

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ
KATEDRA BIOLOGICKÝCH A LÉKAŘSKÝCH VĚD

Dehydroepiandrosteron – mechanismy biologického účinku
Bakalářská práce

Velký dík patří Doc. MUDr. Josefu Herinkovi DrSc. za odborné vedení a ochotnou pomoc při vypracování této bakalářské práce.

Prohlašuji, že tato práce je mým původním autorským dílem, které jsem vypracovala samostatně. Veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem při zpracování čerpala, jsou uvedeny v seznamu použité literatury a v práci řádně citovány.

CÍL PRÁCE:

Cílem této práce je z dostupné literatury získat informace o mechanismu biologického účinku dehydroepiandrosteronu, o tom jak probíhá jeho syntéza a metabolismus, jaký má vztah k receptorům CNS a jaké jsou možnosti jeho praktického využití.

SOUHRN

Dehydroepiandrosteron (DHEA) je steroidní hormon produkováný ve velké míře nadledvinami, dále též gonádami a je prokázána i jeho syntéza v centrálním nervovém systému. Mimo to, že se dodnes přesně neví jakou plní v organismu funkci, je zvláštností i skutečnost, že je v organismu nalézán i po adrenalectomii a gonadectomii. Jeho syntéza v mozku je tedy nezávislá na syntéze na periférii. Existují domněnky že hraje určitou roli v osteoporóze, rakovině, autoimunitních onemocněních, kardiovaskulárních, psychických a degenerativních onemocněních. Mechanismus jakým zasahuje do těchto dějů se dá rozdělit na přímý a nepřímý. Nepřímý účinek DHEA je způsoben jeho konverzí na příslušné metabolity, zejména estradiol a testosteron. Přímé působení DHEA je zřejmě zprostředkováno vazbou na jaderné receptory (tedy analogicky jiným steroidním hormonům). Specifický receptor pro DHEA nebyl zatím objeven, ale byla dokázána jeho vazba s PXR, PPAR α , ER a dalšími. V CNS se DHEA váže na GABA_A receptory, na kterých působí jako antagonist, dále na NMDA a sigma receptory, kde má naopak agonistický účinek. Tento nález prokazuje i méně obvyklou možnost interakce s membránovými receptory.

Do praktického využití se DHEA dostal již u postmenopauzálních žen, další možností by bylo jeho využití jako podpůrná terapie Crohnovy nemoci, ulcerózní kolitidy a systémového lupus erythematosus (SLE).

SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

17 β HSD	17 β -ketosteroid reduktasa
3 β HSD	3 β -hydroxysteroid dehydrogenasa/isomerasa
AD	Alzheimerova nemoc
ADDLs	A β -oligomery
AR(s)	androgenní receptor(y)
CaMKII	kalcium-kalmodulin-dependentní protein kinasa II
CNS	centrální nervový systém
DHEA(S)	dehydroepiandrosteron (sulfát)
DHT	dihydrotestosteron
E ₂	estradiol
eNOS	endoteliální NO syntasa
ER(s)	estrogenní receptor(y)
FACO	fatty acyl -CoA oxidase
GABA	kyselina γ -aminomáselná
GnRH	gonadotropin releasin hormone
IGF-1	insulin growth factor 1
IGFBP-1	insulin growth factor binding protein 1
ILAE	International League Against Epilepsy
LH	luteinizační hormon
MAP	microtubule associated protein
NMDAR(s)	NMDA receptor(y)
NO	oxid dusnatý
PNS	periferní nervový systém
PPAR α	peroxisome activated receptor α
PREG(S)	pregnenolon(sulfát)
PROG	progesteron
PXR	pregnane X receptor
RBAEC	membrane receptor in bovine aortic endothelial cell membránový receptor endotelových buněk bovinní aorty
RHUEVC	membrane receptor in human umbilical vein endothelial cell membránový receptor endotelových buněk lidské umbilikální žíly
ROS	reactive oxygen species reaktivní formy kyslíku
SLE	systémový lupus erythematosus
StAR	steroidogenic acute regulatory protein
TSPO	translocator protein

OBSAH

1. NEUROSTEROIDY V CENTRÁLNÍM NERVOVÉM SYSTÉMU	8
1.1 Působení hormonálních steroidů v CNS	9
1.2 Biosyntéza a metabolismus neurosteroidů	10
2. SYNTÉZA A METABOLISMUS DHEA	14
2.1 Enzymy účastnící se syntézy DHEA	14
2.1.1 Cytochrom P450 scc (side-chain cleavage)	14
2.1.2 Cytochrom P450c17	15
2.1.3 Cytochrom b5	16
2.2 Lokalizace enzymů účastnících se syntézy DHEA v CNS	17
2.2.1 P450scc	17
2.2.2 P450c17	18
2.3 Další přeměny DHEA	18
2.3.1 3 β -HSD	19
2.3.2 17 β -HSD (17-ketosteroid reduktasa)	19
2.3.3 P450 aromatasa	20
3. RECEPTORY CENTRÁLNÍHO NERVOVÉHO SYSTÉMU A DHEA	21
3.1 Inhibiční receptory	21
3.1.1 Ionotropní GABA receptory	21
3.1.2 Glycinový receptor	22
3.2 Excitační receptory	22
3.2.1 Kainátové receptory	22
3.2.2 AMPA receptory	22
3.2.3 NMDA receptory	22
3.3 Sigma receptory	23
3.4 MAP-2	24
3.5 AR a ER	24
3.6 PPAR α (peroxisome activated receptor α)	25
3.7 PXR (pregnane X receptor)	25
3.8 RBAEC (membrane receptor in bovine aortic endothelial cell) a RHUVEC (membrane receptor in human umbilical vein endothelial cell)	25
3.9 IGFBP-1 (insulin growth factor binding protein)	26
4. RECEPTORY DHEA A JEJICH ÚLOHA VE FYZIOLOGICKÝCH A PATOLOGICKÝCH PROCESECH	26
4.1 Estrogenní receptory	26
4.1.1 ER a rakovina	27
4.1.2 ER a osteoporóza	28
4.1.3 Neurodegenerativní onemocnění	29
4.1.4 Kardiovaskulární onemocnění	30
4.1.5 Autoimunní nemoci	30
4.1.6 Chronická myeloidní leukémie	31
4.2 NMDA receptory	31
4.2.1 Alzheimerova nemoc	31
4.2.2 Epilepsie	32
4.2.3 NMDARs a myokard	33
4.2.4 Schizofrenie	33
4.2.5 NMDARs a bolest	35
4.3 GABA _A receptory	36
4.3.1 GABA _A a úzkostné poruchy	36

4.3.2 Vliv GABA _A receptorů na reprodukční funkce.....	37
5. MOŽNOSTI PRAKTICKÉHO VYUŽITÍ	37
5.1 DHEA a onemocnění srdce.....	37
5.2 Obezita.....	38
5.3 Inzulinová rezistence a hyperinsulinémie.....	39
5.4 Plazmatické lipidy a lipoproteiny	39
5.5 DHEA u postmenopauzálních žen	40
5.6 Vliv DHEA na autoimunitní nemoci	41
5.6.1 Systémový lupus erythematosus (SLE).....	41
5.6.2 Sjögrenův syndrom.....	41
5.6.3 Crohnova nemoc a ulcerózní kolitida.....	42
5.7 DHEA jako indikátor adrenokortikální suprese.....	43
5.8 Poměr kortizol/DHEA a odpověď na terapii schizofrenie.....	44
5.9 Vliv DHEA na hustotu kostních minerálů.....	44
5.10 Psychotická onemocnění	44
5.11 Vliv DHEA na rakovinu.....	45
5.12 Možnosti léčebného využití	45
6. ZÁVĚR.....	47
Seznam použité literatury	48

1. NEUROSTEROIDY V CENTRÁLNÍM NERVOVÉM SYSTÉMU

Termín „neurosteroid“ poprvé použili v roce 1987 Etienne Baulieu a Paul Robel při popisu syntézy pregnenolonu, 20 α -OH-pregnenolonu a progesteronu mozkovou tkání.

Nejširší definice neurosteroidů zahrnuje všechny steroidy syntetizované v mozku. Podle této základní definice lze např. za neurosteroidy považovat i estrogény, protože mohou být syntetizovány z testosteronu v různých oblastech mozku. [1]

Neurosteroidy jsou steroidy syntetizované buď *de novo* z cholesterolu, nebo *in situ* syntézou z různých prekurzorů steroidní povahy. V nervové tkáni se akumulují na úrovni, která je přinejmenším částečně nezávislá na míře steroidogenní žlázové sekrece (Baulieu 1987, převzato z cit. [2]).

Neurosteroidy mohou být dále rozděleny do dvou skupin: na neurosteroidy neuroaktivní a neuroinaktivní.

Za neuroaktivní steroidy jsou považovány steroidy působící na nervovou tkáň, proto lze předpokládat endogenní syntézu v mozku, nebo mohou být syntetizovány klasickou (periferní) endokrinní tkání, ale působí i na tkáň nervovou

Neuroinaktivní steroidy jsou sice syntetizovány v mozku, ale na nervovou tkáň nepůsobí (alespoň to nebylo dosud prokázáno). [1]

Koncentrace neurosteroidů v mozku překračuje jejich koncentraci v krvi, odhadem se jedná řádově o 10-100 nmol/l. Zdá se, že tyto steroidy jsou nezávislé na gonádové a adrenální syntéze, protože jejich přítomnost v centrálním nervovém systému (CNS) byla prokázána i po adrenalectomii a gonadectomii. [1]

Neurosteroidy působí v CNS velmi rychle, zpravidla během milisekund až sekund. Naproti tomu působení klasických steroidů je zprostředkováno vazbou steroidu na nitrobuněčné receptory, které po translokaci komplexu [steroidní hormon-receptor] do jádra ovlivňují genovou transkripci. Pro vyvolání účinku je tedy potřeba dlouhá doba (McEwen 1991, Lambert et al. 1995, Baulieu 1997, McKenna et al. 1999, Hatina a Reischig 2000, převzato z cit. [3]).

některé neuroaktivní steroidy a jejich chemický název:

Endogenní steroid	Chemický název
3 α -Androstandiol	5 α -Androstan-3 α , 17 β -diol
Androstendion	4-Androsten-3,17-dion
Kortikosteron	4-Pregnen-11 β ,21-diol-3,20-dion
Kortizol	4-Pregnen-11 β ,17 α ,21-triol-3,20-dion
Dehydroepiandrosteron	5-androsten-3 β -ol-17-on
Estradiol	1,3,5(10)-Estratrien-3,17 β -diol
Estron	1,3,5(10)-Estratrien-3-ol-17-on
Pregnenolon	5-Pregnen-3 β -ol-20-on
Progesteron	4-Pregnen-3,20-dion
Testosteron	4-Androsten-17 β -ol-3-on

1.1 Působení hormonálních steroidů v CNS

Klasické působení hormonálních steroidů v nervovém systému je zprostředkováno aktivací jaderných receptorů. Hormonální steroidy jsou tedy schopné aktivovat různé membránové nebo cytosolové signální dráhy. Hormonální působení je výsledkem kombinace rychlé signalizace a regulace transkripce (Nadal et al. 2001, Manella a Brinton 2006, převzato z cit. [4]).

Pohlavní steroidy, působící ve specifickém okamžiku nitroděložního života nebo raného postnatálního vývoje, způsobují rozvoj pohlavních dimorfismů v nervovém systému. Hlavním hormonem je v tomto případě testosteron, který může být lokálně metabolizován nervovou tkání na estradiol (E₂) nebo dihydrotestosteron (DHT) enzymem aromatasou a 5 α -reduktasou. E₂ je ligandem pro estrogení receptor (ER) a DHT je ligandem androgenního receptoru (AR). Oba receptory jsou zahrnuty do organizovaného efektu testosteronu na nervový systém. Testosteron a jeho metabolity způsobují změny specifické pro muže ve specifických oblastech mozku a spinální míchy (Cooke et al. 1998, Segovia et al. 1999, Simerly 2002, Morris et al. 2004, převzato z cit. [4]).

Hormonální steroidy také mají rozmanitý účinek na CNS dospělých. Gonádové steroidy působí na oblasti mozku zapojené do kontroly pohlavního chování a

neuroendokrinní regulace, modulují uvolňování neurotransmiterů a expresi a funkci neurotransmiterových receptorů a indukují plastické funkční remodelování synapsí (Olmos et al. 1989, Parducz et al. 2002, Csakvari et al. 2007, převzato z cit. [4]). Kognitivní oblasti mozku jsou také ovlivněny pohlavními hormony. Gonádové steroidy regulují neurogenezi u dospělých v gyrus dentatus (Galea a McEwen 1999, Tanapat et al. 1999, Banasr et al. 2001, převzato z cit. [4]). Toto působení na hippocampus je spojeno s antidepressivním efektem a ovlivněním učení a paměťových procesů (Parducz et al. 2006, Walf a Frye 2006, Frye 2007, převzato z cit. [4]).

Stres a stresové hormony mají odlišný efekt na mozek dospělých, regulaci poznávání a úzkostné odpovědi. Toto působení je spojeno s morfológickou a funkční modifikací mnoha mozkových struktur (např. změny morfológie dendritů v amygdale (Vyas et al. 2002, Vyas et al. 2004, převzato z cit. [4]), prefrontální kůře (Wellman 2001, Radley a Morrison 2005, převzato z cit. [4]) a hippocampu (Wooley et al. 1999, Watanabe et al. 1992, Donohue et al. 2006, převzato z cit. [4])).

Další důležitou vlastností hormonálních steroidů v CNS, která si zaslouží pozornost, je jejich schopnost regulovat přežití neuronů za neurodegenerativních stavů. Zatímco chronicky zvýšené hladiny stresových steroidů mohou poškodit mozkové funkce, gonádové steroidy projevují neuroprotektivní účinek. Testosteron, E₂ a progesteron vykázali neuroprotektivní účinek v různých experimentálních modelech neuronálních poškození včetně hippocampální excitotoxicity, degenerace substantia nigra a experimentální ischemie předního mozku. Působí také protektivně před emočními poruchami (Garcia-Segura et al. 2001, Wise 2003, Wise et al. 2005, převzato z cit. [4]). Nelze ale jednoznačně říci, že data platná pro zvířecí modely budou platit i při studiích na lidech. Také výsledky terapie neurologických a kognitivních poruch estrogeny a progestiny u postmenopauzálních žen nejsou ještě zcela přesvědčivé. [4]

1.2 Biosyntéza a metabolismus neurosteroidů

Syntéza steroidních hormonů v klasické endokrinní tkáni vychází ze série enzymatických kroků zahrnujících kromě specifických P450 enzymů i enzymy další. Produkce steroidů závisí na přítomnosti těchto enzymů v příslušné tkáni. Všechny steroidogenní tkáně obsahují enzym štěpící postranní řetězce cholesterolu

(P450scc), který konvertuje cholesterol na pregnenolon (PREG) a 3β -hydroxysteroid dehydrogenasu/isomerasu (3β HSD), která má jak dehydrogenasovou tak izomerasovou aktivitu a může tedy konvertovat PREG na progesteron (PROG). [1]

Skutečnost, že neurosteroidy jsou prokazovány i po adrenalectomii a gonadectomii naznačuje, že mozek má P450scc aktivitu. Otázkou je, zda je tato aktivita způsobena stejným P450 enzymem jako v nadledvinách či gonádách. Klonováním P450scc cDNA a genomové DNA hlodavců, krav a lidí se ukázalo, že existuje jen jeden P450scc gen. Tedy pokud je P450scc nalezena v mozku, musí být kódována stejným genem jako v nadledvinách a gonádách. [1]

V CNS tedy probíhá syntéza PREG nezávisle na jeho periferních zdrojích (Baulieu 1998, převzato z cit. [3]). Enzym, který štěpí boční řetězec cholesterolu za vzniku PREG (P450scc), je lokalizován v mitochondriích a u dospělých laboratorních potkanů se nachází především v myelinizovaných částech mozku (Le Goascogne et al. 1987, převzato z cit. [3]). Tvorba PREG i dalších neurosteroidů z cholesterolu byla prokázána u oligodendrocytů a astrocytů (Kabbadj et al. 1993, převzato z cit. [3]). V oligodendrocytech je PREG metabolizován na dehydroepiandrosteron (DHEA), PROG a 21-OH-pregnenolon, které mohou být dále konjugovány. Výsledky různých studií dokazují, že syntéza neurosteroidů probíhá de novo také v Purkyňových buňkách mozečku, pyramidových a granulárních buňkách hippokampu, sensorických neuronech dorzálních míšních ganglií a v motoneuronech (Usui et al. 1995, Compagnone a Mellon 1998, Tsutsui a Ukena 1999, převzato z cit. [3]).

Enzymy zahrnuté do neurosteroidogeneze mohou být rozděleny do dvou skupin: skupina cytochromů P450 a skupina non-P450. Obě skupiny enzymů mohou být buď mitochondriální nebo mikrosomální.

Cytochromy P450 jsou oxidasy, které fungují všechny stejným způsobem. Ačkoli jsou definovány jako monooxygenasy vážící hem, jsou schopné katalyzovat oxidativní konverzi mnoha steroidů, lipidů a různých xenobiotik. Charakteristickým znakem těchto enzymů je limitovaný počet specifických steroidních substrátů. Redukují atmosférický kyslík elektrony z NADPH. Tento děj vyžaduje působení specifických kofaktorů, adrenodoxin reduktasu a adrenodoxin pro mitochondriální P450 enzymy a P450 reduktasu a b5 pro mikrosomální enzym P450.

Syntéza neurosteroidů pravděpodobně pokračuje některými podobnými a některými odlišnými cestami než jsou přítomny v nadledvinách, gonádách a placentě. Mozek obsahuje dodatečné množství příslušných enzymů, včetně sulfottransferas a

sulfohydrolas, které konvertují klasické steroidní hormony na různé neuroaktivní sloučeniny.[5]

2. SYNTÉZA A METABOLISMUS DHEA

2.1 Enzymy účastníci se syntézy DHEA

2.1.1 Cytochrom P450 scc (side-chain cleavage)

Prvním a rychlost limitujícím krokem v syntéze steroidních hormonů je konverze cholesterolu na PREG. Tato reakce je katalyzována enzymem cytochrom P450scc. Enzym působí ve třech postupných chemických krocích: 20 α -hydroxylace, 22-hydroxylace a štěpení uhlíkových vazeb c20-c22 cholesterolu (Mellon 1994, Mellon 1993, převzato z cit. [5]).

P450scc je jedním z nejpomalejších známých enzymů s V_{max} 1 mol cholesterolu /mol enzymu/s. Nejpomalejší částí této reakce je pravděpodobně samotný vstup cholesterolu do mitochondrie a jeho vazba na aktivní místo P450scc. [5]

Vstup cholesterolu do vnitřní mitochondriální membrány, kde je enzym P450scc lokalizován, zajišťují dva transportní proteiny. Jedná se o TSPO (Papadopoulos et al. 2006, převzato z cit. [4]) a StAR (Lavague et al. 2006, převzato z cit. [4]). Exprese TSPO probíhá v nervovém systému, především v gliových buňkách CNS a PNS. Jeho exprese je indukována traumatem a různými neuropatologickými stavy. Indukce exprese TSPO po poranění je v CNS omezena na mikroglie a astrocyty (Kassiou et al. 2005, převzato z cit. [4]). Enzym StAR je distribuován v celém mozku, ale místně s různou úrovní této exprese (Sierra et al. 2003, převzato z cit. [4]).

Lidský P450scc je kódován genem CYP11A1 na chromosomu 15 (Chung et al. 1986, převzato z cit. [6]). Kromě hlavního zdroje produkce steroidů, nadledvin a gonád, je P450scc mRNA a enzym sám přítomen i v placentě, primitivním střevu a v mozku (Simpson a MacDonald 1981, Keeney et al. 1995, Mellon a Deschepper 1993, převzato z cit. [6]). Hlavní rolí P450scc v mozku je pravděpodobně regulace hladiny neurosteroidů (Warner a Gustafsson 1995, převzato z cit. [6]).

Exprese CYP11A1 mRNA byla zjištěna ve tkáňových vzorcích temporálního a frontálního neocortexu, subkortikální bílé hmoty temporálního laloku a v hippocampu dětí a dospělých (Watzka et al. 1999, Beyenburg 1999, převzato z cit. [6]). U lidí se koncentrace CYP11A1 mRNA v temporálním laloku postupně zvyšuje během dětství, úrovně dospělých pak dosahuje v pubertě (Watzka et al. 1999, převzato z cit. [6]). Ve

srovnání s muži mají ženy koncentrace CYP11A1 v temporálním, frontálním neocortexu a v hippocampu značně vyšší. (Watzka et al. 1999, Beyenburg 1999, převzato z cit. [6]). Tyto údaje ukazují, že míra exprese CYP11A1 mRNA v lidském mozku je závislá na věku a pohlaví.

Přítomnost CYP11A1 mRNA v mozku dokazuje, že PREG může být syntetizován v CNS. [6]

2.1.2 Cytochrom P450c17

Enzym P450c17 zprostředkuje čtyři různé reakce. Přeměňuje PREG a PROG na 17 α -hydroxypregnenolon a 17 α -hydroxyprogesteron (17 α -hydroxylace). Vzniklé steroidy mohou dále podstoupit štěpení uhlíkové vazby c17,20 za vzniku DHEA a androstendionu. Enzym je tedy zodpovědný za konverzi C₂₁ steroidů (PREG, PROG) na C₁₉ steroidy (DHEA, androstendion).

P450c17 je navázán na hladkém endoplazmatickém retikulu a přijímá elektrony z P450 reductasy. Protože má P450c17 jak 17 α -hydroxylasovou tak 17,20-lyasovou aktivitu, katalyzuje klíčový rozvětovací bod steroidogeneze. V lidských nadledvinách směřuje místní exprese P450c17 steroidogenezi buď k produkci mineralokortikoidů a glukokortikoidů, nebo pohlavních steroidů. V oblasti *zona glomerulosa* nedochází k expresi P450c17 a PREG je metabolizován na mineralokortikoidy. V oblasti *zona fasciculata* k expresi P450c17 dochází, ale má hlavně 17 α -hydroxylasovou aktivitu, což způsobuje přeměnu PREG na glukokortikoidy. V oblasti *zona reticularis* má P450c17 jak 17 α -hydroxylasovou tak 17,20-lyasovou aktivitu, což vede k přeměně PREG na pohlavní steroidy.

Je mnoho faktorů, které podmiňují to, zda steroidy, které byly 17 α -hydroxylovány podlehnou i 17,20 štěpení. Mezi ně patří přítomnost kofaktorů a potenciální kompetice o substrát mezi P450c17 a 3 β -HSD. V lidských nadledvinách je 3 β -HSD aktivita nízká v zoně reticularis a vysoká v oblasti zona fasciculata (Coulter et al. 1996, Endoh et al. 1996, Voutilainen et al. 1991, převzato z cit. [5]). Navíc se zdá, že v nadledvinách existuje gradient exprese kofaktoru b5, s nejvyšší koncentrací v zoně reticularis. Tyto skutečnosti ukazují, že v této oblasti bude mít P450c17 vysokou lyasovou aktivitu (Yanase et al. 1998, převzato z cit. [5]).

17 α -hydroxylace nastává mnohem ochotněji než 17,20-lyasová reakce. P450c17 preferuje zejména pro 17,20 štěpení Δ^5 substráty, což vysvětluje vysokou koncentraci DHEA v nadledvinách.

Gen kódující P450c17 je lokalizován na chromozomu 10 (Matteson et al. 1986, převzato z cit. [5]). [5]

2.1.3 Cytochrom b5

Cytochrom b5 je malý, hem obsahující protein, který dodává elektrony mnoha cytochromům P450 katalyzujícím reakce v játrech a také pro redukci methemoglobinu v erythrocytech. Vyskytuje se v rozpustné formě, nutné pro jeho funkci v erythrocytech a jako mikrosomální donor elektronů hraje roli kofaktoru mikrosomálních enzymů P450. Má zásadní význam v biosyntéze DHEA, protože může ovládat 17,20-lyasovou aktivitu P450c17 (Kominami et al. 1992, Onoda a Hall 1982, převzato z cit. [5]). Bylo zjištěno, že cytochrom b5 specificky zvyšuje 17,20-lyasovou aktivitu P450c17 in vitro a že toto zvýšení aktivity je způsobeno allosterickou modulací enzymu P450c17 (Auchus et al. 1988, převzato z cit. [5]). Tyto skutečnosti naznačují, že exprese b5 může být mechanismem, kterým je ve specifických oblastech mozku regulována c17,20-lyasová aktivita a tedy i produkce DHEA. Zjistilo se také, že exprese cytochromu b5 v lidských nadledvinách je specifická pro každou zónu, nejvyšší je v zóně reticularis (Yanase et al. 1998, převzato z cit. [5]). Tyto rozdíly v expresi mohou vysvětlovat zonově specifickou syntézu kortikoidů. Deficit cytochromu b5 je spojován s rozvojem dvou odlišných typů onemocnění. U *typu I* je symptomem cyanosa, v erythrocytech se nachází defektní rozpustná forma enzymu b5. U *typu II* je cyanosa spojená s rozvojem mentální retardace a dalších neurologických poškození. Defekt zahrnuje jak rozpustnou isoformu enzymu, tak isoformu vázanou na membrány (Manabe et al. 1996, Vieira et al. 1995, převzato z cit. [5]) [5]

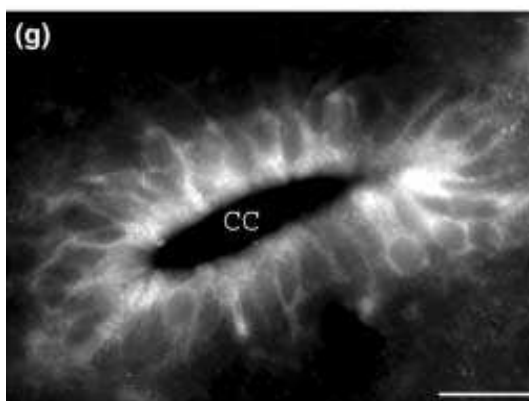
2.2 Lokalizace enzymů účastnících se syntézy DHEA v CNS

2.2.1 P450scc

Prvním místem, kde byla imunohistochemicky prokázána přítomnost cytochromu P450scc, se stala bílá hmota krysího mozku. Hu et al. (1987, převzato z cit. 7) zjistili, že mitochondrie oligodendrocytů konvertují cholesterol na pregnenolon. Také Purkyňovy buňky mozečku obsahují P450scc. V Purkyňových buňkách probíhá exprese StAR (Furukawa et al. 1998, převzato z cit. [7]). Ten je nutný pro transport cholesterolu přes vnitřní mitochondriální membránu, ve které je P450scc lokalizován. Hraje tedy klíčovou roli v biosyntéze neurosteroidů. [7] Dle výzkumu [8] jsou P450scc imunoreaktivní buňky lokalizovány v gangliích zadních míšních kořenů, zadních rozích páteřní míchy, nociceptivních supraspinálních jádrech a v somatosenzorickém cortexu. Tyto výsledky naznačují, že neurosteroidy se mohou účastnit kontrolních mechanismů bolesti.

V oblasti zadních míšních kořenů byly P450scc imunoreaktivní buňky detekovány v unipolárních buňkách izolovaných z krční, hrudní, bederní i křížové oblasti. Transverzální řez krční oblastí míchy odhalil P450scc pozitivní ependymové gliové buňky obklopující canalis centralis. [8]

Tato skutečnost naznačuje, že neurosteroidy by mohly být uvolněny do cerebrospinální tekutiny a tím zlepšovat své neurofyziologické působení ovlivněním volumického přenosu (Fuxe a Agnati 1992, převzato z cit. [8]).



obr. 2: P450scc pozitivní buňky obklopující canalis centralis páteřní míchy (CC) [8]

2.2.2 P450c17

O tomto enzymu, který zodpovídá za konverzi PREG na DHEA zatím existuje o něco méně informací. PREG podstupuje 17 α -hydroxylaci a rozštěpené vazby c17, 20 za vzniku DHEA. U lidí probíhá exprese genu pro P450c17 v nadledvinách a gonádách (Chung et al. 1987, Di Blasio et al. 1987, Greco a Payne 1994, převzato z cit. [4]). Pokusy o důkaz přítomnosti a bioaktivity P450c17 v mozku byly dlouho neúspěšné (Baulieu et al. 1999, převzato z cit. [4]). Nakonec byla exprese mRNA kodující P450c17 dokázána v mozečku a mozkovém kmeni dospělých krys (Stromstedt a Waterman 1995, Kohchi et al. 1998, převzato z cit. [4]). Značné množství P450c17mRNA bylo prokázáno ve všech oblastech spinální míchy. Enzym P450c17 byl pomocí antiséra lokalizován v bílé i šedé hmotě spinální míchy. Jednalo se především o astrocyty a oligodendrocyty, dále pak neurony předních a zadních míšních rohů. Přítomnost P450c17 jak v předních tak v zadních rozích spinální míchy ukazuje na možnost zapojení do motorických a senzorických funkcí (Kibaly et al. 2005, převzato z cit. [4]).

Existují však i doklady, že v CNS hlodavců probíhá exprese P450c17 jen během vývoje, zatímco v PNS se udržuje během celého života. V buňkách CNS dospělých zvířat P450c17 mRNA ani protein samotný nalezen nebyl. Proto existuje domněnka, že DHEA je do spinální míchy a mozku dodáván pomocí periferních nervů a terminálních zakončení, u kterých je exprese P450c17 zachována a DHEA tedy mohou syntetizovat. Existuje sice ještě alternativní cesta syntézy DHEA v mozku, která zahrnuje Fe²⁺ sensitivní chemickou reakci nezávislou na P450 enzymech, ale je nepravděpodobné že bude probíhat *in vivo*. Koncentrace Fe²⁺ nutná k indukci syntézy DHEA totiž dalece přesahuje fyziologické rozmezí. [5]

2.3 Další přeměny DHEA

Syntéza DHEA není konečným stadiem metabolismu tohoto neurosteroidu, pomocí několika enzymů se může dále konvertovat jak na androgeny, tak na estrogeny. (viz obr. 1)

2.3.1 3 β -HSD

Tento enzym zajišťuje 3 β -dehydrogenaci a izomerizaci Δ 5-steroidů na Δ 4-steroidy (izomerizace dvojné vazby z pozice C 5,6 B kruhu na pozici C4,5 v A kruhu) (Lorraine et al. 1990, Luu et al. 1989, Thomas et al. 1989, převzato z cit. [5]). U lidí existují minimálně 2 formy 3 β -HSD. Exprese **typu I** probíhá v placentě, pokožce, prsní žláze a dalších tkáních včetně mozku. Exprese **typu II** probíhá v nadledvinách a gonádách. Enzym může fungovat jako dehydrogenasa/isomerasa nebo jako 3-ketosteroid reduktasa. 3 β -HSD zajišťuje přeměnu DHEA na androstendion a přeměnu androstendiolu na testosteron. Exprese tohoto enzymu v mozku byla zkoumána jak u krys tak u žab, ovšem s protichůdnými výsledky. Rozdílné výsledky různých laboratoří souvisí pravděpodobně se specifikou použitých protilátek k subtypu daného enzymu a se senzitivitou použitých metod. Každopádně zprávy o 3 β -HSD aktivitě nesouhlasí s expresí 3 β -HSD proteinu. Existují zprávy o vysoké 3 β -HSD aktivitě v amygdale a hippocampu krys, ale 3 β -HSD mRNA byla detekována jen v hippocampu. [5]

2.3.2 17 β -HSD (17-ketosteroid reduktasa)

V nadledvinách probíhá konverze DHEA na androstendiol a konverze androstendionu na testosteron, obě zajišťuje enzym 17-ketosteroid reduktasa. Ve vaječnících je estron přeměňován na E₂ podobným mechanismem. Všechny tyto reakce jsou reversibilní, zajišťuje je stejný enzym, který se ale nazývá 17 β -HSD. Bylo naklonováno 5 typů enzymu 17 β -HSD. **Typ I** katalyzuje redukční konverzi estronu na E₂ i DHEA na androstendiol (Luu et al. 1989, Peltoketo et al. 1988, Tremblay et al. 1989, převzato z cit. [5]). **Typ II** zajišťuje přeměnu testosteronu na androstendion, androstendiolu na DHEA a E₂ na estron. **Typy III a V** jsou nazývány též „androgenní“, protože katalyzují přeměnu androstendionu na testosteron. **Typ IV** zajišťuje oxidativní konverzi E₂ na estron (Adamski et al. 1996, Carstensen et al. 1996, Leenders et al. 1994, převzato z cit. [5]).

Co se týká exprese v mozku, existují pouze zprávy týkající se exprese 17 β -HSD typu I. Distribuce tohoto enzymu v mozku krys a žab souhlasí (Mensah-Nyagan et al. 1996, Pelletier et al. 1994, převzato z cit. [5]).

2.3.3 P450 aromatasa

P450 aromatasa zajišťuje konverzi androgenů na estrogenery (androstendion na estron a testosteron na E_2). Konverze probíhá dvojitou hydroxylací na c19 metylu a třetí hydroxylací na c2. Všechny tři reakce probíhají na jednom aktivním místě enzymu. Pro reakci je nutný NADPH jako donor elektronů. [5]

Vyskytuje se v různých tkáních včetně placenty, vaječníků, varlat a adipocytů (Fournet-Delguero et al. 1987, Lephart et al. 1995, Valladares a Payne 1979, Simpson et al. 1989, převzato z cit. [4]). Na subcelulární úrovni se nalézají v endoplazmatickém retikulu. V mozku krys je aromatasová aktivita omezena na pouze na určité oblasti. U lidí obsahuje hlavní transkript v hypothalamické area preoptica a amygdale exon I-f, označovaný jako „brain specific exon I“ (Honda et al. 1994, převzato z cit. [5]). Imunocytochemické studie ukázaly, že exprese P450 aromatasy probíhá v neuronech, ale ne v gliových buňkách (Lephart 1996, převzato z cit. [4]). U savců, obzvláště u hlodavců, byly zjištěny neshody mezi lokalizací P450 pozitivních neuronů a distribucí enzymatické aktivity v CNS. [4]

Je možné, že estrogenery a androgeny mohou spolupůsobit v kontrole exprese aromatasového genu v CNS, protože estrogenery stimuluji expresi androgenního receptoru (AR) a prodlužují obsazení AR receptorů v mozku krys (Roselli a Fasasi 1992, převzato z cit. [4]). Exprese aromatasy byla prokázána u lidí v temporálním cortexu. Skutečnost, že potenciální modulátory aromatasového genu jsou v mozkové kůře velmi rozšířeny, stejně jako široká distribuce P450 aromatasového proteinu ve specifických neuronálních a gliových populacích naznačuje, že lokální vznik estrogenů může hrát důležitou roli v korových funkcích u lidí (Yague et al. 2006, převzato z cit. [4]).

3. RECEPTORY CENTRÁLNÍHO NERVOVÉHO SYSTÉMU A DHEA

Žádný specifický receptor pouze pro DHEA nebyl dodnes identifikován.

3.1 Inhibiční receptory

Hlavním inhibičním neuropřenašečem v CNS je kyselina γ -aminomáselná (GABA), která aktivuje iontové kanály propouštějící chloridové ionty.

3.1.1 Ionotropní GABA receptory

Aktivace receptorů umožňuje vstup chloridových iontů do neuronu, čímž vzniká hyperpolarizace membrány a obecně se tak snižuje excitabilita. [2] Na základě farmakologických vlastností a podjednotkového složení dělíme GABA receptory do dvou základních skupin: GABA_A a GABA_C receptory (Bormann 2000, převzato z cit. [3]). Jsou to pentametry tvořené kombinací podjednotek osmi známých tříd (α , β , γ , δ , ϵ , θ , π a ρ) s různým počtem izoform (Moss a Smart 2001, převzato z cit. [3]).

Některé neurosteroidy jsou zapojeny do dynamické modulace funkce GABA_A receptorů. Odpověď GABA_A receptorů např. snižuje pregnenolon sulfát (Gee et al. 1988, Majewska 1992, převzato z cit. [3]). Shen et al. (2000, převzato z cit. [3]) zjistili, že v hippocampálních neuronech potkanů snižuje pregnenolon sulfát maximální odpovědi vzniklé aktivací GABA_A receptorů, urychluje jejich deaktivaci a desenzitizaci.

Naopak například allopregnanolon potencuje odpovědi vzniklé aktivací GABA_A receptorů a zvyšuje účinnost inhibičního synaptického přenosu v různých oblastech mozku (Lambert et al. 1995, převzato z cit. [3]).

Skutečnost, že inhibice vyvolaná např. pregnenolon sulfátem (PREG(S)) je nezávislá na současné aplikaci potencujících neurosteroidů ukazuje, že na GABA_A receptorech existují nejméně dvě různá vazebná místa pro neurosteroidy (Park-Chung et al. 1999, převzato z cit. [3]).

DHEA působí na GABA_A receptoru jako antagonist.

3.1.2 Glycinový receptor

Na tento receptor má inhibiční účinek PROG, PREG(S), deoxykortikosteron a kortikosteron. PROG se váže na odlišné vazebné místo než glycin. Naopak allopregnanolon sulfát je na tomto receptoru neúčinný (Wu et al. 1990, Wu et al. 1997, Belelli et al. 1999, převzato z cit. [3]).

3.2 Excitační receptory

Na neurony CNS působí excitačně glutamát. Účinek je zprostředkován pomocí aktivace tří typů ionotropních glutamátových receptorů. Existuje domněnka, že glutamátové receptory uložené v synaptické a mimosynaptické oblasti jsou různě citlivé k vlivu neurosteroidů

3.2.1 Kainátové receptory

Jsou selektivně aktivovány kainátem a tvořeny podjednotkami GluR5-GluR7, KA1 a KA2. (Hollmann a Heinemann 1994, převzato z cit. [3]). Byla u nich nalezena pouze negativní modulace neurosteroidy.

3.2.2 AMPA receptory

Jsou selektivně aktivovány α -amino-3-hydroxy-5-metyl-4-izoxazolpropionátem. Tvoří je pravděpodobně tetrametry tvořené podjednotkami GluR1-GluR4. (Hollmann a Heinemann 1994, převzato z cit. [3]). PREG(S) inhibuje odpovědi vyvolané aktivací těchto receptorů. Byla u nich nalezena pouze negativní modulace neurosteroidy. [3]

3.2.3 NMDA receptory

Jsou selektivně aktivovány N-metyl-D-aspartátem. Neurosteroidy modulují tyto receptory jak pozitivně tak negativně. Modulace je zprostředkována specifickými vazebnými místy. Ta jsou odlišná jak vzájemně, tak od ostatních modulačních míst pro spermin, glycin, Mg^{2+} a kys. arachidonovou (Park-Chung et al. 1997, převzato z cit. [3]). Receptory jsou heteromultimerní proteinové komplexy, jejichž vlastnosti jsou ovlivněny podjednotkovým složením. Receptor je tvořen kombinací podjednotek NR1, NR2A-D a NR3A (Turecek a Vyklicky 1997, Dingledine et al. 1999, převzato z cit. [3]).

Četné studie ukazují, že selektivní modulace NMDA odpovědi neuroaktivními steroidy je zprostředkována sigma receptory (vazebnými místy, viz 3.3). Zjistilo se

totiž, že potenciace indukovaná DHEA je potlačena haloperidolem, ale ne spiperonem. Spiperon má vysokou afinitu k dopaminergním, serotoninovým a α -adrenergním receptorům stejně jako haloperidol (Burt et al. 1977, Clark et al. 1985, převzato z cit. [9]), ale má nízkou afinitu k sigma vazebným místům (Su 1982, Tam a Cook 1984, Steinfels et al. 1989 převzato z cit. [9]). Intravenozní dodání 100 μ g/kg DHEA má za následek dvojnásobné zvýšení odpovědi dorsálních hippocampálních pyramidových neuronů na aplikaci NMDA. Efekt je závislý na dávce, při zvyšování dávky nad 500 μ g/kg už žádné zvyšování neprobíhá. Efekt DHEA trvá nejméně po dobu 40 minut. Tento agonistický účinek DHEA je zprostředkován sigma-1 receptory. [9]

3.3 Sigma receptory

Sigma receptor představuje unikátní vazebné místo v mozku a v periferních orgánech savců. Je odlišné od všech ostatních transmitterových receptorů. Poprvé byl identifikován v roce 1976 (Martin et al., převzato z cit. [10]) jako jeden ze subtypů opioidních receptorů. Následné studie ukázaly, že je rezistentní k blokádě klasickými antagonisty opioidních receptorů (Vaupel 1983, převzato z cit. [10]). Jedná se tedy o neopiodní sigma-vazebné místo.

Na základě farmakologických studií byly definovány dvě podtřídy těchto receptorů: **sigma-1** a **sigma-2** receptory (Quirion et al. 1992, převzato z cit. [10]). Zdá se, že sigma-1 receptory v mozku a v periferní tkáni jsou identické. V periferních orgánech je sigma-1 protein distribuován ve velké míře, zahrnuje například srdce, plíce, ledviny, játra a pohlavní žlázy. V mozku probíhá exprese sigma-1 receptorů v neuronech, oligodendrocytech a Schwannových buňkách (Alonso et al. 2000, Palacios et al. 2004, Palacios et al. 2003, Hayashi a Su 2004, převzato z cit. [10]). Na subcelulární úrovni se sigma-1 receptor většinou vyskytuje v perikaryu neuronů a v dendritech (Phan et al. 2003, Alonso et al. 2000, převzato z cit. [10]).

Aktivace sigma-1 receptorů má za následek mobilizaci intracelulárního kalcia. Dojde k depleci zásob intracelulárního Ca^{2+} z endoplazmatického retikula. Na úrovni plazmatické membrány dojde k influxu extracelulárního Ca^{2+} napěťově řízenými kalciovými kanály (Hayashi et al. 2000, převzato z cit. [10]).

DHEA působí na sigma-1 receptory stimulačně.

3.4 MAP-2

Neuritové výběžky neuronů obsahují mikrotubuly. Ty mají důležitou úlohu při růstu a výživě neuritu během neuronální diferenciaci. Mikrotubuly jsou složeny z tubulinu a několika asociovaných proteinů MAP (= microtubule associated protein). MAP mají v neuronech důležitou úlohu. Regulují utváření mikrotubulové sítě, určují tvar neuronu a zabezpečují rovnováhu mezi rigiditou a plasticitou neuronálních procesů (Matus 1988, Tucker 1990, převzato z cit. [2]). Můžeme je rozdělit do třech skupin: MAP1, MAP2 a Tau rodina, přičemž exprese MAP2 probíhá v neuronech, kde je omezena na dendrity.

DHEA selektivně prodlužuje délku neuritu, který obsahuje dendritický marker MAP2. Naopak DHEA prodlužuje délku neuritu, který obsahuje axonální marker Tau. [2]

Kromě receptorů v CNS se DHEA nebo jeho metabolity vážou i na receptory na periférii, jedná se o tzv. „orphanové“ receptory : PPAR, PXR, ER a IGFB-1

3.5 AR a ER

Tyto receptory patří mezi skupinu jaderných receptorů. ER receptor je lokalizován jak v buněčné membráně a v mitochondrii, tak v jádře [12]. DHEA působí na receptor ER β jako agonista, na AR receptory jako antagonist. Na androgenních receptorech vykázal DHEA ve studii [11] malou až nulovou transkripční aktivitu i když se jeho dávkování postupně zvyšovalo z nanomolárního na mikromolární koncentrace. V téže práci bylo zjištěno, že DHEA se váže s oběma isoformami ER, ale při vazbě jasně preferuje ER β . Aktivace ER α probíhá až při zvýšení dávky z 2 μ M na 5 μ M, přičemž dosažený účinek je pouze třetinový oproti aktivitě vyvolané na ER β stejnou dávkou. DHEA tedy působí jako pohlavní hormon se specifitou k ER β receptoru, přičemž jeho aktivita odpovídá maximu nebo je dokonce vyšší než aktivita vyvolaná E₂. DHEAS není tak dobrý aktivátor obou ERs. [11, 12]

3.6 PPAR α (peroxisome activated receptor α)

Bylo zjištěno, že hlodavci krmení 0,45% DHEA vykazují zřetelné změny v isoformách cytochromů P450 v játrech, přičemž některé z nich jsou spojeny s proliferací peroxisomů. Tento účinek vyžaduje aktivaci PPAR α , ale DHEA tyto receptory ligandovou vazbou neaktivuje. Studie s primárními kulturami hepatocytů krys ukázala, že DHEA a některé jeho oxidativní metabolity aktivují FACO (fatty acyl-CoA oxidase) a P4504A mRNA (zapojen v metabolismu kys. laurové) a hladinu proteinů během prvních 2-3 dnů přítomnosti v kultuře. Dosud nezjištěnou otázkou zůstává, jak DHEA a jeho metabolity aktivují PPAR α hepatocytů. [12]

3.7 PXR (pregnane X receptor)

Tento receptor vykazuje mezi lidmi a hlodavci zřetelné polymorfismy ligand vazající domény. Rozdíly spočívají v různé aminokyselinové sekvenci receptorového proteinu a proto existují značné druhově-specifické rozdíly v odpovědi na ligand (Jones et al. 2000, převzato z cit. [12]). PXR může být též aktivován DHEA a jeho metabolity. [12]

3.8 RBAEC (membrane receptor in bovine aortic endothelial cell) a RHUVEC (membrane receptor in human umbilical vein endothelial cell)

Jde o receptory DHEA lokalizované v membráně. Vazba DHEA k BAEC je saturabilní, specifická, s vysokou afinitou a je pravděpodobně inhibována mechanismem zahrnujícím G-spřažené proteiny. DHEA stimuluje syntézu NO na receptorech plazmatické membrány BAEC, syntéza je závislá na dávce a době působení. DHEA aktivuje endoteliální NO syntasu (eNOS) přímou fosforylací. ENOS může být aktivována ještě zvýšením cytosolového kalcia, ale samotný DHEA koncentraci cytosolového kalcia v BAEC neovlivňuje. Jako možný mechanismus proto zbývá právě přímá fosforylace. [12]

3.9 IGFBP-1 (insulin growth factor binding protein)

IGFBP-1 je syntetizován převážně v játrech a sekretován do cirkulace, kde se váže na IGF-1. Většina IGF-1 je v komplexu s IGFBP-3 a acidolabilním proteinem a nepřekračuje endoteliální bariéru. IGF-1 v tomto třídílném komplexu zůstává v cirkulaci. Naopak **komplex IGFBP-1/IGF-1** je zřejmě schopný endoteliální bariéru překročit. IGFBP-1 je tedy zodpovědný za lokální působení IGF-1 na celulární úrovni, reguluje jeho biologickou dostupnost.

Komplex IGF-1/IGFBP-1 hraje úlohu v glukosovém a lipidovém metabolismu, buněčné proliferaci a diferenciaci, apoptose a stárnutí.

DHEA reguluje expresi IGFBP-1 a tím následně i biologickou dostupnost IGF-1. To může vysvětlovat prospěšný efekt DHEA na diabetes, obezitu, aterosklerozu a rakovinu. [12]

4. RECEPTORY DHEA A JEJICH ÚLOHA VE FYZIOLOGICKÝCH A PATOLOGICKÝCH PROCESECH

Na základě předchozí kapitoly (3. Receptory centrálního nervového systému a DHEA) lze tedy říci, že zatím nebyl objeven specifický receptor pro DHEA, ale byla dokázána jeho vazba s PXR, PPAR α , ER, AR a dalšími receptory. V CNS se DHEA váže na GABA_A receptory, na kterých působí jako antagonist, dále na NMDA a sigma receptory, kde má naopak agonistický účinek (viz. kap. 3.). V odborném tisku existují domněnky, že DHEA by mohl hrát významnou úlohu v autoimunitních onemocněních, rakovině, kardiovaskulárním onemocnění, osteoporóze a psychických i neurodegenerativních poruchách. Z tohoto hlediska se jako velmi významné jeví zejména možné ovlivnění ERs, dále NMDA a GABA receptorů. Možnost praktického využití, výsledky různých studií a další rozvedení souvislostí je uvedeno v kap. 5.

4.1 Estrogenní receptory

V estrogenní signalizaci existuje dynamická rovnováha mezi receptory ER α a ER β .

4.1.1 ER a rakovina

4.1.1.1 Rakovina prsu

Rizikovým faktorem spojeným s rakovinou prsu je kumulativní vystavení prsního epitelu vlivu estrogenů (Henderson, Feigelson 2000 převzato z cit. [14]). Estrogeny po navázání na ER stimulují proliferaci prsních buněk, navyšují cílový počet buněk ve tkáni přičemž zvýšení buněčného dělení a syntézy DNA zvyšuje riziko replikačních chyb. Estrogeny mohou přispívat ke vzniku rakoviny i druhým možným mechanismem. Tím je vznik vedlejších genotoxických produktů během jejich metabolismu a v důsledku toho přímé poškození DNA a indukce bodových mutací (Yue et al. 2005 převzato z cit. [13]) .

Exprese ER α je spojena s diferencovanějšími tumory a příznivější prognózou, zatímco možná úloha ER β v progresi nádoru zůstává stále sporná. Ale existují náznaky, že se jedná též o příznivý prognostický indikátor (Herynk, Fuqua 2004, převzato z cit. [13])

4.1.1.2 Rakovina vaječníků

ER je přítomen přibližně u dvou třetin nádorů vaječníků u žen. Exprese ER α probíhá jak u tumorů epitelového původu, tak u tumorů původem ze stromatu, zatímco ER β je přítomen především u tumoru z granulárních buněk, v menším množství také v mucinózních tumorech epitelového původu (Chu et al. 2000, převzato z cit. [13]). Estrogen stimuluje proliferaci buněčné linie rakoviny vaječniku a normálních povrchových epitelálních buněk v kultuře (Syed et al. 2001, Nash et al. 1989, převzato z cit. [13]), jeho role ovšem ještě není plně objasněna. [13]

4.1.1.3 Rakovina tlustého střeva

Ve tkáni tlustého střeva se vyskytuje především ER β (Arai et al. 2000, Fiorelli et al. 1999, Foley et al. 2000, Qiu et al 2002, převzato z cit. [13]), přičemž v maligní tkáni je jeho úroveň nižší než ve zdravé. Ztráta ER β je spojena s pokročilejším stadiem rakoviny tlustého střeva a dediferenciací tumorových buněk. Tyto skutečnosti naznačují možnou protektivní úlohu ER β v tumorigenezi střeva (Foley et al. 2000, Jassam et al. 2005, Konstantinopoulos et al. 2003, Campbell-Thompson et al. 2001, převzato z cit. [13]). Podle klinických studií je u žen nižší incidence rakoviny střeva než u mužů (Jemal et al. 2004 převzato z cit. [13]). Také

postmenopauzální ženy užívající hormonální substituční terapii jsou tímto onemocněním postiženy méně (Rossouw et al. 2002, převzato z cit. [13]).

4.1.1.4 Rakovina prostaty

Důkazy spojující zvýšenou sérovou hladinu estrogenů nebo zvýšený poměr estrogeny/androgeny se zvýšeným rizikem rakoviny prostaty zůstávají otevřené (Bosland 2000, převzato z cit. [13]).

Přesto ovšem experimentální data u hlodavců prokazují, že prenatální/postnatální vystavení mláďat vlivu estrogenů, případně jejich dlouhodobé podávání, může mít vliv na vývoj a funkci prostaty. Může tak dojít k hyperplasii epitelu a k výraznému narušení fyziologické exprese steroidních receptorů (Harkonen, Makela 2004, převzato z cit. [13]).

V epitelu prostaty dospělých myší probíhá na vysoké úrovni exprese ER β , zatímco exprese ER α probíhá ve stromatu (Harkonen, Makela 2004, převzato z cit. [13]). Exprese ER β je v prostatickém tumoru redukována (Leav et al. 2001, Horvath et al. 2001, převzato z cit. [13]). Nízká hladina estrogenů vede k hyperplasii prostatického epitelu, ER β potlačuje proliferaci a usnadňuje diferenciaci prostatického epitelu. ER β -selektivní agonisté tedy mohou posunout tumor na diferencovanější úroveň a tím tedy na méně maligní chování a zlepšit tak celkovou prognózu. [14]

4.1.1.5 Rakovina endometria

Přibližně 70-80% endometriálních karcinomů se řadí ke karcinomovému typu I a jsou spojeny s hyperplasií endometria, hyperestrogenismem a s expresí ER (Lax 2004, převzato z cit. [13]). Tento typ karcinomu vzniká následkem dlouhodobého vlivu estrogenů bez dostatečného tlumení progesteronem (*unopposed estrogen hypothesis, hypotéza „nevyváženosti“ estrogenů*) (Grady et al. 1995, převzato z cit. [13]). To může nastat vlivem obezity, tumoru vaječnicků sekretujícího estrogen a estrogenové terapie. [13]

4.1.2 ER a osteoporóza

Osteoporóza je spojena s deficitem estrogenů. Estrogeny inhibují kostní obrat redukcí osteoklasty zprostředkované kostní resorpce a zvýšením osteoblasty

zprostředkované kostní formace (Rossouw et al. 2002, převzato z cit. [13]). ER α a ER β byly detekovány v osteoblastech (Wu et al. 2005, Gennari et al. 2005, Smith et al. 1994, Herrman et al. 2002, převzato z cit. [13]), osteoklastech (Batra et al. 2003, Braidman et al. 2001, Bord et al. 2001, převzato z cit. [13]) a buňkách kostní dřevě (Bord et al. 2000, převzato z cit. [13]). ER α pravděpodobně zprostředkuje estrogены stimulo vanou kostní formaci, zatímco role ER β v kostech je méně jasná.

4.1.3 Neurodegenerativní onemocnění

4.1.3.1 Mozková mrtvice

Premenopauzální ženy vykazují nižší riziko mozkové mrtvice v porovnání s muži. Experimentální data naznačují, že faktorem chránícím proti mozkové mrtvici mohou být estrogény. Významnou roli hraje zejména ER α , ale protektivní účinek estrogenů pravděpodobně zahrnuje jak na ER-dependentní tak na ER nezávislé mechanismy. [13]

4.1.3.2 Parkinsonova nemoc

Při Parkinsonově nemoci dochází k degeneraci dopamin-syntetizujících neuronů v oblasti substantia nigra, což vede ke snížení hladiny dopaminu ve striatu (končí zde axony dopamin-syntetizujících neuronů) (Saunders-Pullman 2003, převzato z cit. [13]). Vlastní příčina smrti buněk zůstává neznámá, ale nemoc má vyšší prevalenci u mužů než u žen (v poměru 3:2 (Bower et al. 2000, Diamond et al. 1990, převzato z cit. [14])). Experimentální studie navíc naznačují, že estrogény mohou ovlivnit počátek a závažnost symptomů spojených s Parkinsonovou nemocí (Dluzen, McDermott, 2000, převzato z cit. [14]). Klinicky ovšem vztah mezi estrogény a touto nemocí zůstává sporný. Existují studie vykazující pozitivní vliv estrogenové léčby na Parkinsonovu nemoc, ale i vliv nulový či dokonce negativní (Saunders-Pullman 2003, převzato z cit. [13]). Estrogény mohou inhibovat dopaminergní degeneraci různými mechanismy, včetně redukce apoptózy, regulací neurotrofického růstového faktoru, redukcí zánětu, regulací hladiny NO v mozkových cévách a ochrany proti poškození oxidativním stresem (Amantea et al. 2005, Shulman 2002 převzato z cit. [13]). Studie na buněčných kulturách ukázaly, že některé z těchto efektů zprostředkují ER (Ravizza et al. 2002, Mitra et al. 2003, Laflamme et al. 1998

převzato z cit. [13]). Hlavním estrogenním receptorem v oblasti substantia nigra je ER β (Mitra et al. 2003, Ravizza et al. 2002 převzato z cit. [14]).

4.1.3.3 Alzheimerova nemoc

U této nemoci dochází ke ztrátě paměti a dalších kognitivních schopností. Histopatologicky je tato nemoc charakterizována přítomností neurofibrilárních smotků a neuritických plaků jejichž většinou složku tvoří hyperfosforylovaný tau protein a β -amyloidový protein. (Pinkerton, Henderson 2005 převzato z cit. [13]). Akumulace těchto proteinů zřejmě způsobuje neuronální smrt. E₂ redukuje buněčnou smrt indukovanou β -amyloidem v cholinergní buněčné linii, tento mechanismus pravděpodobně zprostředkují ER (Marin et al. 2003 převzato z cit. [13]). Je ovšem nutný další výzkum vlivu estrogenů na Alzheimerovu nemoc. [13]

4.1.4 Kardiovaskulární onemocnění

Redukovaná úroveň ER α je spojována s rozvojem onemocnění koronárních arterií u žen. Ve vzorcích koronárních arterií pre- a postmenopauzálních žen byla exprese ER α zjištěna ve většině normálních arterií, kdežto v arteriích žen s onemocněním koronárních arterií byl tento receptor přítomen v minimu případů (Losodo et al. 1994, převzato z cit. [13]). Data získaná od zvířecích modelů a z klinických studií naznačují možnou protektivní roli estrogenů v regulaci hladiny lipidů a cholesterolu, přímý efekt na vaskulární buňky a regeneraci vaskulárního poranění. ER α u myši zprostředkovává estrogení regulaci sérové koncentrace lipidů a cholesterolu (Ohlson et al. 2000 převzato z cit. [13]). Naproti tomu ER β receptory podle zjištění na zvířecích modelech zeslabují rozvoj chronického srdečního selhání. [13]

4.1.5 Autoimunní nemoci

Autoimunní onemocnění postihují v první řadě ženy a to přibližně desetkrát častěji než muže (Beeson 1994 převzato z cit. [14]). Jedná se zejména o Sjögrenův syndrom, systémový lupus erythematosus (SLE) a rheumatoidní artritidu. Tato skutečnost vedla ke zkoumání možného vlivu E₂ na autoimunitní onemocnění. Především kvůli tomu, že E₂ má na imunitní systém protichůdné účinky, jeho přesná

role není dosud objasněna. Konečný efekt E_2 záleží na rovnováze mezi $ER\alpha$ a $ER\beta$ receptory v různých buňkách imunitního systému (Shim et al. 2003 převzato z cit [14]).

4.1.6 Chronická myeloidní leukémie

Bylo zjištěno, že inaktivace $Er\beta$ genu vede u myši k rozvoji syndromu podobnému chronické myeloidní leukémii (Shim et al. 2003 převzato z cit [14]). $ER\beta$ má tedy pravděpodobně roli v regulaci diferenciaci pluripotentních a progenitorových hematopoetických buněk [14]

4.2 NMDA receptory

4.2.1 Alzheimerova nemoc

V patologii Alzheimerovy nemoci (AD) hraje určitou roli oxidativní stres. V mozkové tkáni dochází k akumulaci $A\beta$ -oligomerů (ADDLs), které přímo souvisí s patogenezi nemoci. ADDLs stimulují nadměrnou tvorbu reaktivních forem kyslíku (ROS) mechanismem závislým na aktivaci NMDA receptorů (NMDARs). Vazba ADDLs k neuronům a tvorba ROS jsou zablokovány protilátkou proti extracelulární doméně NR1 podjednotky NMDA receptoru. Vazba ADDLs na NMDA receptory nebo v jejich těsné blízkosti iniciuje neuronální poškození pomocí vstupu Ca^{2+} závislým na NMDA receptorech. ROS jsou menšinové cytotoxické produkty normálního metabolismu mitochondrií. Nerovnováha mezi mitochondriální produkcí ROS a intracelulární úrovní antioxidační obrany vede k oxidačnímu stresu, který kromě jiného podmiňuje i neurodegenerativní nemoci (Multhaup et al. 1997, Nicholls, Bud 2000, Giasson et al. 2002, Soucek et al. 2003, Glaser et al. 2005 převzato z cit. [15]). Proč se během věku zvyšuje hladina ROS je nejisté, ale nadměrná stimulace NMDARs může vést k nadměrné tvorbě ROS, pravděpodobně v důsledku dysfunkce mitochondrií související s Ca^{2+} (Duchen 2004, převzato z cit. [15]). Přímý vztah mezi ADDLs a neuronálním oxidativním stresem ovšem ještě nebyl dokázán. Za fyziologických podmínek je produkce ROS na nízké úrovni, vzniká redukcí kyslíku v mitochondriálním dýchacím řetězci (Boveris a Chance 1973 převzato z cit. [15]). Dysregulace funkce NMDARs indukovaná vazbou ADDL k neuronálním synapsím

může vést k dysfunkci synaptických mitochondrií a tím k nadměrné tvorbě ROS. Ačkoliv pravděpodobně existuje více typů ADDL receptorů, NMDARs zřejmě hrají klíčovou roli v neuronálním poškození podníceném ADDL. [15]

Kromě oxidačního stresu mají NMDARs zřejmě roli i v ovlivnění hustoty synapsí, jejichž ztráta provází AD. Fyziologické koncentrace přirozeně sekretovaných A β dimerů a trimerů (ale netýká se to monomerů) indukují progresivní ztrátu hippocampálních synapsí. A β oligomery mohou aktivovat ztrátu dendritických trnů částečnou inhibicí NMDARs. Ztrátu dendritických trnů provází snížení počtu excitačních synapsí. A β oligomery dále způsobují redukci toku Ca²⁺ do trnových hlav zprostředkovanou NMDARs. Dlouhodobá aktivace signální kaskády NMDARs způsobená A β oligomery může tak přispívat k patogenezi onemocnění a podmiňovat ztrátu synapsí v hippocampální oblasti. [16]

4.2.2 Epilepsie

NMDARs zřejmě ovlivňují smrt neuronů během status epilepticus. Jde o dlouhotrvající záchvatovitý stav, definovaný podle ILAE (International League Against Epilepsy) jako nepřetržitá záchvatovitá aktivita nebo bezprostřední záchvat bez nabytí vědomí, trvající 30 min a déle (Delorenzo 2006, Lowenstein, Allredge 1998 převzato z cit. [17]). Jeho následkem může vzniknout trvalé poškození mozku, obzvláště limbického systému, ústící v kognitivní dysfunkci, epilepsii a další závažné neurologické stavy (Delorenzo 2006, Delorenzo et al. 2005, Fountain 2000, Lowenstein, Allredge 1998 převzato z cit. [17]).

Smrt neuronů je závislá na extracelulárním Ca²⁺ vstupujícím do buněk zejména pomocí NMDARs. Pokusy *in vitro* prokázaly, že neuronální smrt se znatelně snižuje v přítomnosti NMDA antagonisty a je inhibována také snížením extracelulárního Ca²⁺ během status epilepticus. Ca²⁺ je důležitou signální molekulou a hraje významnou úlohu v epileptogenezi a smrti neuronů u různých akutních neurologických onemocnění (Delorenzo et al. 2005 převzato z cit. [17]). Vstup extracelulárního Ca²⁺ během status epilepticus, zprostředkovaný NMDARs, je spojen s molekulární kaskádou, která iniciuje neuronální smrt. Inhibice NMDARs zřejmě nezastavuje již probíhající status epilepticus, ale blokáda signální dráhy NMDARs je schopná oslabit jím indukovanou neuronální smrt. [17]

4.2.3 NMDARs a myokard

NMDARs jsou v srdci lokalizovány zejména v nervových zakončeních, gangliích, vodivých vláknech a atriálních myocytech (Gill et al. 1998, 1999 převzato z cit. [18]). Tato skutečnost vedla k hypotéze, že aktivace NMDARs v srdci může hrát patologickou roli změnou Ca^{2+} homeostázy, oxidačním stresem a změněnou funkcí mitochondrií, což následně vede k apoptóze.

Stimulace NMDARs v kardiomyocytech může vést k apoptóze zprostředkované Ca^{2+} , ROS a kaspázou 3. Mobilizace kalcia může působit jako klíčový iniciální signál v indukcii buněčné toxicity zprostředkované NMDARs, protože snížení extracelulární koncentrace Ca^{2+} zcela zruší buněčnou toxicitu způsobenou NMDARs.

Nadměrná stimulace NMDARs znatelně zvyšuje cytosolickou hladinu ROS v kultuře kardiomyocytů signální dráhou závislou na vstupu Ca^{2+} , protože snížení extracelulárního Ca^{2+} zabraňuje tvorbě ROS.

Kardiomyocyty experimentálně stimulované prostřednictvím NMDARs vykazují rysy apoptózy. Bylo prokázáno [18], že nadměrná aktivace NMDARs indukuje apoptotickou smrt kardiocytů. V rozvoji apoptózy hrají při uvolňování apoptotických faktorů zásadní roli mitochondrie. Kritický krok představuje uvolnění cytochromu c (cyto-c) z mitochondrií. Tímto mechanismem se následně aktivuje kaspázová kaskáda (Nunez et al. 1998 převzato z cit. [18]). NMDARs zvyšují uvolňování cyto-c do cytosolu.

Mechanismus tohoto děje je stále nejasný, ale bylo zjištěno, že v regulaci uvolnění cyto-c je zahrnuta rodina proteinů Bcl-2 (Finucane et al. 1999 převzato z cit. [18]). Jedná se o antiapoptotické faktory, které zabraňují uvolnění cyto-c po cytotoxickém stimulu (Kluck et al. 1997 převzato z cit. [18]). Pro-apoptotickým členem Bcl-2 rodiny je naopak Bax, který může potencovat uvolnění cyto-c z mitochondrií (Finucane et al. 1999 převzato z cit. [18]). Podle studie [18] NMDARs snižují expresi bcl-2 mRNA a zvyšují expresi bax mRNA, což vede ke snížení poměru bcl-2/bax ve prospěch buněčné apoptózy. [18]

4.2.4 Schizofrenie

Existuje hypotéza tzv. glutamátergní dysfunkce u schizofrenie. Je založena na zjištění, že antagonisté NMDARs mohou i u dosud zdravých jedinců spustit syndrom

podobný schizofrenii a zhoršit symptomy již probíhajícího onemocnění (Lahti et al. 1995 převzato z cit. [19]). *Post-mortem* studie odhalily abnormality NMDARs v několika limbických strukturách účastnících se schizofrenie, včetně hippocampu (Gao et al 2000 převzato z cit. [19]) a thalamu (Ibrahim et al. 2000b převzato z cit. [19]). Bylo identifikováno několik proteinů interagujících s glutamátovými receptory, které ovlivňují aktivitu receptorů a účastní se transdukce signálu. Prototypem je PSD95, který obsahuje několik domén vázajících se k C-konci NR2 podjednotky NMDAR, dále ke složkám cytoskeletu a enzymům signální transdukce. Tato protein-protein interakce zlepšuje funkci NMDARs, ovlivňuje senzitivitu NMDARs ke glutamátu a tvoří signální komplex koordinující intracelulární děj regulovaný NMDARs (Sheng 2001, Sheng a Pak 2000 převzato z cit. [19]). Je tedy možné, že glutamátová dysfunkce u schizofrenie nemusí vždy zahrnovat abnormality NMDARs, ale místo toho může být způsobena narušením dalších molekul zahrnutých v glutamátovém přenosu.

Post-mortem studie dospělých ukázaly možnou glutamátergí dysfunkci v thalamu (Clinton et al. 2003, Ibrahim et al. 2000b, Smith et al. 2001b převzato z cit. [19]). Byla nalezena redukováná exprese transkriptu podjednotky NR1 a NR2C. Významné změny exprese AMPA nebo kainátových receptorů nalezeny nebyly (Ibrahim et al 2000b, Richardson-Burns et al. 2000 převzato z cit. [19]). Následně bylo zjištěno znatelné zvýšení exprese tří proteinů spojených s NMDARs, mezi nimi i PSD95 a dalších (NF-L a SAP102).

Znatelné zvýšení transkriptu NR2B podjednotky a snížení PSD95 byly pozorovány v thalamu mladších nemocných. Naproti tomu u starších bylo zjištěno snížení NR1 a NR2C transkriptu a zvýšení NF-L a SAP102 (Clinton et al. 2003, Ibrahim et al. 2000b převzato z cit. [19]). Tento rozpor může být vysvětlen tím, že každé stadium nemoci je spojeno s jinými neurochemickými změnami, svou roli zde zřejmě hraje i aktuální věk, typ převažujících symptomů nemoci (pozitivní či negativní) nebo doba po kterou je pacient nemocí postižen. Funkce NMDARs je regulována interakcí mezi C-terminálním koncem podjednotek a intracelulárními proteiny jako je PSD95. [19]

4.2.5 NMDARs a bolest

Existuje bezpočet důkazů o tom, že bolest spojená s periferními tkáněmi nebo nervovým poraněním zahrnuje aktivaci NMDARs (Doubell et al. 1999 převzato z cit. [20]). S tím souhlasí také skutečnost, že NMDARs antagonisté jsou schopni zmírnit bolestivou reakci (Fisher et al. 2000, Hewitt 2000 převzato z cit. [20]). Exprese NMDARs probíhá na nervech lidských šlach, v patogenezi chronické bolesti šlach hrají tyto receptory spolu se zvýšenou koncentrací glutamátu určitou roli (Alfredson et al. 2001 převzato z cit. [20]). Počet NMDARs na periferních nervových vláknech se zvyšuje během zánětu, což může přispívat k periferní senzitivaci během zánětlivé reakce (Carlton, Coggeshall 1999 převzato z cit. [20]). Bylo zjištěno, že na periferních nervových vláknech probíhá exprese NR2B a NR2D podjednotky, zatímco podjednotka NR2A zřejmě na periferních terminálních zakončeních chybí (Ma, Hargreaves 2000, Marvizon et al. 2002 převzato z cit. [20]).

Senzitivace vyskytující se jako odpověď na periferní trauma lze vysvětlit pouze částečně změnami na periférii. To naznačuje, že hyperalgesie a alodynies jako následky poranění mají centrální složku (Doubell et al. 1999 převzato z cit. [20]). Existují důkazy, že rozvoj spinální hyperexcitability a vytrvalá bolest zahrnují aktivaci NMDARs. Zvýšení funkce NMDARs probíhá jako zvýšení otevření kanálů a může zahrnovat i transkripční, translační a posttranslační modulaci. Zároveň bylo zjištěno, že exprese mRNA podjednotek je následkem periferního tkáňového nebo nervového poranění změněna. Jako nejdůležitější se jeví NR2B podjednotka. Teoreticky by mohlo jít o adaptivní reakci usilující o zmírnění nadměrné neuronální excitability (McCormack 1999 převzato z cit. [20]).

Periferní zánět může změnit vlastnosti NMDARs zadních míšních rohů (Guo, Huang 2001 převzato z cit. [20]). Hlavním mechanismem regulujícím funkci NMDARs je proteinová fosforylace. Do regulace NMDARs je zapojena protein kinasa C (PKC). Ta může působit jednak přímou fosforylací (Liao et al. 2001 převzato z cit. [20]), jednak i nepřímo pomocí aktivace signální kaskády tyrosin kinasy (Lu et al. 1999 převzato z cit. [20]) a pravděpodobně se též účastní interakce s proteiny cytoskeletu (Sheng, Pak 2000 převzato z cit. [20]). S chronickou zánětlivou bolestí je spojena tyrosinová fosforylace NR2B podjednotky (Guo et al. 2002 převzato z cit. [20]).

Jedním z proteinů zprostředkujících postsynaptickou signalizaci v NMDARs je kalcium-kalmodulin-dependentní protein kinasa II (CaMKII). Specificky interaguje s NR2B podjednotkou a jsou též společně lokalizovány v zadních míšních rozích. To

ukazuje důležitost interakce NR2B-CaMKII v rozvoji a následném trvání nociceptivní hypersenzitivity. [20]

4.3 GABA_A receptory

Kyselina γ -amino máselná (GABA) je kvantitativně nejdůležitějším inhibičním mediátorem v CNS. GABA-ergní neurony jsou distribuovány prakticky v celém mozku, naopak mimo mozek a míchu se prakticky nenalézají. Neuronální aktivita je obecně řízena rovnováhou mezi excitační (většinou glutamatergní) a inhibiční GABA-ergní aktivitou. Pokud se rovnováha zvrátí ve prospěch GABA projeví se útlum, amnézie a ataxie. Na druhou stranu i mírné oslabení GABA-ergního systému vede ke vzrušení, úzkosti, nervozitě, nespavosti a přehnané reaktivitě. GABA se na GABA_A-benzodiazepinovém receptorovém komplexu chová jako agonista. Indukuje konformační změny, které následně zvyšují propustnost pro chloridové ionty. Následuje hyperpolarizace neuronu, redukováná excitabilita a tím inhibiční efekt na neuronální aktivitu. [21]

4.3.1 GABA_A a úzkostné poruchy

Přesný mechanismus podmiňující patologii různých úzkostných poruch ještě nebyl objasněn, důležitou roli však hraje dysfunkce GABA systému. K dispozici jsou důkazy ukazující na vztah dysfunkce GABA_A receptorů a patofyziologie úzkostných poruch. Naproti tomu důkazy o možném podílu GABA_B a GABA_C receptorů dosud zjištěny nebyly. Dysfunkce GABA_A receptorů může být predispozicí pro symptomy generalizované úzkostné poruchy a panické poruchy (Crestani et al. 1999 převzato z cit. [22]). Anxiolytický efekt benzodiazepinů je zprostředkován $\alpha 2$ podjednotkou GABA_A receptorů, které převládají v limbických oblastech mozku (Low et al. 2000 převzato z cit. [22]). Pacienti trpící panickou poruchou vykázali v porovnání se zdravou skupinou o 22% nižší hladinu GABA v oblasti týlního laloku (Goddard et al. 2001 převzato z cit. [22]). Podobně pacienti s posttraumatickou stresovou poruchou vykazovali znatelně sníženou vazebnou kapacitu GABA_A-benzodiazepinového receptoru v oblasti cortex prefrontalis (Bremner et al. 2000 převzato z cit. [22]). Tyto skutečnosti potvrzují roli GABA systému v patofyziologii úzkosti a podporují

domněnku, že změněný inhibiční přenos může být spojen s některými úzkostnými poruchami (Nutt 2001, Smith 2001, Nestoros 1984 převzato z cit. [22]). [22]

4.3.2 Vliv GABA_A receptorů na reprodukční funkce

GABA-ergní přenos v oblasti hypothalamu a v bazální části předního mozku hraje klíčovou roli v nástupu puberty, projevech sexuálního chování, těhotenství a porodu. Neuronální kontrolu hypothalamo-hypofýzo-gonádové osy ovládá malý počet řídce distribuovaných GnRH (gonadotropin releasing hormone, gonadoliberin) neuronů. GABA-ergní kontrola uvolňování GnRH z těchto neuronů je důležitá pro nastartování puberty a reprodukční vyžívání. U dospělých inhibiční GABA-ergní signály pro GnRH neurony podporují pulzní uvolnění GnRH a LH (luteinizační hormon) (Sim et al 2000, Nunemaker et al. 2003, Han et al. 2004 převzato z cit. [23]). [23]

5. MOŽNOSTI PRAKTICKÉHO VYUŽITÍ

Skutečnost, že koncentrace DHEA(S) s věkem postupně klesá a že existují nemoci vyskytující se spolu se zvýšeným věkem, vedla k domněnce, že DHEA(S) možná hraje u těchto nemocí důležitou roli. Jedná se např. o onemocnění koronárních tepen srdce, aterosklerózu (Kask 1959, Marmoston et al. 1975, Gordon et al. 1988, Kalimi a Regelson 1990, Khaw 1996 převzato z cit. [24]), obezitu (Yen et al. 1977, Nestler et al. 1988, Usiskin et al. 1990 převzato z cit. [24]), diabetes mellitus (Coleman et al. 1982, Cleary a Zisk 1986, Haffner et al. 1994 převzato z cit. [24]), rakovinu (Gordon et al. 1990, Helzlsouer et al. 1992, Schwartz a Pashko 1995 převzato z cit. [24]) a imunologické poruchy (Spencer et al 1995 převzato z cit. [24]).

5.1 DHEA a onemocnění srdce

Výsledky různých epidemiologických studií vlivu DHEA(S) na onemocnění koronárních arterií prováděných jak u mužů tak u žen jsou sporné. Jejich detailní analýza ukázala, že dramatický vliv na rozdílné výsledky má výběr pohlaví a hodnotících kritérií studie autory. Např. někteří autoři studií nezřetelně definují „end

point“ studie. Studie zabývající se muži, kteří následkem kardiovaskulární příhody zemřeli, ukázaly zřetelně nižší základní hladinu DHEAS. Tento vztah naopak nebyl prokázán, pokud byli do této skupiny zahrnuti i muži, kteří na následky kardiovaskulární příhody nezemřeli. [24]

Původní zprávy, dokazující poměrně dramatický účinek DHEA na riziko kardiovaskulárního onemocnění, však nebyly zopakovány. [25] Nedá se tedy říci, že by DHEAS, resp. stanovení jeho plazmatické hladiny, mělo prognostický význam při odhadu míry rizika kardiovaskulárního onemocnění.

5.2 Obezita

Četné srovnávací studie zkoumaly vztah nadváhy, obezity a plazmatické hladiny DHEA a DHEAS. Ve většině případů byla prokázána statisticky významná negativní korelace (inverzní vztah) mezi hladinou volného plazmatického DHEA a mírou celkového obsahu tuků (Barret-Connor, Ferrara 1996; de Pergola et al. 1996; de Pergola et al. 1991; Field et al. 1994; Couillard et al. 2000; Tchernof et al. 1995 převzato z cit [25]). Tato data naznačují, že vyšší hladina DHEA je spojena s nižším hromaděním tělesného tuku. Ovšem, co se týká vztahu DHEAS a obezity si dosavadní výsledky vzájemně odporují. Výsledky mohla možná ovlivnit i věková rozdílnost sledované populace v jednotlivých studiích.

Mechanismus spojující obezitu, rozložení tělesného tuku a sérovou hladinu DHEA a DHEAS nebyl ještě plně objasněn. Např. Gordon et al (1985, převzato z cit [25]) pozoroval, že přeměna buněk ve zralé adipocyty je v přítomnosti DHEA blokována. Dále může hrát vliv i to, že DHEA je prekurzorem aktivních androgenů a estrogenů. V tukové tkáni probíhá exprese četných steroid-konvertujících enzymů nutných pro lokální syntézu aktivních androgenů/estrogenů z DHEA (Dysleperre et al. 1985; Labrie et al. 1991; Simpson et al. 1989; Price, O'Brien 1993; Yang et al. 1997; Bélanger et al. 2002 převzato z cit. [25]). Enzymy odpovědné za inaktivaci androgenů/estrogenů jsou v adipózní tkáni přítomny také (Tchernof et al. 1999 převzato z cit. [25]), mohou tedy modulovat intracelulární hladinu aktivních steroidů. Konverze DHEA na androgeny nebo estrogeny může ovlivňovat fyziologii adipocytů a modulovat hromaděním adipózní tkáně a její mobilizaci. [25]

5.3 Inzulinová rezistence a hyperinsulinémie

Řada studií ukázala, že insulin může v nadledvinách snižovat biosyntézu DHEA inhibicí enzymu 17,20-lyasy (Nestler et al. 1992, Nestler et al. 1989, Smith et al. 1987, Falcone et al. 1990 převzato z cit. [25]). Ukázalo se také, že insulin může zvyšovat metabolickou clearance DHEA (Nestler a Kahwash 1994 převzato z cit. [25]). DHEAS může mít přímý vliv na sensitivitu inzulínu, zvyšuje vazebnost inzulínu k jeho receptoru (Buffington et al. 1991 převzato z cit. [25]). Tyto skutečnosti naznačují, že snížení hladiny DHEA může přímo přispívat k inzulinové rezistenci. S inzulinovou rezistencí a hyperinzulinismem DHEA souvisí také díky svému spojení s obezitou. [25]

Ve studii [26] zabývající se hypoadrenokortikálními ženami (s nedostatkem DHEA) byla pozorována zvýšená inzulinová senzitivita při substituci DHEA v porovnání s placebem. Hladina inzulínu na lačno (*fasting insulin*) byla u žen užívajících DHEA nižší a to i přes nezměněnou plazmatickou hladinu glukózy. Dodání chybějícího DHEA mělo za následek zvýšení „likvidace“ glukózy indukované inzulínem.

Naproti tomu studie zkoumající vliv dvouletého podávání DHEA ve fyziologických dávkách u starších lidí neukázala zlepšení tolerance glycidů. Nezměnila se koncentrace glukózy nalačno ani po jídle, ani glukózový obrat nalačno nebo po jídle. Dále nedošlo ke zvýšení sekrece inzulínu ani ke zlepšení jeho působení. Podle této studie tedy neexistují důkazy, že deficit DHEA přispívá k intoleranci glycidů během stárnutí. Nelze ovšem vyloučit možnost, že podávání DHEA může mít význam u starších lidí trpících dalšími nemocemi nebo jsou obézní. Výzkum byl prováděn na lidech majících spíše relativní než absolutní nedostatek DHEA. Dále je možné že efekt DHEA na metabolismus glycidů je krátkodobé povahy a časem mizí (krevní vzorky byly zkoumány pouze na začátku a na konci dvouleté studie) nebo že pro dosažení požadovaného účinku je nutné podávání delší než dva roky, což je ovšem nepravděpodobné. [27]

5.4 Plazmatické lipidy a lipoproteiny

Výsledky různých srovnávacích studií si poněkud odporují. Jasnější souvislost byla nalezena mezi DHEAS a hladinou triglyceridů. Některé studie udávají negativní

vztah mezi nimi, další ukázaly, že zvýšené hladiny DHEA a DHEAS mohou být spojeny s příznivým lipido-lipoproteinovým profilem v séru. Tento účinek zřejmě zprostředkovává pozitivní spojení s koncentrací HDL cholesterolu a naopak negativní s celkovým cholesterolem. Existují však i studie, podle kterých mezi těmito dvěma veličinami žádný vztah není. DHEA možná souvisí s lipidovým profilem díky své konverzi na androgenní steroidy. [25]

5.5 DHEA u postmenopauzálních žen

U postmenopauzálních žen byla provedena jednoletá studie vlivu podávání DHEA. Ukázalo se, že dlouhodobé podávání nízkých dávek (25mg/den) DHEA u postmenopauzálních žen s prokazatelným deficitem DHEA mělo pozitivní vliv na četné metabolické parametry, které jsou spojeny se zvýšeným kardiovaskulárním rizikem. Zvýšila se senzitivita k inzulinu a koncentrace plazmatických lipidů (projevilo se zvýšení koncentrace HDL cholesterolu, snížení LDL a triglyceridů). [28]

V roce 2000 byla publikována francouzská kontrolovaná dvojité slepá klinická studie substituce DHEA (Baulieu et al. převzato z cit. [29]). Po dobu jednoho roku byl DHEA podáván skupině mužů a žen ve věku 60 až 79 let. Kromě obnovení „mladistvých“ sérových hladin DHEAS byl u žen starších 70 let prokázán malý vzestup testosteronu a E_2 , což bylo zřejmě důvodem znatelného zlepšení kostního metabolismu a zvýšení většiny parametrů libida u této věkové skupiny žen. Častěji než u mužů se u žen také zlepšil stav kůže ve smyslu suchosti, tloušťky epidermis, produkce mazu a pigmentace. V průběhu studie nebyly zaznamenány nežádoucí účinky.

DHEA v kombinaci s E_2 se nachází v depotním přípravku (Gynodian Depot[®]) firmy Schering pod generickým názvem prasteron. Aplikuje se jedenkrát měsíčně k potlačení vazomotorických obtíží a zmírnění dalších symptomů estrogenního deficitu včetně osteoporózy. [29]

Osteoporóza představuje velký problém u žen v menopauze. Studie Fingerové a Matlochové (1997, převzato z cit. [29]) ukázala, že hladiny DHEAS korigované na věk byly u 152 postmenopauzálních žen s osteopenií a osteoporózou signifikantně nižší než u kontrolní skupiny 56 žen s normální kostní denzitou. Száthmari et al. (1994, převzato z cit. [29]) ve své studii popsali až 40krát vyšší riziko osteoporózy u postmenopauzálních žen s hladinami DHEAS pod hranicí 3,3 $\mu\text{mol/l}$. Vyšetření

sérového DHEAS, které je dostupné a levné, by tedy mohlo upozornit na rizikovou skupinu asymptomatických žen a předcházet tak náročnějšímu vyšetření jako je např. denzitometrie. [29]

5.6 Vliv DHEA na autoimunitní nemoci

5.6.1 Systémový lupus erythematosus (SLE)

Vliv DHEA na SLE zkoumal Deh-Ming et al. [30]. Studie byla randomizovaná, dvojitě zaslepená, kontrolovaná placebem a provedena na 120 ženách s mírným stupněm SLE po dobu 24 týdnů. Ve skupině žen, kterým byl podáván DHEA, se oddálilo těžší stadium a snížily nepříznivé projevy spojené se SLE, obecně se zlepšil jejich celkový stav. Navíc skoro všechny pacientky už před tím prodělaly standardní léčbu glukokortikoidy i dalšími imunosupresivy.

Tento efekt může být zprostředkován několika mechanismy. Například tím, že u pacientů se SLE se vyskytuje zvýšená hladina IL-6 (Linker-Israeli et al. 1991 převzato z cit. [30]) a DHEA snižuje jeho uvolňování z lidských mononukleárních buněk in vitro (Straub et al. 2000, Straub et al. 1998 převzato z cit [30]).

Během studie se nevyskytly žádné neočekávané nebo závažné vedlejší účinky DHEA, dá se tedy říci, že byl dobře tolerován.

V dalších dvou studiích byl pacientům podáván DHEA v dávce 200 mg/den. Díky tomu se jim mohly snížit dávky podávaného prednisonu na dávky bližší obvyklému fyziologickému rozmezí (Petri et al. 2002 převzato z cit. [30]), stabilizovala nebo se zlepšila SLE aktivita a jeho symptomy a bylo zabráněno ztrátám na kostech (Mease et al. 2000 převzato z cit. [30]). Je ovšem potřeba dalších a delších studií k potvrzení tohoto příznivého efektu.

5.6.2 Sjögrenův syndrom

Vliv DHEA versus placebo na Sjögrenův syndrom zkoumala pilotní klinická studie [31]. Jednalo se o studii randomizovanou, dvojitě zaslepenou a kontrolovanou placebem, která byla provedena na 28 pacientech. I když existují náznaky, že DHEA by mohl mít význam v léčbě autoimunitních nemocí, tato studie důkazy o jeho možném vlivu na Sjögrenův syndrom neposkytla. Mezi skupinou užívající DHEA a placebo nebyl během studie ani po jejím skončení žádný znatelný rozdíl. Po

skončení studie se vyskytlo pouze zlepšení symptomu suchých úst, jednalo se o zlepšení zhruba devítiprocentní, ovšem daná studie vyžadovala zlepšení minimálně 20%. Terapeutický efekt nebyl v této studii klinicky významný. Izolovaný příznivý efekt DHEA na symptom suchých úst nelze ovšem vyloučit. Co se týká vedlejších účinků, byly většinou mírné. Jednalo se zejména o slabé akné. Na základě této studie tedy nelze říci, že užívání DHEA by na Sjögrenův syndrom mělo nějaký příznivý vliv.

5.6.3 Crohnova nemoc a ulcerózní kolitida

U pacientů se zánětlivým onemocněním střev je zvýšena sekrece prozánětlivých cytokinů, jako je IL-6, IL-12 a aktivace nukleárního faktoru κ B. DHEA tuto aktivaci a sekreci těchto cytokinů inhibuje pomocí aktivace PPAR α (Straub et al. 1998, Poynter a Daynes 1998, převzato z cit. [32]). Bylo zjištěno, že u pacientů se zánětlivým onemocněním střev je koncentrace DHEAS snížena a že DHEAS inhibuje tvorbu IL-6 lidskými monocyty na periférii (Straub et al. 1998 převzato z cit. [32]).

Díky těmto zjištěním začala druhá fáze pilotní studie [32] u pacientů s aktivním zánětlivým onemocněním střev, které neodpovídalo na předchozí léčbu. Do této studie bylo zahrnuto sedm pacientů s aktivní Crohnovou nemocí a 13 s aktivní ulcerózní kolitidou mezi 18 a 45 lety věku, muži i ženy. Pacientům byl po dobu 56 dní podáván DHEA 200mg/den. Během studie se znatelně zvýšila sérová koncentrace DHEAS. Šest ze sedmi pacientů s Crohnovou nemocí odpovídalo na léčbu a u všech šesti se dostavila remise (jeden pacient během prvního týdne ze studie odstoupil a byl vyhodnocen jako neodpovídající na léčbu). U těchto pacientů se snížil počet tekutých stolic, krvavých průjmů i abdominálních bolestí. Hladina C-reaktivního proteinu klesla také. Z celkem 13 pacientů s ulcerózní kolitidou odpovědělo na léčbu osm, u šesti z nich se dostavila remise. Pět pacientů na léčbu nezareagovalo. Také u této skupiny došlo ke snížení počtu tekutých stolic, krvavých průjmů a abdominální bolesti. U jednoho pacienta s Crohnovou nemocí a třech s ulcerózní kolitidou se naopak dostavil relaps. Během léčby se objevily jen minimální vedlejší účinky jako občasná nauzea, symptomy nachlazení, občasný retní opar a chrapot. Všechny vymizely během nebo krátce po skončení studie. Během studie nebyly pozorovány žádné klinické projevy maskulinizace.

Tato pilotní studie poprvé ukázala, že léčba těchto nemocí DHEA by mohla být účinná a bezpečná, ale protože nebyla zaslepená a byla provedena jen na malém počtu pacientů, její výsledky musí být potvrzeny ve větší a placebem kontrolované studii [32].

5.7 DHEA jako indikátor adrenokortikální suprese

Studie [33] se zabývala možností využití měření sérového DHEAS pro monitoring systémového efektu inhalačních steroidů u dospělých pacientů s astmatem. Vysoké dávky těchto steroidů jsou nutné k léčbě astmatických záchvatů a nadměrné bronchiální citlivosti (Tukiainen et al. 2000, Pedersen a Hansen 1995 převzato z cit. [33]), zároveň se zvyšuje i riziko systémového účinku (adrenokortikální suprese, osteoporóza). Po vysokých iniciálních dávkách zpravidla lze astma dlouhodobě kontrolovat za užití nižších dávek (Haahtela et al. 1994 převzato z cit. [33]). Někteří astmatici, jako například kuřáci, potřebují vyšší dávky inhalačních steroidů a mohou být proto více ohroženi jejich vedlejšími efekty (Pedersen et al. 1996 převzato z cit. [33]). Dalším příkladem jsou perimenopauzální ženy, které mohou být k vedlejším účinkům glukokortikoidů výjimečně citlivé (Laatikainen et al. 1999 převzato z cit. [33]). Proto jsou potřebné citlivé a jednoduché testy k rozpoznání systémových vedlejších účinků. Skutečnost, že terapie inhalačními steroidy způsobuje znatelné snížení sérové koncentrace DHEAS v závislosti na podané dávce vedla k myšlence, že by se měření sérového DHEAS dalo využít jako screeningové metody pro rozpoznání systémového efektu inhalačních steroidů. Zjevně nízké hladiny DHEAS nebo jejich snížení v průběhu léčby ukazují na adrenokortikální supresi. Měření sérového DHEAS lze tedy využít ke screeningu adrenokortikální nedostatečnosti u pacientů léčených glukokortikoidy, je ovšem potřeba zdůraznit že existují stavy, kdy produkce adrenálních androgenů klesá, zatímco sekrece kortizolu zůstává stejná nebo se dokonce zvyšuje. Jedná se o chronické zánětlivé stavy a chronické stresové situace (Straub et al. 2002, Moriyama et al. 2000 převzato z cit. [33]).

5.8 Poměr kortizol/DHEA a odpověď na terapii schizofrenie

Studie Ritsnera a spol. [34] se zabývala hypotézou, že molární poměr kortizol/DHEA(S) by mohl být spojen s pozitivní odpovědí na antipsychotickou léčbu během relapsu (opětovné vzplanutí) schizofrenie. Hladiny kortizolu a DHEA(S) byly opakovaně měřeny u 43 pacientů s relapsem a při nasazení standardní antipsychotické terapie. Bylo zjištěno, že pacienti kteří na léčbu odpovídali (*respondéři*), měli znatelně vyšší sérový poměr kortizol/DHEA(S) než ti, u kterých byla léčba neúčinná. Pomocí regresní analýzy se ukázalo, že molární poměr kortizol/DHEA(S) je významný prognostický faktor odpovědi na antipsychotickou léčbu. [34]

5.9 Vliv DHEA na hustotu kostních minerálů

Jankowski se spol. [35] zjišťoval efekt 12-ti měsíční substituční terapie DHEA na hustotu kostních minerálů a složení těla u 140 starších žen a mužů s nízkými sérovými hladinami DHEAS. Hlavním výsledkem studie byla skutečnost, že terapie DHEA vede ke zvýšení kostní hustoty v kyčli. Jako odpověď na léčbu se neobjevilo zvýšení množství tukové masy ani ostatních „fat-free“ složek. Na tuto terapii zřejmě lépe odpovídaly ženy. Výsledky této studie naznačují, že terapie DHEA by mohla být ve smyslu osteoprotekce přínosnější spíše pro ženy než pro muže, ovšem tato možnost musí být ještě dále potvrzena. Zvýšení kostní hustoty bylo menší než je obvyklé u klasické osteoporotické terapie, ovšem ta nenabízí možnost snížení rizika fraktur. K přesnému zjištění, zda DHEA toto riziko fraktury redukuje je ovšem třeba dalších větších a delších studií. [35]

5.10 Psychotická onemocnění

Jako neurosteroid má DHEA potenciální využití v léčbě deprese. V otevřené, randomizované, dvojitě zaslepené a placebem kontrolované studii (Broekhoven a Verkes, 2003 převzato z cit. [36]), mělo podávání DHEA příznivé výsledky u pacientů s velkou depresí. O příznivém účinku DHEA v léčbě klasických schizofrenických symptomů informuje randomizovaná studie Strouse et al. (2003 převzato z cit. [36]). DHEA také zmírňuje se schizofrenií spojenou depresi a úzkost. Naproti tomu i když existují důkazy o snížené hladině DHEA u Alzheimerovy nemoci, jeho podávání

nemocným nevykázalo žádný příznivý účinek ve smyslu zlepšení kognitivních úkolů nebo ve snížení závažnosti symptomů (Wolkowitz et al 2003 převzato z cit. [36]). Jako první informoval o snížených sérových hladinách DHEAS u Alzheimerovy nemoci Sunderland et al (1989 převzato z cit. [37]). Ve studii Yanase et al (1996 převzato z cit. [37]) byla tato skutečnost prokázána také u pacientů s cerebrovaskulární demencí. Existuje tedy možnost, že snížené sérové hladiny DHEAS jsou obecným fenoménem pozorovaným u demence. [37]

5.11 Vliv DHEA na rakovinu

Epidemiologická data získaná jak od mužů tak od žen jsou neprůkazná. Některé studie ukazují, že pokles hladin DHEA, testosteronu a estrogenů spojený s vyšším věkem je určitou ochranou proti zvýšení výskytu hormonálně-dependentních tumorů (Martin-Du 1999 převzato z cit. [38]). Podle dalších studií souvisí zvýšené sérové hladiny DHEA(S) s nižším podílem rakoviny, což naznačuje jejich možný protektivní efekt (Comstock et al. 1993, převzato z cit. [38]). Také laboratorní studie ukazují protichůdné výsledky, např. u rakoviny prostaty. Růst nebo klid prostatické tkáně pravděpodobně vyplývá z komplexu signálů mezi epitelovými buňkami a buňkami stromatu spolu s usídlenými a infiltrujícími imunitními buňkami, všechny v prostředí lokálních hormonů a růstových faktorů (Cunha et al. 2004, převzato z cit. [38]). Přesná úloha imunitních buněk a buněk stromatu při ovlivnění efektu DHEA na funkci normálních a maligních prostatických buněk zatím nebyla objasněna. [38]

5.12 Možnosti léčebného využití

Do praktického využití se DHEA dostal již u postmenopauzálních žen, další možností by bylo jeho využití jako podpůrná terapie Crohnovy nemoci, ulcerózní kolitidy a SLE. Dle výsledků různých studií, které jsou v současnosti k dispozici se zdá, že terapie DHEA by měla být bezpečná a bez závažných vedlejších účinků, včetně i případného výskytu výraznější virilizace. U dalších onemocnění si výsledky různých studií zatím odporují nebo jsou nejasné.

Problematická je také skutečnost, že na zvířecích modelech se účinky DHEA jeví jako velmi slibné, ale u lidí se očekávaný účinek vůbec nedostaví nebo si různé

výsledky vzájemně odporují. Důvodem může být skutečnost, že významná adrenální produkce DHEA(S) je výsadou jen člověka a některých primátů. Poznatky získané na zvířecích modelech proto nelze jednoduše převádět do humánní medicíny.

6. ZÁVĚR

Dle zjištěných skutečností se dá mechanismus účinku DHEA rozdělit na přímý a nepřímý. Nepřímý účinek DHEA je způsoben jeho konverzí na příslušné metabolity, zejména estradiol a testosteron. Tato extragonadální produkce hormonů v periferních tkáních bývá nověji označována jako intrakrinní a dala základ nové disciplíně - intrakrinologii. Přímé působení DHEA je zřejmě zprostředkováno vazbou na jaderné receptory (tedy analogicky jiným steroidním hormonům). Specifický receptor pro DHEA nebyl zatím objeven, ale byla dokázána jeho vazba s PXR, PPAR α , ER a dalšími. V CNS se DHEA váže na GABA_A receptory, na kterých působí jako antagonist, dále na NMDA a sigma receptory, kde má naopak agonistický účinek. Tento nálezný prokazuje i méně obvyklou možnost interakce s membránovými receptory.

Konverze DHEA na další steroidy je regulována expresí a aktivitou steroidogenních a metabolických enzymů. Hormonální prostředí může měnit poměr mezi androgenním a estrogením účinkem DHEA. Tato skutečnost by mohla vysvětlovat některé pozorované sexuálně specifické odlišnosti. U postmenopauzálních žen působí DHEA spíše androgenně, u mužů naopak zvyšuje hladinu estradiolu.

Seznam použité literatury

1. Mellon S. H. (1994) Special article Neurosteroids: Biochemistry, modes of action and clinical relevance. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 78:1003-1008
2. Plassart-Schiess E., Baulieu E. E. (2001) Neurosteroids: Recent findings. *Brain Research Reviews* 37:133-140
3. Dorda M. et al. (2001) Neurosteroidy-mechanismus působení a možnost užití v klinické praxi. *Psychiatrie, Supplementum* 3; 5:5-9
4. Melcangi R. C., Garcia-Segura L. M., Mensah-Nyagan A. G. (2008) Neuroactive steroids: State of the art and new perspectives. *Cellular and Molecular Life Sciences* 65: 777-797
5. Compagnone N. A., Mellon S. H. (2000) Neurosteroids: Biosynthesis and function of these novel neuromodulators. *Frontiers in Neuroendocrinology* 21:1-56
6. Stoffel-Wagner B. (2001) Neurosteroid metabolism in the human brain. *European Journal of Endocrinology* 145:669-679
7. Tsutsui K. et al. (2000) Novel brain function: Biosynthesis and actions of neurosteroids in neurons. *Neuroscience Research* 36:261-273
8. Patte-Mensah Ch. et al. (2003) Cellular distribution and bioactivity of the key steroidogenic enzyme, cytochrom P450side chain cleavage, in sensory neural pathways. *Journal of Neurochemistry* 104:1471-1477.
9. Bergeron R. , de Montogny C., Debonell G. (1996) Potentiation of neuronal NMDA response induced by dehydroepiandrosterone and its suppression by progesterone: Effects mediated via sigma receptors. *Journal of Neuroscience* 16:1193-1202
10. Monnet F. P., Maurice T. (2006) The Sigma₁ protein as a target for the non-genomic Effects of neuro(active)steroids: Molecular, physiological, and behavioral aspects. *Journal of Pharmacological Sciences* 100:93-118
11. Chen F. et al. (2005) Direct agonist/antagonist functions of dehydroepiandrosterone. *Endocrinology* 146: 4568-4576
12. Webb S. J. et al. (2006) Author manuscript -The biological actions of dehydroepiandrosterone involves multiple receptors. *Drug Metab. Revue* 38:89-116

13. Deroo B. J., Korach K. S. (2003) Estrogen receptors and human disease. *Journal of Clinical Investigation* 116:561-570
14. Imamov O. et al. (2005) Estrogen receptor beta in health and disease. *Biology of reproduction* 73:866-871
15. De Felice F. G. et al. (2007) A β oligomers induce neuronal oxidative stress through an N-methyl-D-aspartate receptor-dependent mechanism that is blocked by the Alzheimer drug memantine. *Journal of Biological Chemistry* 282:11590-11601
16. Shankar G. M. et al. (2007) Natural oligomer of the Alzheimer amyloid- β protein induce reversible synapses loss by modulating an NMDA-type glutamate receptor-dependent signaling pathway. *Journal of Neuroscience* 27:2866-2875
17. Deshpande L. S. et al. (2008) Author manuscript Time course and mechanism of hippocampal neuronal death in an in vitro model of status epilepticus: Role of NMDA receptor activation and NMDA dependent calcium entry. *European Journal of Pharmacology* 583:73-83
18. Gao X. et al. (2007) NMDA receptor activation induces mitochondrial dysfunction, oxidative stress and apoptosis in cultured neonatal rat cardiomyocytes. *Physiological research* 56:559-569
19. Clinton S. M., Meador-Woodruff J. M. (2004) Abnormalities of the NMDA receptor and associated intracellular molecules in the thalamus in schizophrenia and bipolar disorder. *Neuropsychopharmacology* 29:1353-1362
20. Petrenko A. B. et al. (2003) The role of N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptors in pain: a review. *Anesthesia and analgesia* 97:1108-1116
21. Nutt D. J. , Malizia A. L. (2001) New insights into the role of the GABA_A-benzodiazepine receptor in psychiatric disorder. *British journal of psychiatry* 179:390-396
22. Nemeroff Ch. B. (2003) The role of GABA in the pathophysiology and treatment of anxiety disorders. *Psychopharmacology bulletin* 37:133-146
23. Henderson L. P. (2007) Steroid modulation of GABA_A receptor-mediated transmission in the hypothalamus: Effects on reproductive function. *Neuropharmacology* 52:1439-1453
24. Poršová-Dutoit I. et al. (2000) Do DHEA/DHEAS play a protective role in coronary heart disease? *Physiological research* 49: 43-56

25. Tchernof A., Labrie F. (2004) Dehydroepiandrosterone, obesity and cardiovascular disease risk: a review of human studies. *European Journal of Endocrinology* 151:1-14
26. Dhataryia K. et al. (2005) Effect of dehydroepiandrosterone replacement on insulin sensitivity and lipids in hypoadrenal woman. *Diabetes* 54:765-769
27. Basu R. et al. (2007) Two years of treatment with dehydroepiandrosterone does not improve insulin secretion, insulin action, or postprandial glucose turnover in elderly men or women. *Diabetes* 56:753-766
28. Lasco A. et al. (2001) Metabolic effects of dehydroepiandrosterone replacement therapy in postmenopausal women. *European Journal of Endocrinology* 145:457-461
29. Fingerová H. (2004) Dehydroepiandrosteron (DHEA) a hormonální substituční terapie. *Praktická gynekologie* 2/04:26-29
30. Deh-Ming Ch. et al. (2002) Dehydroepiandrosterone treatment of women with mild-to-moderate systemic lupus erythematosus. *Arthritis & Rheumatism* 46:2924-2927
31. Pillemer S. R. et al. (2004) Pilot clinical trial of dehydroepiandrosterone (DHEA) versus placebo for Sjögren's syndrome. *Arthritis & Rheumatism* 51:601-604
32. T. Andus et al. (2003) Patients with refractory Crohn's disease or ulcerative colitis respond to dehydroepiandrosterone: a pilot study. *Alimentary pharmacology & therapeutics* 17:409-414
33. Kannisto S. et al. (2004) Serum dehydroepiandrosterone sulfate concentration as an indicator of adrenocortical suppression during inhaled steroid therapy in adult asthmatic patients. *European Journal of Endocrinology* 150:687-690
34. Ritsner M. et al. (2005) Cortisol/dehydroepiandrosterone ratio and responses to antipsychotic treatment in schizophrenia. *Neuropsychopharmacology* 30:1913-1922
35. Jankowski C. M. et al. (2006) Effects of dehydroepiandrosterone replacement therapy on bone mineral density in older adults: a randomized, controlled trial. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 91:2986-2993
36. Binello E., Gordon C. M. (2003) Clinical uses and misuses of dehydroepiandrosterone. *Current opinion in pharmacology* 3: 635-641

37. Yanase T. (2004) Physiological significance of replacement therapy of dehydroepiandrosterone. *Internal Medicine* 43:156-158
38. Arnold J. T., Blackman M. R. (2005) Does DHEA exert direct effects on androgen and estrogen receptors, and does it promote or prevent prostate cancer? *Endocrinology* 146:4565-4567