ePublishing

EKT ΕΘΝΙΚΟ ΚΕΝΤΡΟ ΤΕΚΜΗΡΙΩΣΗΣ NATIONAL DOCUMENTATION CENTRE

Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society

Vol 49, No 3 (1998)

Biochemistry, pharmacology and physiological role of sex hormone binding globulin

D. KOURETAS (Δ. ΚΟΥΡΕΤΑΣ), V. LALIOTIS (Β. ΛΑΛΙΩΤΗΣ), O. ANTONOGLOU (Ο. ΑΝΤΩΝΟΓΛΟΥ)

doi: 10.12681/jhvms.15772

Copyright © 2018, D KOURETAS, V LALIOTIS, O ANTONOGLOU

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0.

To cite this article:

KOURETAS (Δ. ΚΟΥΡΕΤΑΣ) D., LALIOTIS (Β. ΛΑΛΙΩΤΗΣ) V., & ANTONOGLOU (Ο. ΑΝΤΩΝΟΓΛΟΥ) O. (2018). Biochemistry, pharmacology and physiological role of sex hormone binding globulin. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*, *49*(3), 189–194. https://doi.org/10.12681/jhvms.15772

https://epublishing.ekt.gr | **e-Publisher:** EKT | **Downloaded at:** 14/08/2025 09:07:56

ΔΕΛΤΙΟΝ ΕΛΛ. ΚΤΗΝ. ΕΤΑΙΡΕΙΑΣ 1998, 49(3): 189-194

Βιοχημεία, φαρμακολογία και φυσιολογικός ρόλος της σφαιρίνης του πλάσματος που δεσμεύει τις ορμόνες του φύλου

Δημήτρης Κουρέτας[1], Βασίλης Λαλιώτης[3] και Ορφέας Αντώνογλου[2]

ΠΕΡΙΛΗΨΗ. Η πρωτεΐνη που δεσμεύει τα στεροειδή του φύλου (SBP) είναι μια πρωτεΐνη του πλάσματος, η οποία δεσμεύει με μεγάλη συγγένεια ανδρογόνα και οιστρογόνα. Συντίθεται στο ήπαρ και κυκλοφορεί στο πλάσμα διαφόρων ειδών, μεταξύ των οποίων άνθρωπος, πίθηκος, αγελάδα, σκύλος, γάτα και άλλα. Η SBP είναι μια διμερής πρωτεΐνη με μοριακή μάζα που κυμαίνεται ανάμεσα σε 84 και 90 KDa, και δεσμεύει ένα μόριο στεροειδούς σε κάθε διμερές. Η έκφρασή της ρυθμίζεται από πολλές ορμόνες και έχει βρεθεί ότι η οιστραδιόλη επάγει, ενώ η τεστοστερόνη αναστέλλει την έκφρασή της. Ο φυσιολογικόςτης ρόλος δεν είναι απολύτως γνωστός αλλά είναι σχεδόν βέβαιο ότι ρυθμίζει τουλάχιστον τα επίπεδα των βιοδιαθέσιμων κυκλοφορούντων στεροειδών και πειραματική απόδειξη υποστηρίζει το δόγμα ότι τα στεροειδδή που δεν είναι δεσμευμένα είναι αυτά που είναι δραστικά βιολογικά, αφού μπορούν παθητικά να περάσουν την κυτταρική μεμβράνη και να δράσουν. Μετά την ανακάλυψη του μεμβρανικού υποδοχέα της SBP φαίνεται ότι η πρωτεΐνη αυτή παίζει και άλλους βιολογικούς ρόλους εκτός από αυτόν της δέσμευσης των στεροειδών. Συζητούνται όλες οι σύγχρονες απόψεις.

ABSTRACT. Kouretas D, Laliotis V, Antonoglou O. Biochemistry, pharmacology and physiological role of sex hormone binding globulin. *Bulletin of the Hellenic Veterinary Medical Society 1998, 49(3): 189-194.* **Sex steroid binding protein (SBP) is a plasma protein that specifically binds sex steroids with high affinity. It is synthesized in the liver and circulates in the plasma of many species including human, monkey, cattle, dog, cat and others. SBP is a dimeric protein with a Mr ranging between 84-90 KDa and binds one steroid molecule per dimer. Its expression is regulated by many hormones and estradiol promotes while testosterone inhibits its expression. Its physiological role is not known completely, but it is likely to control at least the bioavailable levels of circulating steroids. Experimental evidence from our laboratory and others supports the dogma that non-bound steroids are free to enter the target cells and act. After the discovery of SBP-membrane receptor, it seems that SBP serves also other biological role except that of binding steroids. All recent reports are discussed.**

Λέξεις ευρετηρίασης: οιστρογόνα, ανδρογόνα, πρωτεΐνη δέσμευσης των στεροειδών του φύλου.

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η σφαιρίνη που δεσμεύει τα στεροειδή του φύλου στο πλάσμα (sex steroid binding protein, SBP) βρέθηκε στη δεκαετία του '60[1] και δεσμεύει την 5α-διυδροτεστοστερόνη (DHT) και τεστοστερόνη (T) με μεγάλη συγγένεια, ενώ με μικρότερη τη 17β-οιστραδιόλη (E2)[2]. Η πρωτεΐνη αυτή κυκλοφορεί στο πλάσμα πολλών ειδών, περιλαμβάνοντας τον άνθρωπο, πίθηκο, σκύλο, γάτα, κουνέλι, πρόβατο, αίγα, αγελάδα κ.λ.π., λείπει δε από το πλάσμα του ποντικού και του αρουραίου[3]. Στην παρούσα εργασία γίνεται ανασκόπηση της βιβλιογραφίας μέχρι και το 1997 ως προς τη βιοχημική βάση του μορίου της SBP, τον τρόπο φαρμακολογικής ρύθμισής της, καθώς και το φυσιολογικό ρόλο που παίζει η πρωτεΐνη μέσα στον οργανισμό.

ΒΙΟΧΗΜΕΙΑ

Από τη στιγμή που βρέθηκε η πρωτεΐνη SBP, πολύ γρήγορα διάφορα εργαστήρια προχώρησαν στον καθαρισμό της, ο οποίος όμως δεν ήταν απόλυτος[4]. Το 1976 με τη χρήση της χρωματογρφίας συγγενείας απομονώθηκε για πρώτη φορά η SBP σε καθαρή μορφή[5]. Μέχρι σήμερα έχει απομονωθεί σε καθαρή μορφή SBP από άνθρωπο[6], πίθηκο[7], αγελάδα[8], κουνέλι[9] και σκύλο[10]. Γενικά οι μέθοδοι απομόνωσης χωρίζονται σε δύο κατηγορίες. Εκείνες που χρησιμοποιούν χρωματογραφία συγγενείας (DHT ή T δεσμευμένες πάνω σε αγαρόζη) και εκείνες που στηρίζονται στη χρήση αντισωμάτων. Με την πρώτη μέθοδο η πρωτεΐνη που προκύπτει είναι ικανή να δεσμεύει τα στεροειδή, ενώ με τη δεύτερη μέθοδο στο παρασκεύασμα της καθαρής πρωτεΐνης υπάρχει και ένα ποσοστό το οποίο δεν δεσμεύει τα

[1]*Τμήμα Γεωοπονίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Πεδίον Άρεως, Βόλος.*
[2]*Θεαγένειο Αντικαρκινικό Νοσοκομείο, Ερευνητικό Τμήμα.*
[3]*ΕΘ.Ι.ΑΓ.Ε., Κέντρο Τεχνητής Γονιμοποίησης και Σπερματέγχυσης, Ιωνία-Θεσσαλονίκης.*

Ημερομηνία υποβολής: 14.05.97
Ημερομηνία εγκρίσεως: 24.02.98

στεροειδή, γιατί η ανοσολογική μέθοδος δεν βασίζεται στη βιολογική δράση των πρωτεϊνών που απομονώνονται.

Η απομόνωση της SBP οδήγησε στον προσδιορισμό των φυσικοχημικών ιδιοτήτων της. Σε όλα τα είδη στα οποία μελετήθηκε (άνθρωπος, πίθηκος, κουνέλι) η SBP ήταν μία ομοιοδιμερής πρωτεΐνη με μοριακή μάζα του διμερούς που κυμαινόταν από 84-90 KDa[11]. Η σταθερά αποδέσμευσης Kd για την DHT ήταν για όλα τα είδη περίπου 1 nM[11]. Αργότερα, όταν έγινε ανάλυση αμινοξέων, πιστοποιήθηκε ότι η SBP ήταν μια ομοιοδιμερής πρωτεΐνη[12]. Επίσης βρέθηκε ότι τα στεροειδή παίζουν σημαντικό ρόλο στη βιοσύνθεση της SBP, γιατί παρουσία τους γίνεται σωστή αναδίπλωση και τοποθέτηση του μορίου στο χώρο, έτσι ώστε στη συνέχεια το μόριο της πρωτεΐνης να είναι λειτουργικό και να μπορεί να δεσμεύσει το στεροειδές[13]. Η ανάλυση των αμινοξέων της SBP έδειξε, ότι η SBP του ανθρώπου αποτελείται από 373 αμινοξέα (το μονομερές), με τρεις αλυσίδες υδατανθράκων πάνω στο μόριο και δύο δισουλφιδικούς δεσμούς[12]. Από τις αλυσίδες των υδατανθράκων οι δύο είναι σε N-θέση και η μία σε O-θέση δεσμευμένες[12]. Το μονομερές από κουνέλι είναι μικρότερο κατά 6 αμινοξέα και έχει μόνο τις δύο N-γλυκοσυλιώσεις[14]. Μια ενδιαφέρουσα αλληλουχία βρέθηκε στον άνθρωπο και στο κουνέλι και περιλαμβάνει τα αμινοξέα από Leu 248 έως Gly 291. Το τμήμα αυτό είναι υδρόφοβο και πιθανότατα αποτελεί ένα τμήμα της περιοχής δέσμευσης του στεροειδούς[15], αν και νεότερα δεδομένα εμπλέκουν κάποιο άλλο τμήμα[16]. Η αλληλουχία των αμινοξέων της SBP πιστοποιήθηκε αργότερα με την απομόνωση του c-DNA και του γονιδίου της[17].

Σύγκριση των αλληλουχιών του ανθρώπου και του κουνελιού δείχνει, ότι 79% των αμινοξέων είναι ίδια[12,14]. Με τη βοήθεια ηλεκτρονικού υπολογιστή και ενός ειδικού προγράμματος, το οποίο εφαρμόζεται πλέον σε όλες τις μελέτες για τον καθορισμό βιολογικά σημαντικών περιοχών σε ένα μόριο[18,19], βρέθηκε ότι οι δύο πρωτεΐνες είναι ομόλογες και προήλθαν από το ίδιο γονίδιο. Αργότερα βρέθηκε, ότι και η ABP (androgen binding protein), η οποία εκφράζεται στον όρχι του αρουραίου, ανθρώπου και άλλων ειδών, προήλθε από το ίδιο γονίδιο με αυτό της SBP του ανθρώπου και του κουνελιού, αλλά διαφέρει από αυτές στο γλυκοζιτικό τμήμα[20].

Ανάμεσα στην SBP και τους υποδοχείς των στεροειδών ορμονών δεν βρέθηκε καμία ομοιότητα παρά το ότι και οι δύο πρωτεΐνες δεσμεύουν στεροειδή[21] και λογικά θα έπρεπε να μοιάζουν. Όμως, όταν αργότερα βρέθηκε μία μέθοδος μελέτης της εξέλιξης των πρωτεϊνών[22], φάνηκε ότι τα αμινοξέα που απαρτίζουν την περιοχή δέσμευσης των στεροειδών ήταν ίδια ανάμεσα στην SBP και τους υποδοχείς των στεροειδών, παρ' όλο που η τριτοταγής δομή των δύο πρωτεϊνών δε μοιάζει. Επίσης οι υποδοχείς των στεροειδών ορμονών περιέχουν μια περιοχή που παίζει ρόλο στη δέσμευση, ενώ η SBP έχει δύο ίδιες περιοχές, μία σε κάθε μονομερές και το μήκος της SBP είναι μεγαλύτερο από το αντίστοιχο τμήμα του υποδοχέα. Έτσι είναι πιθανό η SBP να περιέχει στο μόριό της και άλλες ενδιαφέρουσες ιδιότητες εκτός από αυτή της δέσμευσης των στεροειδών.

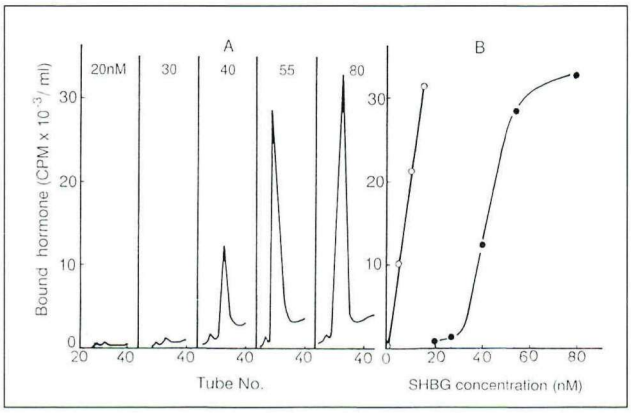
Αμέσως μετά την ανακάλυψη ότι η ABP και η SBP είναι μεταξύ τους ομόλογες, βρέθηκε[23] ότι η ABP ήταν ομόλογη με την πρωτεΐνη -S αγελάδας, μια πρωτεΐνη που εξαρτάται από τη βιταμίνη K. Μάλιστα δε το καρβοξυ-τελικό της SBP ήταν ίδιο με της πρωτεΐνης -S αγελάδας και ανθρώπου[17]. Η πρωτεΐνη -S πιστεύεται ότι παίζει ρόλο στη διαδικασία της πήξης του αίματος, ως συμπαράγοντας της πρωτεΐνης C, μιας πρωτεάσης που διασπά τους παράγοντες πήξης Va και VIIIa[24]. Επίσης φαίνεται να ρυθμίζει και τις λειτουργίες του συμπληρώματος[25]. Οι άλλοι παράγοντες πήξης που εξαρτώνται από τη βιταμίνη K, περιέχουν μια αλληλουχία στο καρβοξυ-τελικό που είναι χαρακτηριστική για τις πρωτεάσες της σερίνης. Η πρωτεΐνη -S όμως περιέχει άλλη αλληλουχία, ίδια με της SBP. Η περιοχή της SBP που δεσμεύει τα στεροειδή δε μοιάζει καθόλου με την αντίστοιχη της πρωτεΐνης -S[17]. Πάντως η βιολογική σημασία της ομοιότητας μεταξύ SBP και πρωτεΐνης -S παραμένει άγνωστη.

Όσον αφορά το θέμα της στοιχειομετρίας στη δέσμευση πρωτεΐνης και στεροειδούς, σήμερα είναι παραδεκτό, ότι ένα μόριο διμερούς δεσμεύει ένα μόριο στεροειδούς[13]. Μάλιστα πιστεύεται ότι το στεροειδές μπαίνει ενδιάμεσα στα δύο μονομερή και για τη δέσμευση συμμετέχουν και τα δύο μονομερή[13].

Προκειμένου να ερευνηθεί ο φυσιολογικός ρόλος της SBP ήταν απαραίτητο να γίνει η απομόνωση του c-DNA, καθώς και του γονιδίου της πρωτεΐνης. Κάτι τέτοιο έγινε στα τέλη της δεκαετίας του '80, αλλά ο δομικός και λειτουργικός χαρακτηρισμός σε γονιδιακό επίπεδο ξεφεύγει του σκοπού της παρούσας εργασίας.

ΦΑΡΜΑΚΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΟΣ ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ SBP

Η ρύθμιση της βιοσύνθεσης της SBP δεν είναι ακόμα πλήρως γνωστή. Μετρήσεις της συγκέντρωσης της SBP σε διάφορες καταστάσεις, ανάμεσα στις οποίες και εγκυμοσύνη, έδειξε ότι η οιστραδιόλη αυξάνει τα επίπεδα της SBP στο πλάσμα, ενώ η τεστοστερόνη τα μειώνει[26]. Αυτό αφορά στον άνθρωπο. Σε πρόσφατες μελέτες σε πρόβατα, οι Kouretas και Laliotis[27] δεν επιβεβαίωσαν τα παραπάνω αποτελέσματα. Έτσι είναι πιθανό η ρύθμιση της SBP από τα στεροειδή του φύλου να είναι διαφορετική στα διάφορα είδη. Βιβλιογραφικά δεδομένα αναφέρουν την επίδραση στεροειδών και άλλων ορμονών στην έκφραση της SBP. Σε κύτταρα καρκίνου του ήπατος HepG2 και τα δύο στεροειδή (T και E2) αυξάνουν την παραγωγή SBP[28], ενώ άλλη εργασία αναφέρει ακριβώς το αντίθετο[29]. Η ινσουλίνη και η προλακτίνη βρέθηκαν να αναστέλλουν την παραγωγή SBP από κύτταρα HepG2[28], και η σωματο-



Δέσμευση των στεροειδών του φύλου στη SBP. Α: Χρωματογράφημα μοριακής διήθησης σε στήλη Sephadex G-100. Διάφορες συγκεντρώσεις SBP φαίνονται στο επάνω μέρος της εικόνας. Β: Καμπύλη δέσμευσης των δύο στεροειδών από τη SBP, βασισμένη στη μοριακή διήθηση.
Οιστραδιόλη ●—● Διυδροτεστοστερόνη ο—ο

(Από τη βιβλιογραφική παραπομπή 35 με την άδεια των συγγραφέων)

μεδίνη C επίσης επηρεάζει την παραγωγή SBP[30].Τα γλυκοκορτικοειδή μειώνουν, ενώ η θυροξίνη αυξάνει τη σύνθεση της SBP[28]. Φαίνεται ότι η ρύθμιση της έκφρασης και παραγωγής της SBP είναι εξαιρετικά σύνθετη και δεν είναι γνωστό ακόμη αν όλες οι ορμόνες που αναφέρθηκαν επηρεάζουν άμεσα ή έμμεσα την έκφραση της SBP.

Μεγάλη προσπάθεια έχει γίνει τα τελευταία χρόνια για να γίνει αντιληπτός ο φυσιολογικός ρόλος της SBP. Λίγο πριν ανακαλυφθεί η SBP, είχε διατυπωθεί από τους Tait και Burnstein[31] η άποψη, ότι τα ελεύθερα στεροειδή είναι εκείνα τα οποία εισέρχονται στους ιστούς στόχους. Έτσι προτάθηκε ότι η νεοανακαλυφθείσα SBP ρυθμίζει τα επίπεδα της ελεύθερης ορμόνης και κατ' επέκταση ελέγχει το ποσό της ορμόνης που εισέρχεται στους ιστούς. Μελέτες έδειξαν ότι ισχύει αυτή η άποψη μιας και ο ρυθμός μεταβολικής κάθαρσης των στεροειδών του φύλου στο πλάσμα ανδρών και ατόμων με χαμηλά επίπεδα SBP ήταν γρηγορότερος από άτομα που έχουν υψηλότερα επίπεδα SBP[32], φανερώνοντας ότι η SBP παίζει ρυθμιστικό ρόλο στο ρυθμό μεταβολικής κάθαρσης των στεροειδών του φύλου. In vitro μελέτες επίσης έδειξαν, ότι η προσθήκη καθαρής SBP σε κύτταρα από καρκίνο του ενδομητρίου και μαστού φαινόταν να αναστέλλει την ενσωμάτωση των στεροειδών στα κύτταρα[33,34], υποστηρίζοντας έτσι ότι τα μη δεσμευμένα στεροειδή είναι και τα ενεργά μιας και αυτά εισέρχονται στα κύτταρα. Πολύ πρόσφατα δε[35] βρέθηκε ότι η οιστραδιόλη και όχι η διυδροτεστοστερόνη δεσμεύεται στη SBP με τρόπο όχι γραμμικό. Συγκεκριμένα, σε μικρές συγκεντρώσεις SBP η οιστραδιόλη δεσμεύεται ελάχιστα, φθάνοντας όμως σε μια κρίσιμη συγκέντρωση SBP η ορμόνη δεσμεύεται σε μεγάλο βαθμό (εικόνα). Αυτό μπορεί να έχει σημαντικές επιπτώσεις στη βιοδιαθεσιμότητα της οιστραδιόλης, αφού με πολύ μικρές μεταβολές στο κυκλοφορούν στο πλάσμα ποσό της SBP, έχουμε τεράστιες μεταβολές στο ποσό της δεσμευμένης ορμόνης[35].

Το αποτέλεσμα της επίδρασης της SBP στη μεταβολική κάθαρση των στεροειδών του φύλου είναι φυσικό επόμενο και αντανακλά την ειδική δέσμευση των ορμονών του φύλου πάνω στην SBP. Όμως αυτή η φυσικοχημική ιδιότητα δεν αποκλείει κάποιον ενεργό ρόλο για την SBP στην ενδοκυττάρια μεταφορά των ορμονών. Το τελευταίο έχει γίνει ιδιαίτερα δημοφιλές μετά την ανακάλυψη ειδικών υποδοχέων για την SBP στη μεμβράνη των κυττάρων στόχων για τα στεροειδή του φύλου[36]. Η μελέτη όμως της επίδρασης του υποδοχέα στη μεταφορά των στεροειδών μέσα στα κύτταρα δεν είναι καθόλου εύκολη, γιατί με την προσθήκη ενός μικρού ποσού του συμπλόκου SBP-στεροειδούς, ο υποδοχέας μπορεί να κορεστεί και η παθητική μεταφορά του στεροειδούς μέσα στα κύτταρα θα είναι εκείνη που κατά κύριο λόγο θα καθορίσει το ποσό που τελικά θα μπει μέσα στα κύτταρα. Έτσι είναι πιθανό η συμμετοχή του συστήματος αυτού στη μεταφορά της ορμόνης μέσα στο κύτταρο να μην μπορέσει να μετρηθεί. Αυτή η πιθανότητα είναι δύσκολο να εξετασθεί, γιατί το πόσο δεσμεύεται η SBP στον υποδοχέα της είναι άγνωστο και μάλιστα μπορεί να ποικίλλει από ιστό σε ιστό και κάτω από διαφορετικές συνθήκες. Έτσι δεν μπορούμε να ξέρουμε τι συγκεντρώσεις στεροειδών χρειάζονται για να γίνει η μέγιστη σύνδεση SBP και υποδοχέα και δεδομένου ότι το ποσό του υποδοχέα είναι πολύ μικρό περιπλέκει ακόμη περισσότερο τα πράγματα. Όμως, παρ' όλα αυτά, υπάρχουν αρκετές πληροφορίες που φαίνεται να υποστηρίζουν κάποιο ρόλο της SBP ως μεταφορέα των στεροειδών του φύλου δια μέσου της μεμβράνης.

Η πρώτη πληροφορία ήρθε όταν ανιχνεύθηκε ανοσοϊστοχημικά η SBP μέσα σε κύτταρα καρκίνου του μαστού ανθρώπου MCF-7, τα οποία προηγούμενα είχαν εκτεθεί σε SBP[37]. Αυτό ήταν ιδιαίτερα σημαντικό, αφού αυτά τα κύτταρα δεν συνθέτουν m-RNA για τη SBP[38], αποκλείοντας έτσι την πιθανότητα για de novo σύνθεση της SBP. Επίσης με ανοσοφθορισμό ανιχνεύθηκε αργότερα η SBP στον προστάτη, όρχι, επιδιδυμίδα, ήπαρ και επινεφρίδια[39,37,40]. Η ερμηνεία των παραπάνω όμως είναι δύσκολη για διάφορους λόγους. Πρώτον, αν και τα αντισώματα για τη SBP δεν αντιδρούν με τους υποδοχείς των στεροειδών ορμονών[37], αντιδρούν με την ABP (androgen binding protein), μία παρόμοια πρωτεΐνη με την SBP, η οποία εκφράζεται στον όρχι[20], αλλά m-RNA γι' αυτήν έχει ανιχνευθεί και στον προστάτη[41]. Έτσι στα παραπάνω πειράματα, εάν η ABP εκφράζεται και σε άλλους ιστούς, τότε είναι πιθανό ο ανοσοφθορισμός να σημαίνει παρουσία της ABP και όχι της SBP. Δεύτερο, τα αντισώματα μπορεί να αναγνωρίζουν διασπασμένη SBP, η οποία εισήλθε στα

κύτταρα μέσω ενός μη ειδικού μηχανισμού κάθαρσης της κυτταρικής μεμβράνης, κάτι που συμβαίνει αρκετές φορές. Βέβαια, αυτό δεν αποκλείει το γεγονός πριν από την ενδοκύτωση το στεροειδές να δεσμεύθηκε έξω από το κύτταρο με την SBP και να εισήλθε μαζί με αυτήν μέσα στο κύτταρο. Αυτό όμως είναι κάτι όχι τόσο για να υποστηριχθεί ότι η SBP παίζει ρόλο στην ενδοκυττάρια μεταφορά των στεροειδών του φύλου.

Οι Strel'chyonok και Avvakumov[36] ήσαν οι πρώτοι που βρήκαν ότι το σύμπλοκο SBP-στεροειδούς δεσμεύεται ειδικά στην κυτταρική μεμβράνη χωρίς να εισέρχεται μέσα στο κύτταρο. Η υπόθεση την οποία έκαναν, έλεγε ότι το σύμπλοκο SBP-στεροειδές δεσμεύεται στη μεμβράνη του κυττάρου και έτσι το στεροειδές παθητικά διαχέεται μέσα στο κύτταρο με μεγαλύτερο ρυθμό από ό,τι απουσία της SBP. Υποστηρικτικά αυτής της υπόθεσης ήταν και τα αποτελέσματα εργασιών που έδειχναν δέσμευση ειδική για ^{125}I-SBP σε μεμβράνες που προερχόταν από ενδομήτριο, συγκυτιοτροφοβλάστη, καλοήθη υπερπλασία του προστάτη και καρκίνο του προστάτη[42,43,44]. Κατεργασία μάλιστα των μεμβρανών με το απορρυπαντικό CHAPS, εκχύλιζε ένα κλάσμα το οποίο είχε δύο σταθερές αποδέσμευσης (Kd) για τη δέσμευση με ^{125}I-SBP: μία της τάξης των 6.8 x10^{-8} M και μία της τάξης των 4,7 x 10^{-6} M[20]. Η μοριακή μάζα της πρωτεΐνης που δέσμευε τη SBP μετρήθηκε με χρωματογραφία μοριακής διήθησης και βρέθηκε να είναι 167 KDa[45]. Αυτά τα αποτελέσματα ήταν σαφώς ενθαρρυντικά και υποστήριζαν την ύπαρξη του μεμβρανικού υποδοχέα της SBP, προκαλούσαν δε για τον παραπέρα βιοχημικό χαρακτηρισμό του υποδοχέα.

Το αποτέλεσμα της επίδρασης DHT, T και E_2 στη δέσμευση της SBP πάνω στον υποδοχέα της, έχει ιδιαίτερο ενδιαφέρον. Οι περισσότερες από τις εργασίες δείχνουν, ότι το σύμπλοκο SBP-στεροειδές δεσμεύεται πολύ ισχυρά πάνω στις μεμβράνες με Kd πολύ μικρότερη από ό,τι η SBP μόνη της πάνω στις μεμβράνες. Επίσης, η δέσμευση έχει σχέση με το στεροειδές. Έτσι, μεμβράνες που έχουν προέλθει από ενδομήτριο, ένα ορμονοεξαρτώμενο ιστό, δεσμεύουν το σύμπλοκο οιστραδιόλης (E_2)-SBP και όχι το σύμπλοκο τεστοστερόνης (T)-SBP[46]. Η Kd της δέσμευσης ήταν 10^{-12}M (στους 4°C), η οποία είναι 100 φορές μικρότερη από τη συγκέντρωση της SBP και της E_2 στο πλάσμα[36], υποστηρίζοντας ότι καθοριστικό ρόλο στη δέσμευση παίζει η συγκέντρωση του υποδοχέα της SBP, αφού η SBP ήταν σε περίσσεια. Μία καμπύλη συγκέντρωσης της οιστραδιόλης έδειξε, ότι καθώς αυξάνεται η συγκέντρωση της οιστραδιόλης, αυξάνεται και η δέσμευση, δείχνοντας ότι η SBP πρέπει πρώτα να συνδεθεί με την ορμόνη για να μπορέσει να συνδεθεί στη συνέχεια με τον υποδοχέα της πάνω στη μεμβράνη[36]. Οι συγγραφείς επίσης υποστηρίζουν ότι η οιστραδιόλη δημιουργεί μία αλλαγή στη διαμόρφωση της SBP και έτσι αυτή δεσμεύεται πάνω στη μεμβράνη. Παρόμοια αποτελέσματα αναφέρονται για μεμβράνες που προήλθαν από ενδομήτριο προεμμηνοπαυσιακό, όπου το σύμπλοκο SBP-E_2 δεσμεύεται με συγγένεια 100 φορές μεγαλύτερη από ό,τι η SBP μόνη της στις μεμβράνες (10^{-11} αντί 10^{-9}M), ενώ η τεστοστερόνη ανέστειλε τη δέσμευση[47]. Επίσης μεμβράνες από συγκυτιοτροφοβλάστη βρέθηκαν να δεσμεύουν τα σύμπλοκα SBP-T και SBP-DHT με Kd της τάξης των 10^{-12} M[42]. Αυτά τα αποτελέσματα είναι σύμφωνα με την παραπάνω υπόθεση.

Από την άλλη μεριά, η ομάδα του Rosner[44,48] αναφέρει, ότι η SBP, όταν δεν είναι δεσμευμένη με το στεροειδές, είναι εκείνη που δεσμεύεται στις μεμβράνες από ιστό προστάτη και η δέσμευση αναστέλλεται από E_2, T και DHT. Προτείνουν δε, ότι το στεροειδές προκαλεί μια μεταβολή στη διαμόρφωση της SBP, η οποία στη συνέχεια δεν μπορεί να ενωθεί με τον υποδοχέα της πάνω στη μεμβράνη.

Αν και το μοντέλο, το οποίο προτείνεται από τον Rosner, είναι ενδιαφέρον, υπάρχουν ορισμένα προβλήματα με αυτό. Πρώτον, η Kd για την ελεύθερη SBP στις μεμβράνες είναι πολύ υψηλότερη από ό,τι η Kd για το σύμπλοκο SBP-στεροειδές που αναφέρεται σε άλλες εργασίες. Έτσι είναι περίεργο η χαλαρή δέσμευση να έχει μεγαλύτερη βιολογική σημασία από την ισχυρή δέσμευση. Δεύτερον, το μοντέλο του Rosner περιγράφει μια αλλοστερική μετατροπή στο μόριο της SBP, το οποίο δε μπορεί στη συνέχεια να ενωθεί με το μεμβρανικό υποδοχέα και έτσι προσθήκη του στεροειδούς στην ήδη δεσμευμένη στον υποδοχέα SBP, απομακρύνει την SBP από τη μεμβράνη. Όμως ακριβώς το αντίθετο έχουν βρει όλοι οι υπόλοιποι, εκτός του Rosner. Τρίτον, ο υποδοχέας που εκχυλίζεται με CHAPS δεσμεύει την ελεύθερη SBP με πολύ μικρότερη συγγένεια, κάτι που δείχνει ότι η κατεργασία με CHAPS έχει απομακρύνει ένα βασικό συστατικό από τον υποδοχέα και έτσι αυτός αδυνατεί να δεσμεύσει την SBP ικανοποιητικά. Τέταρτο, είναι εξαιρετικά δύσκολο να ισχυριστεί κανείς, ότι οι μεμβράνες του ιστού είναι ελεύθερες στεροειδών, δεδομένου ότι οι ιστοί από τους οποίους προήλθαν οι μεμβράνες περιέχουν ικανοποιητικά ποσά στεροειδών, τα οποία μπορεί να ευρίσκονται και στο λιποειδικό τμήμα της μεμβράνης. Το ίδιο βέβαια μπορεί να συμβαίνει και στις άλλες εργασίες, όσον αφορά στο τελευταίο.

Τελικά φαίνεται ότι το μοντέλο που προτείνει ο Avvakumov[36,49] είναι πιο ελκυστικό, μιας και προϋποθέτει τη σύνδεση SBP-στεροειδούς και ακόλουθη σύνδεση του συμπλόκου στη μεμβράνη. Το μοντέλο αυτό έχει και βιολογικά συνεπέστερο από το μοντέλο του Rosner, αφού δίνει στο στεροειδές ένα σημαντικό ρόλο: ρυθμίζει καθοριστικά τη σύνδεση SBP-υποδοχέα και αφού η SBP έχει κάποιο ρόλο στη μεταφορά, δικαιολογείται βιολογικά το μοντέλο που προτείνει ότι το στεροειδές ρυθμίζει θετικά και όχι αρνητικά τη σύνδεση SBP-υποδοχέα.

Ένα άλλο θέμα είναι επίσης το γεγονός, ότι ο υποδοχέας της SBP υπάρχει στον αρουραίο και τον ποντικό σε διάφορους ιστούς, χωρίς αυτά τα είδη να έχουν SBP στο

πλάσμα τους. Αυτό είναι κάτι που χρειάζεται παραπέρα μελέτη και έρευνα. Τελικά δε, ο μηχανισμός της ενδοκύτωσης που σχολιάσθηκε προηγουμένως, πιθανά είναι ένας μηχανισμός κάθαρσης εκ μέρους της μεμβράνης και δεν αντιπροσωπεύει ένα εξειδικευμένο μηχανισμό μεταφοράς. Βέβαια, το αν η δέσμευση SBP-υποδοχέα έχει και άλλο φυσιολογικό ρόλο, εκτός από τη μεταφορά των στεροειδών μέσα στο κύτταρο, είναι ένα θέμα που για χρόνια δεν είχε ερευνηθεί, μέχρις ότου πολύ πρόσφατα, το 1996, η ομάδα του Frairia από το Τορίνο[50], έδειξε, ότι στα κύτταρα του μαστού η προσθήκη οιστρογόνων και SBP αναστέλλει τη μιτωτική δραστηριότητα που έχει στα κύτταρα αυτά η οιστραδιόλη. Αυτή η δράση συμβαίνει μέσω αύξησης του κυκλικού AMP ενδοκυττάρια και φαίνεται ότι η SBP συνδέεται πρώτα με τον υποδοχέα της και στη συνέχεια η οιστραδιόλη δεσμευόμενη στη SBP προκαλεί τη μετάδοση δεύτερων μηνυμάτων, όπως το κυκλικό AMP που κάνει έτσι τον υποδοχέα της SBP μέλος της οικογένειας των υποδοχέων της μεμβράνης που δεσμεύονται με G-πρωτεΐνες.

Έτσι η SBP φαίνεται να παίζει ουσιώδη ρόλο όχι μόνο στη μεταφορά των στεροειδών του φύλου αλλά και στον πολλαπλασιασμό των ορμονοεξαρτώμενων κυττάρων. Αποκτά έτσι ένα νέο ενδιαφέρον μιας και για πολλά χρόνια πολλοί πίστευαν, ότι η SBP δεσμεύει τα στεροειδή είτε τυχαία είτε το πολύ-πολύ ρυθμίζει στο ελάχιστο το ορμονικό προφίλ των διάφορων οργανισμών[51]. Όσον αφορά τη συμμετοχή των στεροειδών του φύλου σε πολλές φυσιολογικές και μη καταστάσεις (γονιμοποίηση, καρκίνος κλπ) η SBP σίγουρα αποκτά μεγάλο ενδιαφέρον. Όμως και όσον αφορά στην εμπλοκή της στο μεταβολισμό του μυϊκού ιστού, αυτό έχει ιδιαίτερη σημασία για τα παραγωγικά ζώα, μιας και πρόσφατα αποδείχθηκε ότι ο μυϊκός ιστός διαθέτει υποδοχείς για τη SBP και μάλιστα τα οιστρογόνα ρυθμίζουν διαφορετικά από ό,τι στον άνθρωπο τα επίπεδα της SBP στο πλάσμα[27].

Επομένως, η πιθανότητα ρύθμισης της ποσότητος της μυϊκής μάζας από τη SBP αποτελεί πρόκληση για παραπέρα μελέτη. Όμως για την κατανόηση του φυσιολογικού ρόλου βιολογικά σημαντικών μορίων είναι απαραίτητη η απομόνωση και ο βιολογικός χαρακτηρισμός τους, κάτι που προκειμένου για τον υποδοχέα της SBP, ακόμη δεν έχει γίνει.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Rosenbaum W., Christy N.P. and Kelly W.G.: Electroforetic evidence for the presence of an estrogen-binding globulin in human plasma. J. Clin. Endocr. Metabol. 1966,26:1399-1405.
2. Kato T. And Horton R.: Studies of testosterone binding globulin. J. Clin Endocr. Metabol. 1968,28:1160-1168.
3. Renoir J-M, Mercier-Bodard C. and Baulieu E.E.: Hormonal and immunological aspects of the phylogeny of sex steroid binding protein. P.N.A.S 1980,77:4578-4582.
4. Gueriguian J.L. Pearleman W.H.:Some properties of a testosterone-binding component of human pregnancy serum. J.Biol.Chem 1968,243:5226- 5233.
5. Mickelson K.E. and Petra P.H.:Purification of the SBP from human serum. Biochemistry 1975,14:957-963.
6. Petra P.H. and Lewis J.: Modification in the purification of SBP of human serum by affinity chromatography.Ana/.Bioch 1980,105:165-169.
7. Turner E.,Ross J.B.A. Namkung P.C. and Petra P.H.: Purification and characterization of the SBP from macaque serum. Comparison with the human protein. Biochemisfry. 1984,23:492-497.
8. Susuki Y., Itagaki E., Mori H. and Hosaya T.: Isolation of testosterone binding globulin from bovine serum by affinity chromatography and its molecular characterization. J. Bioch.1977,81:1721-1732.
9. Susuki Y. and Sinohara H.: Subunit structure of SBP from man, cattle, dog and rabbit. J. Bioch.1984,96:751-759.
10. Susuki Y.,Okumura Y. and Sinohara H.: Purification and characterization of SBP of canine serum.J.Bioch. 1979, 85:1195-1203.
11. Petra P.k.:The SBP: Purification, characterization and immunological properties of the human and rabbit proteins. J. Steroid. Bioch. 1979, 11:245- 252.
12. Walsh K.A., Titani K.,Kumar S.,Hayes R. and Petra P.H.: Amino acid sequence of the SBP of human plasma. Biochemistry. 1986,25:7584-7590.
13. Petra P.H., Stanczyk F.Z., Senear D.F., Namkung P.C., Novy M.J., Ross J., Turner E. And Brown J.A.: Current status of the molecular structure and function of the SBP. J. Sferoid. Bioch. 1983, 19:699-706.
14. Griffin P.R., Kumar S., Shabanowi O J. and Petra P.H.: The amino acid sequence of the SBP of rabbit serum.J.Biol. Chem. 1989,264:19066-1 9075.
15. Petra P.H., Que B.G., Namkung P.C.and Hunt D.F.: Affinity labeling,molecular cloning,and comparative amino acid sequence analyses of SBP.A multidisciplinary aproach for understanding steroid-protein interaction and its physiological role. Ann. N.Y. Acad. Scienc. 1988,538:10-24.
16. Namkung P.C.,Kumar S., Walsh K.A. and Petra P.H.: Identification of Lys- 134 in the steroid binding site of SBP of human plasma. J.Biol.Chem. 1990,265:18345-18350.
17. Gershagen S., Fernlund P. and Lundwall A.:A c-DNA coding for human SBP.Homology to vitamin K- dependent protein S. FEBS Lett. 1987,220:129- 135.
18. Dayhoff M.O., Barker W.C. and Hunt L.T.: Establishing homologies in protein sequences. Mefh. Enzym. 1983, 91:524-545.
19. Kouretas D., Karinch A.,Rishi A., Melchers K. and Floros J.: Conservation analysis of rat and human SP-A identifies 5′ sequences that bind rat lung nuclear proteins. Exp.Lung Res. 1993,19:485-503.
20. Hammond G.L.,Underhill D.A.,Rykse H.M. and Smith C.L.:The human SBP gene contains exons for androgen - binding protein and two other testicular m-RNAs. Molec. Endocr.1989,3:1869-1 876.
21. Bardin C. W., Gunsalus G. L., Musto N. A., Cheng C. Y., Reventos J., Smith C., Undrehill D. A. and Hammond G.: Corticosteroid binding globulin, testosterone-estradiol binding globulin and androgen binding protein families

distinct from steroid receptors.J. Steroid Biochem. 1988, 30: 131-139.

22. Alden R. A., Wright C.S., and Kraut J.: A hydrogen-bond network at the active site of subtilisin BPN . Phil. Trans R. Soc. (London)1970,B257 119-124.
23. Baker M.E., French F. S. and Joseph D. R.: Vitamin K-dependent protein S is similar to rat androgen-binding protein. Biochem. J. 1987,243: 293-296.
24. Walker F. J.: Regulation of activated protein C by protein S. The role of phospholipid in factor Va inactivation. J. Biol. Chem. 1981, 256, 11128- 11131.
25. Dahlback B. and Hildebrand B.: Degradation of human complement component C4b in the presence of the C4b-binding protein-protein S comlex. Biocem. J. 1983,209: 857-863.
26. Antonoglou O., Kouretas D., Pavlidou E.: Επίδραση εξωγενών στεροειδών στα επίπεδα της SBP. 4ο Πανελ. Συν. Ογκολογίας 1987
27. Kouretas D, Laliotis V, Taitzoglou J, Kortsaris A, Boutis L, Lazopoulos C and Antonoglou 0: Purification of SHBG from ram and ewe serum and study of the effect of pregnancy and exogenous estradiol administration on basal SHBG levels. Domestic Animal Endocrinology 1998, στάλθηκε για δημοσίευση.
28. Plymate S. R., Matej L. A., Jones R. E. and Friedl K.E.: Inhibition of sex hormone-binding globulin production in the human hepatoma (Hep G2) cell line by insulin and prolactin. J. Clin. Endocr. Mefab. 1988, 67: 460-464.
29. Rosner W., Aden D. P. and Khan M. S.: Hormonal influences of the secretion of steroid-binding proteins by a human hepatoma-derived cell line. J. Clin. Endocr. Mefab. 1984, 59: 806-808.
30. Schoultz B. V. and Carlstrom K.: On the regulation of sex hormone-binding globulin. A challenge of an old dogma and outlines of an alternative mechanism. J. Steroid Biochem. 1989, 32: 327-334.
31. Tait J. F. and Burstein S.: In vivo studies of steroid dynamics in man. In The Hormones (Edited by G. Pincus, K. V. Thimann and E. B. Astwood). Academic Press, New York, Vol. 5 (1964)pp.441-557.
32. Vermeulen A. L., Verdonck L., Van der Straeten M. and Orie M.: Capacity of the testosterone binding globulin in human plasma and influence of specific binding of testosterone on its metabolic clearance rate. J.Clin. Endocr. Metab. 1969, 29: 1470-1 480.
33. De Ryck L., Ross J.B.A., Petra P. H. and Gurpide E.: Estradiol entry into endometrial cells in suspension. J. Sferoid. Biochem. 1985, 23:145-152.
34. Zegeniadou T., Koliais S., Kortsaris A. and Antonoglou O.: Role of SBP in estradiol uptake by MCF-7 cells. Cancer Bioch. Bioph. 1998, in press.
35. Zegeniadou T., Koliais S., Kouretas D. and Antonoglou O.: Nonlinear binding of sex steroids to SBP. Eur. J. Drug. Metab. 1997, 22, 3, 229-235.
36. Strel'chyonok O.A., Avvakumov G. V. and Survilo L. I.: A recognition system for sex hormone-binding globulin (SHBG) on human prostatic carcinoma. Biochim. Biophys. Acta. 1984, 802: 459-466.
37. Bordin S. and Petra P. H.: Immunocytochemical localization of the plasma sex steroid-binding protein (SBP) in tissues of the adult male monkey, Macaca nemestrina. Proc. Nafn. Acad. Sci. U.S.A. 198077: 5678-5682.
38. Mercier-Bodard C., Baville F., Bideux G., Binart N., Chambraud B. and Baulieu E. E.: Regulation of SBP synthesis in human cancer cell lines by steroid and thyroid hormones. J. Steroid. Biochem.1989, 34: 199-204.
39. Mercier-Bodard C., Radanyi C., Roux C., Groyer M. T., Robel P., Dadoune J. P., Petra P. H., Jolly D. J. and Baulieu E. E.: Cellular distribution and hormonal regulation of hSBP in human hepatoma cells. J. Steroid Biochem. 1987, 27: 297-307.
40. Egloff M., Vendreli E., Tardivel-Lacombe J., Dadoune J.P. and Degrelle H.: Immunohistochemical study of human testis and epididymis with a monospecific antiserum against the sex steroid-binding plasma protein. C. R. Acacf. Sci. Paris . 1982, 111: 107-111.
41. Plymate S.R., Loop S.M., Hoop R.C., Wiren K. M., Ostensen R., Hryb D. J. and Rosner W.: Effects of sex hormone binding globulin (SHBG) on human prostatic carcinoma. J. Steroid Biochem. Molec. Biol., 1991, 40: 833-839.
42. Natalja T., Avvakunov G. V. and Strel'chyonok O. A.: Binding of human sex hormone-binding globulin androgen complexes to the placenta syncytiotrophoblast membrane. Biochem. Biophys. Res. Comm.,1990, 171: 1279-1283.
43. Hryb D. J., Khan M. S. and Rosner W.: Testosterone-estradiol binding globulin binds to human prostatic cell membranes. Biochem. Biophys. Res. Commun.,1985, 128:432-440.
44. Nakhla A. M., Khan M. S. and Rosner W.: Biologically active steroids activate receptor-bound human sex hormone-binding globulin to cause LNCaP cells to accumulate adenosine 3,5-monophosphate.J. Clin. Endocr. Mefab.,1990, 71:398-404.
45. Hryb D. J., Khan M. S., Romas N. A. and Rosner W.: Solubilization and partial characterization of the sex hormone-binding globulin receptor from human prostate. J. Biol. Chem.,1989, 264:5378-5383.
46. Avvakumov G.V., Zhunk N. I. and Strel'chyonok O.A.: Subcellular distibution and selectivity of the protein-binding component of the recognition system for sex-hormone-binding protein-estradiol comlex in human decidual endometrium. Biochim. Biophys. Acta., 1986, 881:489-49.
47. Fortunati N., Fissore F., Farrari f., Farrari A., Berta L., Gindici M. and Frairia R.: Sex steroid protein interacts with a specific receptor on human., Sferoids, 1991, 56:6,341-346.
48. Hryb D. J., Khan M. S., Romas N. A. and Rosner W.: The control of the interaction of sex hormone-binding globulin with its receptor by steroid hormones. J. Biol. Chem. 1990, 265:6048-6054.
49. Strel'chyonok O. A. and Avvakumov G. V.: Specific steroid-binding glycoproteins of human blood plasma: novel data on their structure and function. J. Sferoid Biochem. 1990, 35:519-534.
50. Fortunati N., Fissore F., Fassari A., Becchis M., Comba A., Catalano M. G., Berta L. And Frairia R.: SBP exerts a negative control on estradiol action in MCF-7 cells through c-AMP and protein kinase-A. Endocrinology. 1996, Feb, 137:2, 686-692.
51. Mendel C.M: The free hormone hypothesis: A physiologically based mathematical model. Endocr. Rev. 1989, 232-27.