate Cyclin E-Cdk2 Activation and Cell Cycle Progression in MCF-7 Breast Cancer Cells through Differential Regulation of Cyclin E and p21WAF1/Cip1. *J Biol Chem* 2001; 276: 25823-25833.
- Lee AV, Jackson JG, Gooch JL et al. Enhancement of Insulin-Like Growth Factor Signaling in Human Breast Cancer: Estrogen Regulation of Insulin Receptor Substrate-1 Expression in Vitro and in Vivo. *Molecular Endocrinology* 1999; 13: 787-796.
- Santen RJ, Song RX, Zhang Z et al. Adaptive hypersensitivity to estrogen: mechanism for superiority of aromatase inhibitors over selective estrogen receptor modulators for breast cancer treatment and prevention. *Endocrine-Related Cancer* 2003; 10: 111-130.
- Zhang Z, Kumar R, Santen RJ, Song RX. The role of adapter protein Shc in estrogen non-genomic action. *Steroids* 2004; 69: 523-529.
- Grommes C, Landreth GE, Heneka MT. Antineoplastic effects of peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$  agonists. *Lancet Oncol* 2004; 5: 419-429.
- Zangeneh F, Kudva YC, Basu A. Insulin sensitizers. *Mayo Clin Proc* 2003; 78: 471-479.
- Fujiwara T, Horikoshi H. Troglitazone and related compounds. Therapeutic potential beyond diabetes. *Life Sciences* 2000; 67: 2405-2416.
- Theocharis S, Margeli A, Vielh P, Kouraklis G. Peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$  ligands as cell-cycle modulators. *Cancer Treatment Reviews* 2004; 30: 545-554.
- Liu H, Zang C, Fenner MH et al. PPAR $\gamma$  ligands and ATRA inhibit the invasion of human breast cancer cells in vitro. *Breast Cancer Research and Treatment* 2003; 79: 63-74.
- Lapillone H, Konopleva M, Tsao T et al. Activation of Peroxisome Proliferator-activated Receptor  $\gamma$  by a Novel Synthetic Triterpenoid 2-Cyano-3,12-dioxooleana-1,9-dien-28-oic Acid Induces Growth Arrest and Apoptosis in Breast Cancer Cells. *Cancer Research* 2003; 63: 5926-5939.
- Elstner E, Müller C, Koshizuka K et al. Ligands for peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$  and retinoic acid receptor inhibit growth and induce apoptosis of human breast cancer cells in vitro and in BXN mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 8806-8811.