

Większe przedmenopauzalne stężenia androgenów a pomenopauzalne stężenia estrogenów w surowicy u kobiet z hiperplazją endometrium

Higher premenopausal serum androgen levels and higher postmenopausal estrogen levels in women with endometrial hyperplasia

Olga Kacalska-Janssen, Agnieszka Rajtar-Ciosek, Andrzej Zmaczyński,
Tomasz Milewicz, Tomasz Bereza, Joanna Wiatr, Józef Krzysiek

Klinika Endokrynologii Ginekologicznej Uniwersytetu Jagiellońskiego *Collegium Medicum* w Krakowie;

kierownik Kliniki: prof. dr hab. n. med. Józef Krzysiek

Przeгляд Menopauzalny 2012; 4: 309–318

Streszczenie

Wstęp: Zmiany rozrostowe endometrium są jednym z zasadniczych problemów klinicznych dotyczących kobiet w wieku około- i pomenopauzalnym. Stymulujące działanie estrogenów i czynników wzrostu doprowadza w warunkach prawidłowych w endometrium do zmian proliferacyjnych, natomiast przy przedłużonym ich działaniu dochodzi do zmian rozrostowych. Nienowotworowe rozrosty błony śluzowej trzonu macicy stanowią najpoważniejszy czynnik ryzyka rozwoju raka endometrium.

Cel pracy: Ocena statusu hormonalnego w poszczególnych grupach patologii endometrium.

Materiał i metody: Sto pacjentek w wieku około- i pomenopauzalnym z patologicznymi krwawieniami z dróg rodnych i/lub poszerzonym endometrium widocznym w badaniu ultrasonograficznym przezpochwowym. Na podstawie badania histeroskopowego, potwierdzonego oceną histopatologiczną endometrium, badaną populację podzielono na 4 grupy (osoby z rozrostem endometrium bez atypii, z polipem, z rakiem, grupa kontrolna). Oznaczono stężenia wybranych hormonów, czynników wzrostu i białek wiążących.

Wyniki: Stężenia siarczanu dehydroepiandrosteronu (DHEAS), estradiolu i estronu w surowicy są znacznie większe u kobiet z hiperplazją w porównaniu z grupy kontrolną ($p < 0,05$). Większe stężenia DHEAS i testosteronu występują częściej u pacjentek z hiperplazją przed menopauzą ($p < 0,01$ i $p < 0,05$), natomiast duże stężenia estradiolu i estronu odgrywają istotną rolę w przypadku hiperplazji po menopauzie ($p < 0,05$). Stężenie estronu może być predyktorem wystąpienia hiperplazji endometrium. Ten rodzaj patologii występował istotnie częściej u pacjentek z estronem w surowicy ≥ 174 pg/ml. U 62,5% kobiet z hiperplazją endometrium stwierdzane są duże stężenia IGFBP-3 w surowicy ($> 5,58$ ng/ml), co sugeruje możliwy udział tego czynnika w patogenezie zmian rozrostowych.

Wnioski: Większe niż w grupie kontrolnej stężenia androgenów (DHEAS, testosteron) w surowicy kobiet z hiperplazją przed menopauzą sugerują możliwość udziału androgenów w patogenezie hiperplazji przed menopauzą, podobnie jak większe stężenia estrogenów (estradiol, estron) u kobiet z hiperplazją po menopauzie.

Słowa kluczowe: hiperplazja endometrium, estrogeny, androgeny, menopauza.

Summary

Objectives: To assess the hormonal status of individual groups of endometrial pathology. Prospective observational study.

Material and methods: 100 peri- and postmenopausal women with abnormal uterine bleedings and/or abnormal endometrium. The population of women was divided into four groups according to hysteroscopic examination, confirmed by histopathology (non-atypical endometrial hyperplasia, polyp, cancer, controls). The levels of selected hormones, growth factors and binding proteins were marked.

Results: Serum DHEAS, estradiol and estrone levels are significantly higher in women with hyperplasia in comparison with the control group ($p < 0.05$). Higher concentrations of serum DHEAS and testosterone occur more frequently in premenopausal women with hyperplasia ($p < 0.01$ and $p < 0.05$), whereas high concentra-

tions of estradiol and estrone play an important role in the case of postmenopausal hyperplasia ($p < 0.05$). Concentration of estrone can be a predictor of endometrial hyperplasia. This type of pathology occurred significantly more frequently in patients with serum estrone concentration ≥ 174 pg/ml. High serum levels of IGFBP-3 (> 5.58 ng/ml) occurred in 62.5% of women with endometrial hyperplasia, which suggests possible participation of this factor in the pathogenesis of hyperplastic changes of the endometrium.

Conclusion: Higher serum androgen levels (DHEAS, testosterone) in premenopausal women with hyperplasia than in control group suggest possible participation of androgens in the pathogenesis of premenopausal hyperplasia, similarly to higher concentrations of estrogens (estradiol, estrone) in postmenopausal women.

Key words: endometrial hyperplasia, estrogens, androgens, menopause.

Wstęp

Zmiany rozrostowe endometrium są jednym z zasadniczych problemów klinicznych dotyczących kobiet w wieku około- i pomenopauzalnym. Objawiają się one głównie nieprawidłowymi krwawieniami z dróg rodnych oraz poszerzeniem endometrium w badaniu ultrasonograficznym (USG) i są jedną z częstszych przyczyn hospitalizacji na oddziałach ginekologicznych.

Endometrium jest tkanką obfitującą w receptory steroidowe. W swojej czynności i morfologii zależne jest przede wszystkim od działania estrogenów i progesteronu. Hormony te powodują każdego miesiąca cykliczne przemiany endometrium, począwszy od fazy proliferacyjnej stymulowanej estrogenami, poprzez fazę sekrecyjną, za którą odpowiedzialny jest progesteron. Przy braku lub niedoborze progesteronu, co może być wynikiem cykli bezowulacyjnych, zaburzeń przemiany materii, guzów jajnika produkujących estrogeny bądź też niezrównoważonej terapii estrogenowej, stymulacja endometrium estrogenami pozostaje ciągła i nieprzerwana, co często prowadzi do różnych form jego patologicznego rozrostu [1, 2].

Częstość występowania zmian rozrostowych w obrębie jamy macicy zwiększa się w ostatnich dziesięcioleciach, co wiąże się z trybem życia, postępem cywilizacji i, co za tym idzie, większą częstością występowania otyłości, nadciśnienia tętniczego, cukrzycy typu 2 i stosowania hormonoterapii.

Do spektrum patologicznych zmian endometrium związanych z proliferacją należą, poza rakiem endometrium, polipy endometrialne oraz hiperplazja endometrium [3]. Pomimo iż ryzyko rozwoju zmiany złośliwej w przypadku hiperplazji endometrium bez atypii czy polipów endometrialnych jest bardzo małe, ocena tych zmian jest bardzo ważna, ponieważ są one częstym znaleziskiem w praktyce ginekologicznej i wymagają dalszej diagnostyki.

Cel pracy

Ocena statusu hormonalnego w poszczególnych grupach patologii endometrium.

Materiał i metody

Przed rozpoczęciem badania uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie nr KBET/95/B/2004.

Badaniem prospektywnym objęto grupę 100 pacjentek w wieku około- i pomenopauzalnym, u których występowały jeden lub obydwa poniżej wymienione objawy:

- krwawienia o charakterze *menometrorrhagia* lub *metrorrhagia*,
- poszerzenie endometrium w obrazie USG przezpochwowym (*transvaginal* – TV) (szerokość endometrium u kobiet niemiesiączkujących oraz u kobiet miesiączkujących w 4.–6. dniu cyklu powyżej 5 mm).

U pacjentek tych wykonano następujące badania:

- oznaczenie stężenia w surowicy: 17β -estradiolu, estronu, folikulotropiny (*follicle-stimulating hormone* – FSH), lutropiny (*luteinizing hormone* – LH), insulinopodobnego czynnika wzrostu 1 (*insulin-like growth factor 1* – IGF-1), białka wiążącego insulinopodobny czynnik wzrostu 1 (*insulin-like growth factor-binding protein 1* – IGFBP-1), IGFBP-3, białka wiążącego hormony płciowe (*sex hormone binding globulin* – SHBG), testosteronu, siarczanu dehydroepiandrosteronu (DHEAS), androstendionu,
- określenie wskaźnika masy ciała (*body mass index* – BMI).

U każdej pacjentki przeprowadzono badanie histeroskopowe. W wybranym histeroskopowo obszarze wykonano biopsję endometrium, z której materiał posłano do badania histopatologicznego.

Następnie pacjentki z rozpoznanymi histeroskopowo polipami endometrialnymi zostały zakwalifikowane do zabiegu histeroskopowej resekcji polipa z następczym wyłyżeczkowaniem jamy macicy, w warunkach sali operacyjnej w znieczuleniu ogólnym. U pozostałych pacjentek ze względu na zbyt skąpy materiał z histeroskopowej biopsji endometrium, często niewystarczający do oceny histopatologicznej, wykonano zabieg wyłyżeczkowania jamy macicy. Wycinki endometrium poddano ocenie histopatologicznej.

Badaną populację kobiet na podstawie rozpoznania klinicznego potwierdzonego oceną histopatologiczną endometrium podzielono na 4 grupy pacjentek:

- grupa H – 21 pacjentek z hiperplazją endometrium bez atypii (prostą i złożoną),
- grupa P – 23 pacjentki, u których stwierdzono polip endometrialny,
- grupa R – 8 pacjentek z rakiem endometrium,
- grupa K – 48 pacjentek z histopatologicznie prawidłowym endometrium, które stanowiły grupę kontrolną.

Dokonano porównania czterech grup pacjentek pod względem badanych parametrów i statystycznego opracowania wyników. W przeprowadzonej analizie statystycznej zgromadzonych badań wykorzystano: test niezależności χ^2 do zbadania zależności występowania wybranych czynników od rodzaju schorzenia, jednoczynnikową analizę wariancji oraz test *post hoc* wielokrotnych porównań Duncana do zbadania występowania różnic pomiędzy wynikami badań ilościowych w badanych grupach. Ponadto w analizie statystycznej badano współzależność pomiędzy wiekiem a wybranymi parametrami ilościowymi za pomocą korelacji liniowej Pearsona. Metodą krzywej ROC wyznaczano punkty odcięcia dla wybranych parametrów, powyżej których zwiększa się ryzyko wystąpienia poszczególnej patologii endometrium. Grupą porównawczą dla tych obliczeń była grupa kontrolna. Obliczenia statystyczne wykonano za pomocą pakietu statystycznego STATISTICA 9 PL z wyjątkiem ob-

liczeń metodą krzywej ROC, które wykonano oprogramowaniem statystycznym StatsDirect.

Wyniki

W tabelach I i II przedstawiono charakterystykę kliniczną grup pacjentek z poszczególnym rodzajem patologii endometrium. Pacjentki z czterech badanych grup nie różniły się w zakresie masy ciała ani BMI, jednak większość pacjentek zarówno w obrębie grup z patologią endometrium, jak i w grupie kontrolnej miała nadwagę lub była otyła.

Badane grupy pacjentek różniły się statystycznie zniemiennie wiekiem. Najstarszymi pacjentkami były chore na raka (67,0 \pm 6,97 roku). Pacjentki z polipem były od nich młodsze (57,87 \pm 9,28 roku), jednak istotnie starsze niż te z hiperplazją (49,90 \pm 4,48 roku) czy w grupie kontrolnej (52,48 \pm 5,18 roku).

Nie stwierdzono statystycznie znamienych różnic pomiędzy badanymi grupami w zakresie występowania nadciśnienia tętniczego, stanu przedcukrzycowego, cukrzycy typu 2 i stanu przedcukrzycowego łącznie, otyłości, nadwagi, otyłości i nadwagi łącznie. Cukrzycę typu 2 częściej stwierdzano u pacjentek z rakiem (25%) i z polipem endometrialnym (17,93%) niż w grupie kontrolnej (2,08%) (tab. II).

Tab. I. Charakterystyka poszczególnych grup pacjentek (średnie wartości oznaczeń z odchyleniami standardowymi)

Parametr	Grupa K (n = 48)	Grupa H (n = 21)	Grupa P (n = 23)	Grupa R (n = 8)	Istotność statystyczna p
wiek [lata]	52,48 \pm 5,18	49,90 \pm 4,48	57,87 \pm 9,28	67,0 \pm 6,97	H/P**; H/R***; K/R***; K/P**; R/P*
masa ciała [kg]	75,38 \pm 15,20	73,90 \pm 15,36	77,53 \pm 13,05	79,0 \pm 20,15	NS
BMI [kg/m ²]	29,02 \pm 5,20	27,63 \pm 6,16	29,05 \pm 3,92	29,29 \pm 7,92	NS

*p < 0,05; **p < 0,01; ***p < 0,001

NS – nieistotne statystycznie; H – pacjentki z hiperplazją bez atypii; K – grupa kontrolna; P – pacjentki z polipem endometrialnym; R – pacjentki z rakiem endometrium.

Tab. II. Charakterystyka kliniczna badanych grup pacjentek

	Grupa K (n = 48) [%]	Grupa H (n = 21) [%]	Grupa P (n = 23) [%]	Grupa R (n = 8) [%]	Istotność statystyczna p
po menopauzie	47,92	38,10	65,22	100	K/R**; R/H**; R/P*;
nieprawidłowe krwawienia	56,25	90,48	56,52	87,50	K/H**; H/P*
nieprawidłowe endometrium	56,25	90,48	86,96	100	K/R*; K/H**; K/P*
nieprawidłowe krwawienia + nieprawidłowe endometrium	25	80,95	43,48	87,5	K/H***; K/R***; H/P**; P/R*
nadciśnienie tętnicze	52,08	42,86	47,83	62,50	NS
cukrzyca typu 2	2,08 (1/48)	9,52 (2/21)	17,39 (4/23)	25 (2/8)	K/R**; K/P*
stan przedcukrzycowy	31,25	33,33	30,43	25	NS
cukrzyca typu 2 + stan przedcukrzycowy	33,33	42,86	47,83	50	NS
otyłość	43,75	33,33	47,83	37,50	NS
nadwaga	31,25	38,10	21,74	25	NS
otyłość + nadwaga	75	71,43	69,57	62,50	NS

*p < 0,05; **p < 0,01; ***p < 0,001

NS – nieistotne statystycznie; H – pacjentki z hiperplazją bez atypii; K – grupa kontrolna; P – pacjentki z polipem endometrialnym; R – pacjentki z rakiem endometrium.

Badane grupy pacjentek różniły się statusem menopauzalnym. Stwierdzono statystycznie znamiennej różnicę pomiędzy grupą z rakiem endometrium, w której 100% pacjentek było po menopauzie, a wszystkimi pozostałymi grupami (tab. II).

Nieprawidłowe krwawienia z dróg rodnych występowały znamiennej częściej u pacjentek z hiperplazją endometrium (90,48%) w porównaniu z grupą kontrolną (56,25%) i grupą pacjentek z polipem (56,52%). W przypadku pacjentek z rakiem endometrium u 7 na 8 pacjentek (87,5%) obserwowano nieprawidłowe krwawienia. Nieprawidłowe endometrium w badaniu USG TV stwierdzano istotnie częściej w przypadku wszystkich grup z patologią endometrium (w przypadku raka endometrium było to widoczne u wszystkich pacjentek) w porównaniu z grupą kontrolną.

Współwystępowanie nieprawidłowych krwawień z dróg rodnych oraz nieprawidłowego endometrium w badaniu USG TV stwierdzano istotnie częściej u pacjentek z rakiem (87,5%) i z hiperplazją endometrium (80,95%) w porównaniu z grupą kontrolną (25%), jak również grupą pacjentek z polipem (43,48%) (tab. II).

Duże stężenia estradiolu (> 50 pg/ml) występowały statystycznie znamiennej częściej w grupie H (60%) niż w grupach K (34,09%), R (0%) i P (27,27%) (ryc. 1.).

Duże stężenia estronu (≥ 174 pg/ml) występowały statystycznie znamiennej częściej w grupie H (56,25%) niż w grupie K (22,50%) (ryc. 2.).

Duże stężenia IGFBP-3 (> 5,58 ng/ml) występowały statystycznie znamiennej częściej w grupie H (62,5%) niż w grupie K (31,71%), P (30%) i R (0%) (ryc. 3.).

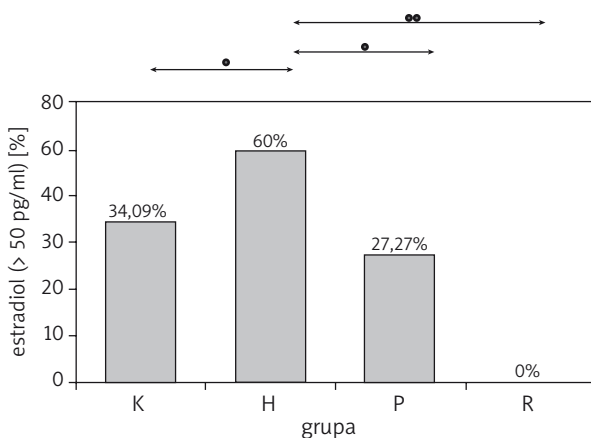
W tabeli III przedstawiono porównanie wartości średnich badanych parametrów pomiędzy poszczególnymi grupami pacjentek. Nie stwierdzono statystycznie znamiennej różnicy pomiędzy badanymi grupami w zakresie wartości średnich takich parametrów, jak androstendion, testosteron, LH, SHBG, wskaźnik wolnych

androgenów (*free androgen index* – FAI), IGF-1, IGFBP-1, IGFBP-3. Różnice statystycznie istotne występowały pomiędzy badanymi grupami dla średniej estradiolu, DHEAS, FSH i estronu (tab. III).

Badając współzależność wieku z wybranymi parametrami w całym materiale (tab. IV), stwierdzono występowanie wyraźnej korelacji ujemnej pomiędzy wiekiem i stężeniem estradiolu, co oznacza, że stężenie tego hormonu w surowicy maleje z wiekiem badanych pacjentek. Stwierdzono występowanie słabej korelacji ujemnej pomiędzy wiekiem a stężeniami DHEAS, androstendionu, IGF-1, IGFBP-3. Oznacza to, że im starsze pacjentki, tym mniejsze stężenia podanych parametrów w surowicy. Słaba korelacja dodatnia występuje pomiędzy wiekiem a stężeniami FSH i LH w surowicy. Oznacza to, że im starsze pacjentki, tym większe stężenia wymienionych parametrów w surowicy.

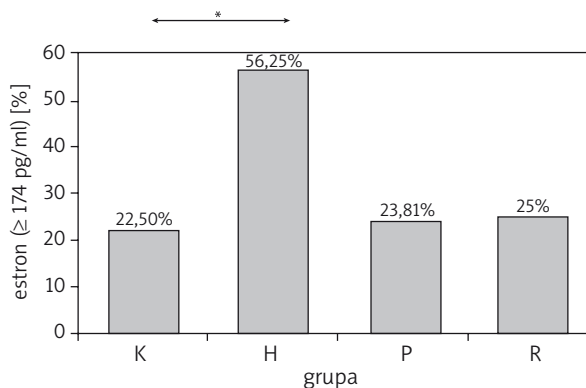
Metodą krzywej ROC wyznaczano punkty odcięcia dla badanych parametrów, powyżej których zwiększa się ryzyko wystąpienia poszczególnej patologii endometrium. Grupą porównawczą dla tych obliczeń była grupa kontrolna. Dla estronu krzywa ROC wykazywała zdolność dyskryminacyjną pomiędzy grupą H i grupą K dla wartości ≥ 174 pg/ml z czułością 56,3% i swoistością 77,5% (ryc. 4.). Stężenie estronu ≥ 174 pg/ml stwierdzono u 22,5% pacjentek z grupy K, a u 56,25% pacjentek z grupy H. Różnice statystycznie znamiennej pomiędzy grupą H i grupą K występowały na poziomie $p = 0,015$. Dla FAI krzywa ROC wykazywała zdolność dyskryminacyjną pomiędzy grupą H i grupą K dla wartości $\geq 2,36$ z czułością 73,3% i swoistością 65,88% (ryc. 5.). W grupie K było 34,15% pacjentek z poziomem FAI $\geq 2,36$, a w grupie H takich pacjentek było 71,43%. Różnice statystycznie znamiennej pomiędzy grupą H i grupą K występowały na poziomie $p = 0,016$.

W tabeli V przedstawiono porównanie średnich wartości wybranych parametrów pomiędzy grupami



* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$

Ryc. 1. Stężenie estradiolu > 50 pg/ml w badanych grupach pacjentek



* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$

Ryc. 2. Stężenie estronu ≥ 174 pg/ml w badanych grupach pacjentek

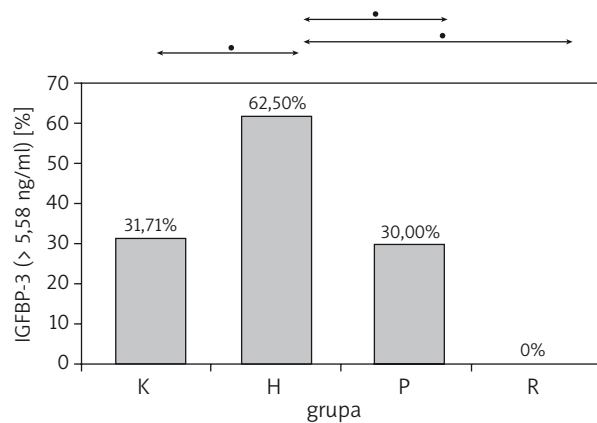
Tab. III. Wyniki badań laboratoryjnych w poszczególnych grupach pacjentek (średnie wartości oznaczeń z odchyleniami standardowymi)

Badany parametr	Grupa K (n = 48)	Grupa H (n = 21)	Grupa P (n = 23)	Grupa R (n = 8)	Istotność statystyczna p
DHEAS [µg/dl]	124,50 ±62,96	175,56 ±75,38	115,01 ±45,75	127,34 ±73,56	K/H*; H/P**
androstendion [ng/ml]	1,16 ±0,61	1,36 ±0,70	1,17 ±0,62	1,06 ±0,41	NS
testosteron [nmol/l]	0,94 ±0,64	1,22 ±0,6	1,05 ±0,45	0,88 ±0,68	NS
SHBG [nmol/l]	50,92 ±28,37	48,39 ±20,41	45,87 ±28,28	41,67 ±12,62	NS
FAI	3,06 ±4,26	3,12 ±1,69	3,07 ±1,88	2,30 ±1,11	NS
FSH [mIU/ml]	44,48 ±43,65	19,63 ±18,80	38,29 ±29,24	56,46 ±24,45	K/H*, H/P*, H/R***
LH [mIU/ml]	23,71 ±19,38	17,34 ±12,02	19,26 ±12,50	25,55 ±14,96	NS
estradiol [pg/ml]	50,31 ±44,42	71,95 ±49,18	43,90 ±42,78	23,71 ±3,05	K/H*, H/R***, H/P**
estron [pg/ml]	125,23 ±100,82	247,63 ±287,56	174,10 ±206,52	112,0 ±130,07	K/H*
IGF-1 [ng/ml]	161,60 ±65,72	156,38 ±50,52	167,95 ±79,60	118,75 ±50,92	NS
IGFBP-1 [ng/ml]	5,60 ±5,08	4,96 ±2,64	6,10 ±6,74	5,73 ±4,74	NS
IGFBP-3 [ng/ml]	4,86 ±1,53	5,44 ±1,34	4,81 ±1,49	4,01 ±1,56	NS

DHEAS – siarczan dehydroepiandrosteronu; SHBG – białko wiążące hormony płciowe (sex hormone binding globulin); FAI – wskaźnik wolnych androgenów (free androgen index); FSH – folikulotropina (follicle-stimulating hormone); LH – lutropina (luteinizing hormone); IGF-1 – insulinopodobny czynnik wzrostu 1 (insulin-like growth factor 1); białko wiążące insulinopodobny czynnik wzrostu 1 (insulin-like growth factor-binding protein 1 – IGFBP-1); IGFBP-3 – białko wiążące insulinopodobny czynnik wzrostu 3 (insulin-like growth factor-binding protein 3); NS – nieistotne statystycznie.

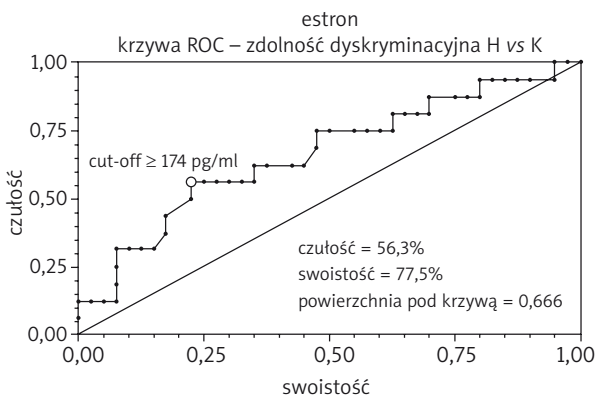
dla pacjentek przed menopauzą. Stwierdzono znamienne większe średnie stężenia DHEAS u pacjentek przed menopauzą w grupie H (197,98 ±75,93 µg/dl) w porównaniu z pacjentkami z grupy K (118,52 ±58,67 µg/dl) i grupy P (119,59 ±34,72 µg/dl). Ponadto średnie stężenie testosteronu w grupie H (1,38 ±0,62 nmol/l) było znamienne większe niż w grupie K (0,90 ±0,64 nmol/l).

W tabeli VI zawarto porównanie średnich wartości badanych parametrów pomiędzy grupami dla pacjentek po menopauzie. Badane grupy pacjentek różniły się statystycznie znamienne wiekiem. Średnia wieku pacjentek w grupie R wynosiła 67,0 ±6,97 roku, w grupie K 55,22 ±4,94 roku, w grupie H 53,88 ±3,09 roku, a w grupie P 63,07 ±6,69 roku. Pacjentki w grupie R oraz w grupie P były statystycznie znamienne starsze od pacjentek z grupy H i grupy K. Średnie stężenie estradiolu było znamienne większe w grupie H (36,13 ±11,70 pg/ml) niż w pozostałych grupach, natomiast średnie

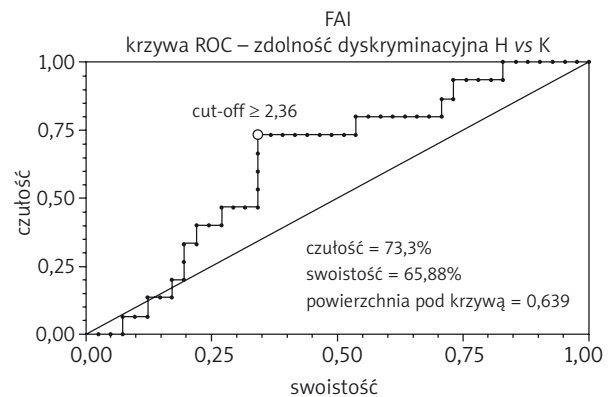


*p < 0,05; **p < 0,01; ***p < 0,001

Ryc. 3. Stężenie IGFBP-3 > 5,58 ng/ml w badanych grupach pacjentek



Ryc. 4. Zdolność dyskryminacyjna estronu – H vs K – określona metodą krzywej ROC



Ryc. 5. Zdolność dyskryminacyjna wskaźnika wolnych androgenów (FAI) – H vs K – określona metodą krzywej ROC

Tab. IV. Współzależność wieku z wybranymi parametrami w całym materiale

Zmienne korelowane ze sobą		R	Istotność współczynnika korelacji p	Korelacja
wiek	DHEAS	-0,352	0,001	słaba korelacja ujemna
wiek	androstendion	-0,345	0,002	słaba korelacja ujemna
wiek	testosteron	-0,117	0,285	
wiek	SHBG	-0,115	0,302	
wiek	FAI	-0,045	0,667	
wiek	FSH	0,355	0,000	słaba korelacja dodatnia
wiek	LH	0,294	0,009	słaba korelacja dodatnia
wiek	estradiol	-0,427	0,000	wyraźna korelacja ujemna
wiek	estron	-0,026	0,817	
wiek	IGF-1	-0,212	0,057	słaba korelacja ujemna
wiek	IGFBP-1	-0,022	0,846	
wiek	IGFBP-3	-0,208	0,063	słaba korelacja ujemna

R – współczynnik korelacji liniowej Pearsona; DHEAS – siarczan dehydroepiandrosteronu; SHBG – białko wiążące hormony płciowe (sex hormone binding globulin); FAI – wskaźnik wolnych androgenów (free androgen index); FSH – folikulotropina (follicle-stimulating hormone); LH – lutropina (luteinizing hormone); IGF-1 – insulinopodobny czynnik wzrostu 1 (insulin-like growth factor 1); białko wiążące insulinopodobny czynnik wzrostu 1 (insulin-like growth factor-binding protein 1 – IGFBP-1); IGFBP-3 – białko wiążące insulinopodobny czynnik wzrostu 3 (insulin-like growth factor-binding protein 3).

Tab. V. Badane parametry w poszczególnych grupach pacjentek przed menopauzą (średnie wartości oznaczeń z odchyleniami standardowymi)

Badany parametr	Grupa K (n = 25)	Grupa H (n = 13)	Grupa P (n = 8)	Istotność statystyczna p
wiek [lata]	49,96 ±4,05	47,46 ±3,31	48,13 ±3,83	NS
masa ciała [kg]	75,13 ±14,89	69,25 ±11,88	74,29 ±14,29	NS
BMI [kg/m ²]	28,71 ±4,97	25,74 ±4,53	27,34 ±4,43	NS
DHEAS [µg/dl]	118,52 ±58,67	197,98 ±75,93	119,59 ±34,72	K/H**; P/H*
androstendion [ng/ml]	1,40 ±0,61	1,17 ±0,57	1,62 ±0,68	NS
testosteron [nmol/l]	0,90 ±0,64	1,38 ±0,62	0,94 ±0,43	K/H*
SHBG [nmol/l]	54,35 ±29,94	48,62 ±22,23	54,33 ±35,41	NS
FAI	3,08 ±4,68	3,48 ±1,45	2,34 ±1,35	NS
FSH [mIU/ml]	21,26 ±22,73	11,78 ±8,37	10,28 ±12,75	NS
LH [mIU/ml]	14,79 ±14,10	7,48 ±5,21	7,79 ±6,98	NS
estradiol [pg/ml]	68,04 ±46,67	91,24 ±51,09	83,19 ±51,00	NS
estron [pg/ml]	197,50 ±230,96	145,48 ±108,34	192,91 ±171,24	NS
IGF-1 [ng/ml]	190,13 ±103,85	151,57 ±57,26	153,55 ±54,99	NS
IGFBP-1 [ng/ml]	5,97 ±5,87	4,95 ±2,90	8,16 ±9,20	NS
IGFBP-3 [ng/ml]	4,73 ±1,29	5,32 ±1,38	4,88 ±1,93	NS

*p < 0,05; **p < 0,01; ***p < 0,001

NS – nieistotne statystycznie; H – pacjentki z hiperplazją bez atypii; K – grupa kontrolna; P – pacjentki z polipem endometrialnym; BMI – wskaźnik masy ciała (body mass index); DHEAS – siarczan dehydroepiandrosteronu; SHBG – białko wiążące hormony płciowe (sex hormone binding globulin); FAI – wskaźnik wolnych androgenów (free androgen index); FSH – folikulotropina (follicle-stimulating hormone); LH – lutropina (luteinizing hormone); IGF-1 – insulinopodobny czynnik wzrostu 1 (insulin-like growth factor 1); białko wiążące insulinopodobny czynnik wzrostu 1 (insulin-like growth factor-binding protein 1 – IGFBP-1); IGFBP-3 – białko wiążące insulinopodobny czynnik wzrostu 3 (insulin-like growth factor-binding protein 3).

stężenie estronu było znamienne większe w grupie H (368,00 ±458,74 pg/ml) niż w grupie K (102,84 ±89,31).

Dyskusja

Błona śluzowa trzonu macicy to jedyna w organizmie kobiety tkanka, która regularnie w cyklach miesięcznych ulega zmianom martwiczym i złuszcza się, co

objawia się krwawieniem. Regulacja cyklu miesięcznego zachodzi pod wpływem złożonego układu hormonalnego, obejmującego podwzgórze, przedni płat przysadki i jajnik. Błona śluzowa pod względem zarówno czynnościowym, jak i morfologicznym podlega wpływom przede wszystkim 17β-estradiolu i progesteronu. Stymulujące działanie estrogenów i czynników wzrostu doprowadza w warunkach prawidłowych w endome-

Tab. VI. Badane parametry w poszczególnych grupach pacjentek po menopauzie (średnie wartości oznaczeń z odchyleniami standardowymi)

	Grupa K (n = 23)	Grupa H (n = 8)	Grupa P (n = 15)	Grupa R (n = 8)	Istotność statystyczna p
wiek [lata]	55,22 ±4,94	53,88 ±3,09	63,07 ±6,69	67,00 ±6,97	K/P***; K/R***; H/P***; H/R***
masa ciała [kg]	75,63 ±15,86	83,20 ±18,34	79,27 ±12,58	79,00 ±20,15	NS
BMI [kg/m ²]	29,35 ±5,51	31,41 ±7,63	30,06 ±3,39	29,29 ±7,92	NS
DHEAS [µg/dl]	129,91 ±67,58	121,74 ±41,77	111,96 ±53,13	127,34 ±73,56	NS
androstendion [ng/ml]	1,16 ±0,66	0,77 ±0,12	1,03 ±0,61	1,06 ±0,41	NS
testosteron [nmol/l]	0,97 ±0,66	0,84 ±0,43	1,12 ±0,47	0,88 ±0,68	NS
SHBG [nmol/l]	47,65 ±27,11	47,94 ±18,59	40,23 ±22,30	41,67 ±12,62	NS
FAI	3,04 ±3,94	2,39 ±2,08	3,56 ±2,07	2,30 ±1,11	NS
FSH [mIU/ml]	67,70 ±47,47	36,62 ±24,46	54,30 ±23,13	56,46 ±24,45	NS
LH [mIU/ml]	31,30 ±20,31	21,40 ±18,91	27,61 ±8,09	25,55 ±14,96	NS
estradiol [pg/ml]	30,88 ±32,98	36,13 ±11,70	21,44 ±7,92	23,71 ±3,05	K/H*, H/P*, H/R**
estron [pg/ml]	102,84 ±89,31	368,00 ±458,74	159,69 ±198,44	112,00 ±130,07	K/H*
IGF-1 [ng/ml]	172,68 ±73,95	162,60 ±44,05	154,31 ±61,16	118,75 ±50,92	NS
IGFBP-1 [ng/ml]	5,20 ±4,15	4,99 ±2,29	4,82 ±4,66	5,73 ±4,74	NS
IGFBP-3 [ng/ml]	5,00 ±1,79	5,69 ±1,34	4,76 ±1,24	4,01 ±1,56	NS

* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$

NS – nieistotne statystycznie; H – pacjentki z hiperplazją bez atypii; K – grupa kontrolna; P – pacjentki z polipem endometrialnym; R – pacjentki z rakiem endometrium; BMI – wskaźnik masy ciała (body mass index); DHEAS – siarczan dehydroepiandrosteronu; SHBG – białko wiążące hormony płciowe (sex hormone binding globulin); FAI – wskaźnik wolnych androgenów (free androgen index); FSH – folikulotropina (follicle-stimulating hormone); LH – lutropina (luteinizing hormone); IGF-1 – insulinopodobny czynnik wzrostu 1 (insulin-like growth factor 1); białko wiążące insulinopodobny czynnik wzrostu 1 (insulin-like growth factor-binding protein 1 – IGFBP-1); IGFBP-3 – białko wiążące insulinopodobny czynnik wzrostu 3 (insulin-like growth factor-binding protein 3).

trium do zmian proliferacyjnych w gruczołach i w podścielisku, natomiast przy przedłużonym ich działaniu dochodzi do zmian rozrostowych [4].

Szacuje się, że nieprawidłowe krwawienia maciczne, które stanowią jeden z głównych objawów zmian rozrostowych endometrium, są przyczyną nawet 20% wszystkich wizyt u ginekologa i bardzo często prowadzą do leczenia operacyjnego [5]. Ponadto ocenia się, że 25% wszystkich wykonywanych operacji ginekologicznych związanych jest z występowaniem nieprawidłowych krwawień z dróg rodnych [6].

W przedstawionym badaniu spośród pacjentek z nieprawidłowymi krwawieniami z dróg rodnych i/lub z poszerzonym endometrium widocznym w badaniu USG wyłoniono kobiety z trzema rodzajami zmian patologicznych w endometrium (21% – hiperplazja bez atypii, 23% – polip endometrialny, 8% – rak endometrialny) oraz grupę z prawidłowym histopatologicznie i histoskopowo endometrium (48%). Następnie dokonano porównania badanych parametrów pomiędzy grupami i podjęto próbę wyłonienia cech charakterystycznych dla poszczególnych patologii endometrialnych. Niewątpliwie mała reprezentacja kobiet z rakiem endometrium ogranicza wnioski dotyczące tej grupy pacjentek.

U pacjentek z hiperplazją stwierdzono największe stężenia zarówno estronu, estradiolu, jak i DHEAS w surowicy ($p < 0,05$ w stosunku do grupy kontrolnej). Przy zastosowaniu podziału pacjentek w zależności od wy-

stępowania menopauzy różnice te były jeszcze bardziej widoczne. Wówczas u pacjentek przed menopauzą z rozpoznaną hiperplazją stwierdzano największe stężenia DHEAS i testosteronu w surowicy (p odpowiednio $< 0,01$ i $< 0,05$ w stosunku do grupy kontrolnej), natomiast u kobiet po menopauzie z tą patologią endometrium stwierdzano największe stężenia estradiolu i estronu ($p < 0,05$ w stosunku do grupy kontrolnej). Należy tu również zauważyć, że powyższe zależności występowały, mimo że pacjentki ze wszystkich czterech badanych grup nie różniły się pomiędzy sobą w zakresie masy ciała, jak również BMI, niemniej jednak większość pacjentek w każdej z grup stanowiły kobiety z nadwagą i/lub otyłością.

Biorąc pod uwagę przeprowadzoną w pracy własnej analizę krzywej ROC, stężenie estronu okazało się również dobrym predyktorem wystąpienia hiperplazji endometrialnej. Zaobserwowano, że ten rodzaj patologii endometrium występował istotnie częściej u pacjentek ze stężeniami estronu w surowicy ≥ 174 pg/ml (czułość 56,3%, swoistość 77,5%, $p = 0,015$).

W piśmiennictwie można spotkać doniesienia, wg których ryzyko wystąpienia hiperplazji i raka endometrium wzrasta u kobiet ze zwiększonymi stężeniami androstendionu i testosteronu w surowicy zarówno przed menopauzą, jak i po menopauzie [7, 8]. Testosteron w znaczącej części powstaje z prekursorów w tkankach obwodowych (ok. 50%), głównie z androstendionu i w mniejszej ilości z dehydroepiandrosteronu (DHEA),

a pozostałe 30–50% pochodzi z jajników i nadnerczy. Androstendion natomiast jest wytwarzany w jednakowych ilościach przez nadnercza i jajniki. Główna droga powstawania androstendionu w nadnerczach prowadzi poprzez DHEA [9].

Dehydroepiandrosteron i jego siarczan (DHEAS) powstają głównie w nadnerczach. Wydaje się, że DHEAS służy jako prekursor, który w tkankach obwodowych oraz w nadnerczach ulega desulfatacji do wolnego DHEA, który to następnie ulega konwersji najpierw do androstendionu, a później do silnie działających androgenów i/lub estrogenów [10, 11]. Obwodowa konwersja z androgenów, głównie z androstendionu, jest źródłem większości estronu. Dochodzi do niej w tkance tłuszczowej, wątrobie, nerkach i swoistych jądrach podwzgórza. Wielkość konwersji zależy od wieku, płci i masy ciała. U kobiet po menopauzie przeciętny wskaźnik konwersji w porównaniu z kobietami w wieku rozrodczym ulega podwojeniu [12].

Związek stężenia androgenów w surowicy z ryzykiem rozwoju raka endometrium tłumaczy się wtórnym zwiększeniem stężenia estrogenów niezrównoważonych przez progesteron. U pacjentek przed menopauzą nadmierna jajnikowa produkcja androgenów prowadzi do atrezji pęcherzyków i może powodować przewlekły brak owulacji, a co za tym idzie – małe stężenie progesteronu. Dodatkowe dowody na związek pomiędzy rakiem endometrium a jajnikową produkcją androgenów pochodzą z obserwacji, że u kobiet z rakiem endometrium często w wywiadzie stwierdza się zespół policystycznych jajników [7, 8]. Z kolei u pacjentek po menopauzie z rakiem endometrialnym stwierdzano zwiększone stężenie LH, który to hormon najprawdopodobniej powodował zwiększoną jajnikową produkcję androgenów. Aromatyzacja w tkance tłuszczowej androgenów pochodzenia zarówno jajnikowego, jak i nadnerczowego prowadzi do zwiększonych stężeń estronu i estradiolu w surowicy. Dodatkową rolę może odgrywać aktywność aromatazy w komórkach raka endometrium i desmoplastycznym zrębie otaczającym komórki guza [8, 13].

Analiza krzywych ROC w pracy własnej wykazała także, że wartość FAI $\geq 2,36$ występowała istotnie częściej u pacjentek z hiperplazją niż u kobiet bez patologii endometrialnej, co sprawia, że wskaźnik ten może być kolejnym parametrem różnicującym te dwie grupy pacjentek (czułość 73,3%, swoistość 65,88%, $p = 0,016$). Wartość FAI uzależniona jest od stężenia testosteronu i SHBG w surowicy, im większe stężenie testosteronu i mniejsze stężenie SHBG, tym wyższa wartość FAI.

Uważa się, że kluczowym czynnikiem regulującym syntezę SHBG w wątrobie jest insulina, która wpływa na zmniejszenie stężenia tego białka w surowicy. Z kolei małe stężenie krążącego SHBG powoduje zwiększenie stężenia niezwiązanych, biodostępnych estrogenów oraz testosteronu [7]. W wielu badaniach wykazano związek małego stężenia SHBG w surowicy kobiet zarówno przed menopauzą, jak i po menopauzie ze zwiększonym ryzy-

kiem rozwoju raka endometrium [14, 15]. W pracy własnej nie wykazano znamiennej różnicy w średnich stężeniach SHBG i testosteronu w surowicy pomiędzy grupą z hiperplazją a grupą kontrolną (poza różnicą w średnim stężeniu testosteronu pomiędzy kobietami przed menopauzą), a także różnicy pomiędzy średnimi wartościami wskaźników FAI w tych grupach pacjentek. Niemniej jednak, opierając się na wspomnianej analizie krzywej ROC, można stwierdzić, że wyniki przeprowadzonego projektu pozostają w zgodzie z wynikami przytoczonych badań.

Podsumowując – wpływ androgenów oraz powstającego wskutek ich aromatyzacji estronu, a także estradiolu jest widoczny w przypadku hiperplazji endometrium, natomiast nie stwierdzono takich zależności dla polipów endometrialnych. Mimo że w piśmiennictwie postulowano wpływ estrogenów na patogenezę polipów endometrialnych [16], na podstawie niniejszego badania nie można potwierdzić tych obserwacji. Niewykluczone także, że estrogeny są syntetyzowane miejscowo w obrębie polipów endometrialnych i dlatego u tych pacjentek nie stwierdzono zwiększonych stężeń estrogenów. Niemniej jednak zagadnienie to z pewnością wymaga dalszych badań i obserwacji.

Kolejne zagadnienie podjęte w niniejszym projekcie to próba określenia roli układu IGF w kancerogenezie raka endometrium. W przedstawionym badaniu porównano stężenia czynnika IGF-1 oraz białek wiążących IGF-FBP-1 i IGF-FBP-3 w surowicy pomiędzy czterema grupami pacjentek. Nie stwierdzono znamiennych różnic w średnich stężeniach wymienionych czynników.

Według niektórych badaczy stężenia krążących IGF-1, IGF-FBP-1 i IGF-FBP-3 wydawały się nie mieć wpływu na ryzyko rozwoju raka endometrium lub wpływ ten był bardzo niewielki [17, 18–20]. Z kolei Ayabe i wsp. obserwowali większe stężenia IGF-1 i mniejsze stężenia IGF-FBP-1 u pacjentek z rakiem endometrium [21]. Natomiast Oh i wsp. stwierdzili mniejsze stężenia IGF-FBP-3 w surowicy kobiet z rakiem endometrium [22]. Ogólnie uważa się, że układ IGF może odgrywać rolę w progresji do raka endometrium, ale nie jest związany z jego zainicjowaniem [23].

Co ciekawe, porównując częstość występowania zwiększonego stężenia IGF-FBP-3 ($> 5,58$ ng/ml), zaobserwowano częstsze niż w pozostałych grupach pacjentek występowanie takiego poziomu tego białka wiążącego u pacjentek z hiperplazją endometrium (62,5%; $p < 0,05$). W związku z tym pojawia się pytanie, czy IGF-FBP-3 może być czynnikiem proliferacyjnym komórek endometrialnych?

Funkcja genu *IGFBP-3* była jak dotąd szeroko studiowana w różnych narządach i tkankach, wielu badaczy zajmujących się tym zagadnieniem sugerowało sprzyjającą proliferacji rolę IGF-FBP-3 [24]. Neuenschwander i wsp. podali, że u myszy, u których występowała wzmocniona ekspresja IGF-FBP-3, proces involucji gruczołów piersiowych po przebyciu ciąży jest osłabiony w związku z hamowaniem apoptozy [25]. W innym

modelu transgenicznej myszy z nadmierną ekspresją IGFBP-3 wykazano kardio- i hepatosplenomegalię [26]. Ponadto zaobserwowano, że w fibroblastach bydłowych i w liniach komórkowych raka piersi IGFBP-3 związany z błoną komórkową inicjuje działanie IGF poprzez aktywację kinazy fosfatydylo-3-inozytolu [27, 28]. W trakcie innych badań z kolei stwierdzono, że IGFBP-3 wzmacnia proliferacyjne efekty działania EGF w liniach komórkowych raka piersi poprzez zwiększenie fosforylacji receptora dla EGF i aktywację szlaków sygnalizacyjnych kinaz białkowych [29]. Opisywane były także działania IGFBP-3 niezależne od działania IGF, kiedy to aktywność transkrypcyjna tego białka wiążącego pośredniczona była poprzez receptory błony komórkowej, takie jak receptor dla transformującego czynnika wzrostu β (*transforming growth factor* β – TGF- β) [27, 30].

Stwierdzone w pracy zwiększone stężenie tego białka wiążącego u kobiet z hiperplazją endometrium może być wynikiem stosunkowo młodego wieku pacjentek. Według wcześniejszych doniesień wraz z wiekiem stężenie IGF-1 i IGFBP-3 w surowicy zmniejsza się [31–33], podczas gdy stężenie IGFBP-1 nie wykazuje korelacji z wiekiem [31]. Obserwacje własne, na podstawie których w całym badanym materiale stwierdzono słabą korelację ujemną pomiędzy wiekiem a stężeniami IGF-1 oraz IGFBP-3 oraz brak takiej korelacji ze stężeniem IGFBP-1, potwierdzają te doniesienia. Jednak biorąc pod uwagę zbliżony wiek pacjentek z hiperplazją i pacjentek bez zmian patologicznych w endometrium, można przypuszczać, że białko wiążące IGFBP-3 może odgrywać pewną rolę w proliferacji endometrium.

Wnioski

Większe niż w grupie kontrolnej stężenia androgenów (DHEAS, testosteron) w surowicy kobiet z hiperplazją przed menopauzą sugerują możliwość udziału androgenów w patogenezie hiperplazji przed menopauzą, podobnie jak większe stężenia estrogenów (estradiol, estron) u kobiet z hiperplazją po menopauzie. Ponadto u kobiet z hiperplazją endometrium częściej obserwuje się zwiększone stężenia IGFBP-3 w surowicy (> 5,58 ng/ml), co u części kobiet może sugerować udział IGFBP-3 w patogenezie zmian rozrostowych, kliniczna predykcyjność tego parametru jest jednak niska.

Piśmiennictwo

- Marsden DE, Hacker NF. Optimal management of endometrial hyperplasia. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2001; 15: 393-405.
- Szymańska B, Gardyszewska A, Pabich J, Czajkowski K. Rozrosty endometrium: skuteczność leczenia naturalnym mikronizowanym progesteronem podawanym dopochwowo. *Przeegl Menopauz* 2006; 2: 75-9
- Nagele F, O'Connor H, Davies A, et al. 2500 outpatient diagnostic hysteroscopies. *Obstet Gynecol* 1996; 88: 87-92.
- Goluda M. Stany przedrakowe błony śluzowej trzonu macicy. W: Markowska J (red). *Onkologia ginekologiczna*. Urban & Partner, Wrocław 2002; 638-55.
- Polotsky AJ, Santoro N. Uterine disease in midlife and beyond: the menopausal transition and postmenopause. W: Aplin JD, Fazleabas AT, Glasser SR, Giudice LC (eds.). *The endometrium. Molecular, Cellular, and Clinical Perspectives*. Informa UK Ltd, London 2008; 785-96.
- Albers JR, Hull SK, Wesley RM. Abnormal uterine bleeding. *Am Fam Physician* 2004; 69: 1915-26.
- Kaaks R, Lukanova A, Kurzer MS. Obesity, endogenous hormones, and endometrial cancer risk: a synthetic review. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2002; 11: 1531-43.
- Carroll KK. Obesity as a risk factor for certain types of cancer. *Lipids* 1998; 33: 1055-9.
- Skalba P. *Endokrynologia ginekologiczna*. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa 2003.
- Labrie F, Bélanger A, Simard J, et al. DHEA and peripheral androgen and estrogen formation: intracrinology. *Ann NY Acad Sci* 1995; 774: 16-28.
- Burger HG. Androgen production in women. *Fertil Steril* 2002; 77 Suppl 4: S3-5.
- Skalba P. *Estrogeny*. W: Skalba P (red). *Hormonalna terapia zastępcza*. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa 2002; 65-77.
- Emons G, Fleckenstein G, Hinney B, et al. Hormonal interactions in endometrial cancer. *Endocr Relat Cancer* 2000; 7: 227-42.
- Potischman N, Hoover RN, Brinton LA, et al. Case-control study of endogenous steroid hormones and endometrial cancer. *J Natl Cancer Inst* 1996; 88: 1127-35.
- Pettersson B, Bergström R, Johansson ED. Serum estrogens and androgens in women with endometrial carcinoma. *Gynecol Oncol* 1986; 25: 223-33.
- Lee SC, Kaunitz AM, Sanchez-Ramos L, Rhatigan RM. The oncogenic potential of endometrial polyps: a systematic review and meta-analysis. *Obstet Gynecol* 2010; 116: 1197-205
- Lukanova A, Zeleniuch-Jacquotte A, Lundin E, et al. Prediagnostic levels of C-peptide, IGF-I, IGFBP -1, -2 and -3 and risk of endometrial cancer. *Int J Cancer* 2004; 108: 262-8.
- Weiderpass E, Brismar K, Bellocco R, et al. Serum levels of insulin-like growth factor-I, IGF-binding protein 1 and 3, and insulin and endometrial cancer risk. *Brit J Cancer* 2003; 89: 1697-704.
- Augustin LS, Dal Maso L, Franceschi S, et al. Association between components of the insulin-like growth factor system and endometrial cancer risk. *Oncology* 2004; 67: 54-9.
- Lacey JV Jr, Potischman N, Madigan MP, et al. Insulin-like growth factors, insulin-like growth factor-binding proteins, and endometrial cancer in postmenopausal women: results from a U.S. case-control study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2004; 13: 607-12.
- Ayabe T, Tsutsumi O, Sakai H, et al. Increased circulating levels of insulin-like growth factor-I and decreased circulating levels of insulin-like growth factor binding protein-1 in postmenopausal women with endometrial cancer. *Endocr J* 1997; 44: 419-24.
- Oh JC, Wu W, Tortolero-Luna G, et al. Increased plasma levels of insulin-like growth factor 2 and insulin-like growth factor binding protein 3 are associated with endometrial cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2004; 13: 748-52.
- Bigsby RM, Bethin KE. Paracrine mediators of endometrial growth and differentiation. In: Aplin JD, Fazleabas AT, Glasser SR, Giudice LC (eds.). *The endometrium. Molecular, cellular, and clinical perspectives*. Informa UK Ltd, London 2008; 223-44.
- Gielen SC, Hanekamp EE, Blok LJ, et al. Steroid-modulated proliferation of human endometrial carcinoma cell lines: any role for insulin-like growth factor signaling? *J Soc Gynecol Investig* 2005; 12: 58-64.
- Neuenschwander S, Schwartz A, Wood TL, et al. Involution of the lactating mammary gland is inhibited by the IGF system in a transgenic mouse model. *J Clin Invest* 1996; 97: 2225-32.
- Murphy LJ, Molnar P, Lu X, Huang H. Expression of human insulin-like growth factor-binding protein-3 in transgenic mice. *J Mol Endocrinol* 1995; 15: 293-303.
- Conover CA, Bale LK, Durham SK, Powell DR. Insulin-like growth factor (IGF) binding protein-3 potentiation of IGF action is mediated through the phosphatidylinositol-3-kinase pathway and is associated with alteration in protein kinase B/AKT sensitivity. *Endocrinology* 2000; 141: 3098-103.
- Chen JC, Shao ZM, Sheikh MS, et al. Insulin-like growth factor-binding protein enhancement of insulin-like growth factor-I (IGF-I)-mediated DNA synthesis and IGF-I binding in a human breast carcinoma cell line. *J Cell Physiol* 1994; 158: 69-78.

29. Martin JL, Weenink SM, Baxter RC. Insulin-like growth factor-binding protein-3 potentiates epidermal growth factor action in MCF-10A mammary epithelial cells. Involvement of p44/42 and p38 mitogen-activated protein kinases. *J Biol Chem* 2003; 278: 2969-76.
30. Mohseni-Zadeh S, Binoux M. Insulin-like growth factor (IGF) binding protein-3 interacts with the type 1 IGF receptor, reducing the affinity of the receptor for its ligand: an alternative mechanism in the regulation of IGF action. *Endocrinology* 1997; 138: 5645-8.
31. Janssen JA, Stolk RP, Pols HA, et al. Serum free IGF-I, total IGF-I, IGFBP-1 and IGFBP-3 levels in an elderly population: relation to age and sex steroid levels. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1998; 48: 471-8.
32. Copeland KC, Colletti RB, Devlin JT, McAuliffe TL. The relationship between insulin-like growth factor-I, adiposity, and aging. *Metabolism* 1990; 39: 584-7.
33. Cohen P, Ocran I, Fielder PJ, et al. Insulin-like growth factors (IGFs): implications for aging. *Psychoneuroendocrinol* 1992; 17: 335-42.