

# *Udział polimorfizmu genetycznego w biosyntezie estrogenów. Ryzyko nowotworów hormonozależnych*

Małgorzata Kalemba-Drożdż<sup>1</sup>, Maria Kapiszewska<sup>1\*</sup>

## **Streszczenie**

Stężenie steroidowych hormonów płciowych w organizmie zależne jest od czynników fizjologicznych, środowiskowych i genetycznych. Poziom estrogenów oraz ich dostępność w organizmie zależy w dużej mierze od aktywności enzymów biorących udział w ich syntezie i katabolizmie oraz siły wiązania estrogenów przez specyficzne białka transportowe i receptory estrogenowe. Wszystkie te białka kodowane są przez polimorficzne geny, co sprawia, że każda osoba charakteryzuje się odmiennymi zdolnościami metabolizowania estrogenów. Natomiast metabolizm estrogenów jest czynnikiem modyfikującym ryzyko zachorowania na nowotwory hormono-zależne.

*Słowa kluczowe: estradiol, polimorfizm genetyczny, kancerogeneza, CYP, COMT*

## *Genetic polymorphism in biosynthesis of estrogens. The risk of hormone-dependent neoplasms*

### **Abstract**

The sex steroid hormones levels depend on the physiological, environmental and genetic factors. The concentration of estrogens and their bioavailability is determined by the activity of enzymes involved in estrogens synthesis, catabolism and the strength of estrogens interaction with specified binding proteins and receptors. All the above proteins are coded by polymorphic genes, which leads to high inter-individual differences in estrogens metabolizing abilities. Whereas the estrogens metabolism is the factor which modulates the risk of hormone-dependent cancers.

*Key words: estradiol, genetic polymorphism, cancerogenesis, CYP, COMT*

---

\* Rozdział został sfinansowany w ramach grantu Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego Nr N N303 2403 33.  
1 – Wydział Zdrowia i Nauk Medycznych, Krakowska Akademia im. Andrzeja Frycza Modrzewskiego.

## Wprowadzenie

Estrogeny są uważane za czynnik kancerogeny, ale stwierdzono także, że w pewnych warunkach mogą wykazywać działanie przeciwtleniające. Natomiast ryzyko nowotworów hormonozależnych wzrasta proporcjonalnie do czasu całkowitej kumulatywnej ekspozycji na estrogeny w ciągu życia kobiety (Mitrunen, 2003; Hiraku, 2001). Stężenie steroidowych hormonów płciowych w organizmie zależne jest od czynników fizjologicznych, środowiskowych i genetycznych. Poziom estrogenów w organizmie warunkuje w dużej mierze aktywności enzymów biorących udział w ich syntezie i katabolizmie, kodowanych m.in. przez polimorficzne geny. Polimorfizm genetyczny to występowanie alternatywnych sekwencji DNA u części populacji (częściej niż u 1%); mogą powodować zmianę: aminokwasu w kodowanym białku, poziomu ekspresji genu lub stabilności transkryptu. Polimorfizm często dotyczy tylko jednego nukleotydu (SNP – *single nucleotide polymorphism*). Polimorfizmy omawianych genów mogą być skorelowane z odmienną podatnością na nowotwory piersi, szyjki macicy oraz mogą być wskaźnikiem wczesnego dojrzewania płciowego, jak pokazały wyniki wielu badań epidemiologicznych (Griffits, 2002; Lai, 2001).

## Białka wiążące estrogeny

W 98% estrogeny w krążeniu występują w postaci związanej z białkami osocza: albuminą oraz globuliną wiążącą sterydy płciowe (SHBG – Sex Hormon Binding Globulin). Niezwiązane z białkami hormony sterydowe mają zdolność przenikania przez błonę komórkową i wiązania się z receptorem cytoplazmatycznym. W obrębie genu kodującego SHBG, zlokalizowanego na 17 chromosomie, zidentyfikowano ponad 10 miejsc polimorficznych (Thompson, 2008). Obecność zmutowanych alleli SHGB oraz zmienność ekspresji genu pod wpływem np.: estrogenów, modyfikuje poziom tej globuliny. Stwierdzono, że wysokie stężenie SHBG we krwi jest skorelowane z mniejszym ryzykiem raka piersi, macicy, prawdopodobnie wskutek zmniejszonego stężenia wolnych hormonów w osoczu (Nagel, 2004; Dunning, 2004).

Oddziaływanie hormonów steroidowych odbywa się poprzez receptory steroidowe obecne w cytoplazmie i jądrze docelowych komórek. Kompleks dimerycznego receptora estrogenowego (ER) związanego z estrogenem pełni rolę jądrowego czynnika transkrypcyjnego w kompleksie polimerazy RNA II zależnej od DNA, który wiąże się do regulatorowych sekwencji EREs (Estrogen Response Elements) w rejonie promotorowym docelowych genów oraz do aktywacji acetylotransferazy histonów, uruchamiając ekspresję genów i np.: stymulując komórkę do podziału.

Zarówno ER- $\alpha$ , jak i ER- $\beta$  występują w licznych formach polimorficznych. W genie kodującym receptor estrogenowy typu *alfa* występują dwa pojedynczonukleotydowe

polimorfizmy w obrębie intronu 1 oraz dwunkleotydydowe powtórzenia (GT) powyżej eksonu 1D, które są związane z modyfikacją ryzyka nowotworów piersi (Boyapati, 2005) prawdopodobnie poprzez zmianę ilości dostępnych receptorów ER- $\alpha$ . W genie kodującym receptor estrogenowy typu beta występują polimorfizmy w obrębie eksonów 5 i 7 (Aschim, 2005), które nie zmieniając sensu informacji genetycznej, mogą istotnie wpływać na stabilność genetyczną komórek poprzez modyfikację siły wiązania estrogenów lub ich oddziaływania z DNA.

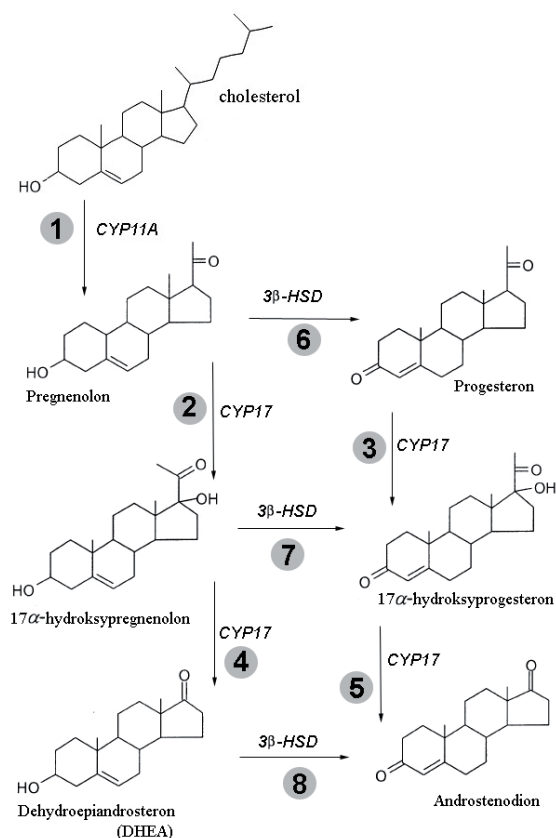
## Biosynteza estradiolu

Steroidowe hormony płciowe powstają z cholesterolu przy udziale hydroksylaz systemu cytochromu P450, NADPH i tlenu cząsteczkowego. Enzymami odpowiedzialnymi za proces biosyntezy estrogenów są: desmolaza cholesterolowa (CYP11A1), 17 $\alpha$ -hydroksylaza (CYP17), aromataza (CYP19) oraz dehydrogenaza 17 $\beta$ -hydroksysteroidowa (17 $\beta$ -HSD).

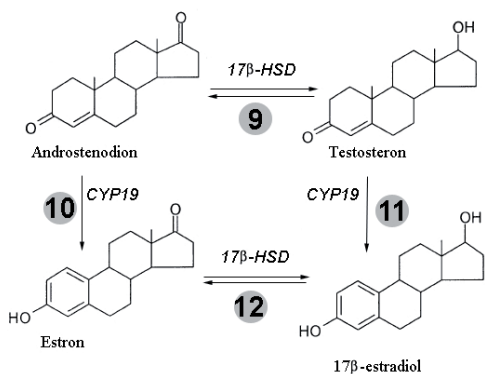
Pierwszy etap biosyntezy estrogenów u kobiet w wieku reprodukcyjnym przebiega w komórkach otoczki wewnętrznej jajników. W tym etapie z cholesterolu powstaje testosteron i androstenodion (Ryc. 1). Dalsze reakcje tego szlaku odbywają się w komórkach ziarnistych (Ryc. 2). Estrogeny są także syntetyzowane przez podskórne komórki tłuszczowe i komórki nabłonkowe sutka, zaś w czasie ciąży produkowane są przez łożysko.

Pierwszym enzymem szlaku biosyntezy hormonów sterydowych jest desmolaza cholesterolowa, czyli cytochrom P450 $\alpha$  11A (CYP11A1) (EC 1.14.15.6). Katalizuje ona reakcję przekształcenia cholesterolu w pregnenolon poprzez odszczepienie łańcucha bocznego (reakcja 1). Gen CYP11A1 jest zlokalizowany na dłuższym ramieniu chromosomu piętnastego (15q24). W rejonie niekodującym 5' genu CYP występuje polimorfizm mikrosatelitarny, polegający na występowaniu powtórzeń pentanukleotydydowych [TTTTA]<sub>n</sub>. Zakłada się, że polimorfizm ten podnosi ryzyko wystąpienia zespołu policystycznych jajników (Modugno, 2004).

Kolejne etapy syntezy hormonów sterydowych katalizuje enzym CYP17 (cytochrom P450c17) (EC 1.14.99.9), posiadający aktywność 17 $\alpha$ -hydroksylazy i 17,20-liazy. Jedno z centrów aktywnych enzymu odpowiada za 17 $\alpha$ -hydroksylację pregnenolonu (reakcja 2) i progesteronu (reakcja 3) do ich 17 $\alpha$ -hydroksylowych pochodnych. Drugie centrum aktywne katalizuje reakcję przekształcenia 17 $\alpha$ -hydroksypregnenolonu w dehydroepiandrosteron (DHEA) (reakcja 4) oraz 17 $\alpha$ -hydroksyprogesteronu w androstenodion (reakcja 5). Centra aktywne CYP17 odpowiedzialne za hydroksylację i hydrolizę podlegają niezależnej regulacji. Aktywność 17,20-liazowa cytochromu CYP17 decyduje o wielkości frakcji pregnenolonu i progesteronu, jaka posłuży do syntezy hormonów płciowych, a jaka do syntezy hormonów kory nadnerczy: kortyzolu (w warstwie pasmowatej) i aldosteronu (w warstwie kłębkowatej) (Kristensen, 2005).



Ryc. 1. Synteza 17β-estradiolu. Etapy od cholesterolu do androstenodiolu



Ryc. 2. Synteza 17β-estradiolu. Etapy od androstenodiolu do 17β-estradiolu.  
Opis kolejnych reakcji w tekście

Gen CYP17 zawiera 8 eksonów i jest położony na dłuższym ramieniu 10 chromosomu (10q24.3). Polimorfizm genu CYP17 występujący w rejonie 5' genu nie objętym transkrypcją, wynikający z transycji tyminy na cytozynę w pozycji -27 nazwano polimorfizmem A2. Tworzy on kasetę CCACC powyżej promotora genu, sekwencję rozpoznawaną przez czynnik transkrypcyjny SP1, co hipotetycznie może zwiększać częstość inicjacji transkrypcji genu. Pokazano, że kobiety w wieku rozrodczym posiadające ten zmutowany allel CYP17 mają wyższe stężenie estrogenów we krwi w porównaniu do kobiet posiadających allel dziki (A1) (Miyoshi, 2003; Jasińska, 2006). Nie udało się jednak w badaniach *in vitro* wykazać zwiększenia częstości inicjacji transkrypcji genu z tą polimorficzną zmianą. Także ten polimorficzny allel skorelowany jest ze wzrostem ryzyka wystąpienia nowotworów piersi (Mitrinen, 2003, Ahsan, 2005).

Dehydrogenaza 3 $\beta$ -hydroksysteroidowa (3 $\beta$ -HSD,  $\Delta$ 5,4-izomeraza), EC 1.1.1.145, to enzym odpowiadający za izomeryzację pregnenolonu do progesteronu (reakcja 6), 17 $\alpha$ -hydroksypregnenolonu do 17 $\alpha$ -progesteronu (reakcja 7) i DHEA do androsteonodionu (reakcja 8) oraz 16 $\beta$ -hydroksydehydroepiandrosteronu do 16 $\beta$ -hydroksyandrostenedionu. W genie 3 $\beta$ -HSD występują przynajmniej 4 polimorfizmy, które modyfikują sekwencję aminokwasów białka i 7 innych, które być może wpływają na poziom ekspresji białka (Wang, 2007).

Następnie androstenedion zostaje przekształcany w testosteron przez dehydrogenazę 17 $\beta$ -hydroksysteroidową (17 $\beta$ -HSD) (EC 1.1.1.51) [116] (reakcja 9). Gen zlokalizowany na 10 chromosomie (10p14,15) i występuje w nim m.in. polimorfizm Ser312Gly (A/G), wiązany z modyfikacją ryzyka raka endometrium (Dumas, 2010).

Aromataza (EC 1.14.14.1), czyli enzym kodowany przez gen CYP19, katalizuje końcowy etap trzystopniowego utlenienia w reakcji konwersji androstenedionu w estron (reakcja 10) oraz testosteronu w 17 $\beta$ -estradiol (reakcja 11). Aktywność aromatazy decyduje o ostatecznym stężeniu 17 $\beta$ -estradiolu (Milczarek, 2005).

Gen CYP19 leży na dłuższym ramieniu chromosomu 15 (15q21.2) i zawiera dziesięć eksonów. Ekson 1 występuje w kilku kopiach, zaopatrzonych we własne rejony promotorowe. Ekspresja genu aromatazy jest tkankowo-specyficzna a regulacja odbywa się przez wykorzystanie alternatywnych promotorów. W genie CYP19 występuje polimorfizm polegający na występowaniu od 7 do 12-krotnych tetranukleotydowych powtórzeń o sekwencji TTTA w obrębie intronu 4, z dodatkowym jeszcze najkrótszym allelem z 7 powtórzeniami sekwencji w połączeniu z delecją trzech nukleotydów TCT powyżej regionu mikrosatelitarnego (Ahsan, 2005; Berstein, 2004). Badania prowadzone na różnych populacjach wykazują odmienną podatność na nowotwory hormonozależne u kobiet posiadających różne allele CYP19. Zwiększenie ryzyka raka endometrium (szczególnie allel z 10-krotnym powtórzeniem) i piersi (allel [TTTA]<sub>12</sub>) jest związane z najdłuższymi sekwencjami. Pociąga to za sobą większą ekspresję genu i co za tym idzie wyższą syntezę 17 $\beta$ -estradiolu. Natomiast allel najkrótszy (7-krotne powtórzenie tetranukleotydowe

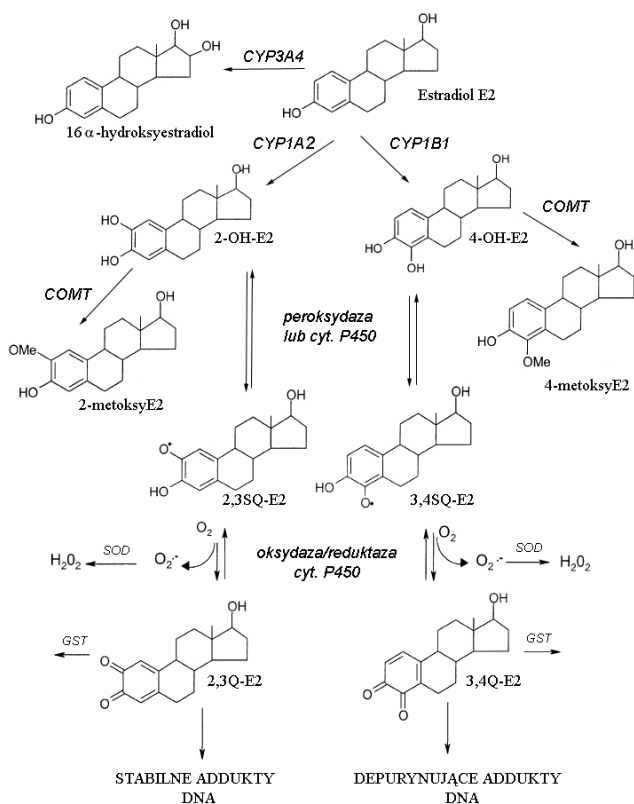
z delecją 3 par zasad [TTTA]<sub>7-3</sub>) jest wiązany z podniesieniem ryzyka zachorowalności na nowotwory piersi ER-pozytywne.

W genie kodującym aromatazę, oprócz polimorfizmu mikrosatelitarnego, występuje pojedynczonukleotydomy polimorfizm w niekodującym rejonie 3'. Tranzycja tyminy na cytozynę powoduje spadek stabilności transkryptu.

17 $\beta$ -estradiol może być odwracalnie utleniany do estronu przez dehydrogenazę 17 $\beta$ -hydroksysteroidową (17 $\beta$ -HSD) (reakcja 12) i/lub do estriolu pod wpływem aromatazy z 16-hydroksyandrogenodionu.

## I faza katabolizmu estradiolu

17 $\beta$ -estradiol usuwany jest z organizmu w procesach detoksyfikacyjnych fazy I i II (Ryc. 3).



Ryc. 3. Podstawowe szlaki katabolizmu 17 $\beta$ -estradiolu (E2).

Enzymy I fazy detoksyfikacji: CYP1A2, CYP1B1.

Enzymy II fazy detoksyfikacji: COMT (0-metyltransferaza katecholowa) i GST (transferaza glutationowa).

W przypadku, gdy utlenione metabolity estradiolu nie zostaną inaktywowane przez enzymy II fazy detoksyfikacji, mogą oddziaływać z materiałem genetycznym, tworząc addukty do zasad azotowych DNA.

Produktami katabolizmu w obrębie pierścienia A są estrogeny katecholowe 2- i 4-hydroksyestradiol oraz 2- i 4-hydroksyestron, natomiast w wyniku katabolizmu estrogenów w obrębie pierścienia D powstają 16 $\alpha$ -hydroksyestron i estriol.

CYP1B1 jest głównym enzymem odpowiedzialnym za hydroksylację 17 $\beta$ -estradiolu przy węglu w pozycji 4. Cytochrom P4501B1 ulega ekspresji w tkankach takich jak: serce, mózg, płuca, łożysko, nerki, macica, jajniki, piersi (Lai, 2001). Oprócz estrogenów, enzym ten katabolizuje liczne związki heterocykliczne jak np.: PAH, aminy arylowe, TCDD (tetrachlorodibenzenodioksyny). CYP1B1 ulega konstytutywnej ekspresji, przy czym może ona być dodatkowo indukowana przez wspomniane heterocykliczne substraty za pomocą receptora aryłowęgłowodorowego AhR (Aryl Hydrocarbon Receptor).

CYP1B1 jest genem polimorficznym składającym się z 3 eksonów, leżącym na 2 chromosomie (2p21-p22). Występuje w nim 6 pojedynczonukletydowych polimorfizmów (SNP) (Mitrunen, 2003). Należą do nich: tranzycja cytozyny na tyminę w intronie 1; transwersja cytozyny na guaninę w obrębie eksonu 2 (kodon 48) powodująca zmianę argininy na glicynę; transwersja G na T w eksonie 2 zmieniająca sens kodonu 119 (alanina na serynę); zamiana G na C w eksonie 3 powodująca, że zamiast waliny wbudowywana jest leucyna w kodonie 432; tranzycja cytozyny na tyminę w kodonie 449 (bez zmiany sensu); oraz tranzycja adeniny na guaninę w kodonie 453 (asparagina na serynę). Polimorficzne zmiany w sekwencji 2 i 3 eksonu mają wpływ na zmianę własności katalitycznych białka. Mutacja w kodonie 432 w obrębie eksonu 3, który koduje domenę wiążącą hem, powoduje, iż taki enzym wykazuje 2-4-krotnie wyższą aktywność katalityczną w porównaniu do białka dzikiego typu (Lai, 2001; Sasaki, 2004). Wysoka aktywność CYP1B1 może prowadzić do wzrostu stężenia 4-hydroksyestradiolu w surowicy oraz do zmiany stosunku pomiędzy 4- i 2-hydroksyłowymi pochodnymi.

Wyniki badań epidemiologicznych wskazują, że polimorfizmy w kodonach 119 oraz 432 są związane ze wzrostem ryzyka zachorowania na raka endometrium oraz piersi (Mitrunen, 2003; Galicchio, 2006; Miyoshi, 2003).

Jednym z enzymów hydroksylujących 17 $\beta$ -estradiol i 17 $\beta$ -estron przy węglu w pozycji 2 pierścienia A jest cytochrom P4501A1. Gen ten ulega ekspresji w tkankach niewątrobowych takich jak: płuca, piersi, limfocyty, łożysko, jednak nie konstytutywnie i bez indukcji trudno nam zaobserwować obecność mRNA cytochromu 1A1. Podobnie jak CYP1B1, CYP1A1 odpowiada za aktywację związków policyklicznych w I fazie detoksyfikacji. Opisano siedem polimorfizmów występujących w obrębie sekwencji genu CYP1A1 leżącego na dłuższym ramieniu chromosomu 15 (15q23) (Lai, 2001).

Dwa z nich, oznaczane jako polimorfizmy m1 oraz m2, są fenotypowo związane ze wzrostem aktywności enzymu (Berstein, 2004). Polimorfizm m1 to tranzycja tyminy na cytozynę w 3' niekodującym odcinku genu w pozycji oddalonej o 250 par zasad od miejsca poliadenylacji, która powoduje zmianę w regulacji ekspresji genu i wydłużenie czasu półtrwania transkryptu w cytoplazmie. Natomiast polimorfizm m2 to tranzycja adeniny na guaninę w eksonie 7, kodującym domenę wiążącą hem, która prowadzi do wbudowywania izoleucyny zamiast waliny w kodonie 462. Sugerowany jest związek polimorficznych form CYP1A1, kodujących enzym o wyższej aktywności ze wzrostem ryzyka zapadnięcia na nowotwory piersi (Miyoshi, 2003). CYP1A1 ze względu na niską specyficzność, katalizuje również reakcję hydroksylacji pierścienia A w pozycji 4. Proporcja pomiędzy produktami 4-hydroksylacji i 2-hydroksylacji wynosi dla CYP1A1 1:4.

CYP1A2 jako najbardziej aktywny enzym odpowiedzialnym za 2-hydroksylację 17 $\beta$ -estradiolu i estronu (EC 1.14.14.1.) ma gen zlokalizowany na 15 chromosomie, który ulega ekspresji wyłącznie w wątrobie osób dorosłych. Wystąpienie transwersji A do C w intronie 1 (pozycja 734) powoduje wzmoczenie indukcji ekspresji tego genu. U osób będących nosicielami tego polimorfizmu stwierdzono przewagę 2-hydroksylacji nad 4-hydroksylacją, prowadząc do obniżenia negatywnego wpływu estrogenów na tkanki (Lai, 2001). CYP1A2 w retikulum endoplazmatycznym może katalizować również hydroksylację estrogenów w pozycji 4, jednak te reakcje przebiegają zdecydowanie w mniejszym stopniu niż hydroksylacja w pozycji 2. 2-hydroksypochodne 17 $\beta$ -estradiolu uważane są za czynnik antyproliferacyjny (Mitrunen, 2003).

Inną drogą metabolizmu 17 $\beta$ -estradiolu i estronu u kobiet jest ich 16 $\alpha$ -hydroksylacja katalizowana przez cytochrom CYP3A4. To również główny enzym odpowiedzialny za katabolizm testosteronu przez 6 $\beta$ - 2 $\beta$ - i 15 $\beta$ -hydroksylację. Zwiększona hydroksylacja w pozycji węgla 16 wydaje się być skorelowana z podniesionym ryzykiem zachorowania na nowotwory piersi (Lai, 2001). Cytochromy P4503A, ze względu na dość niską specyficzność katalizy, odpowiadają również za 2-hydroksylację estrogenów (około 1/3 puli 2-hydroksyestradiolu jest produktem reakcji katalizowanej przez CYP3A4). Wystąpienie tranzycji adeniny na guaninę w 5' regionie regulatorowym genu CYP3A4 (polimorfizm 1B) powoduje zmianę aktywności enzymu. Stwierdzono, iż ta mutacja wiąże się ze spadkiem aktywności hydroksylacji w pozycji 6 oraz wzrostem aktywności 16 $\alpha$ -hydroksylacji polimorficznego enzymu w stosunku do białka dzikiego (Murayama, 2007). CYP3A4 ulega inhibicji w obecności  $\alpha$ -tokoferolu i luteiny oraz ketokonazolu i progesteronu, natomiast jego aktywność rośnie pod wpływem kwercetyny, brokułów i substancji z dymu tytoniowego oraz glukokortykoidów. Sugerowane jest występowanie wyższego poziomu testosteronu u kobiet będących homozygotami zmutowanego allelu. Polimorfizm 1B genu CYP3A4 jest skorelowany z występowaniem wczesnego miesiączkowania u dziewcząt oraz podniesieniem ryzyka zachorowania na raka piersi.



Potwierdza to wysoki poziom 16-hydroksyestronu występujący m.in. w nowotworach piersi, endometrium i szyjki macicy. 16 $\alpha$ -hydroksyestron ma wyższe powinowactwo do ER niż 17 $\beta$ -estradiol [10]. Sugeruje się również, że 16 $\alpha$ -hydroksyestron stymuluje produkcję prostacyklin przez komórki nabłonkowe naczyń krwionośnych (Mueck, 2002). Ponadto stwierdzono, iż 16 $\alpha$ -hydroksyestron wpływa na obniżenie ekspresji receptorów estrogenowych.

## II Faza detoksyfikacji

Katecholowe estrogeny są inaktywowane na drodze *O*-metylacji, glukuronizacji, sulfatacji lub skoniugowania z glutationem. Koniugacja katecholowych estrogenów z którąś z powyższych grup blokuje ich potencjał hormonalny oraz uniemożliwia dalsze utlenianie do reaktywnych wolnorodnikowych związków w cyklu semichinonowym. Reakcje II fazy detoksyfikacji są istotne, ponieważ jeśli do nich nie dojdzie, w trakcie cyklicznych reakcji utleniania i redukcji katecholowych pochodnych estrogenów i przechodzenia pomiędzy formami chinon – hydrochinon z udziałem tlenu cząsteczkowego generowane są duże ilości anionorodnika ponadtlenkowego. Anionorodnik ponadtlenkowy może być redukowany enzymatycznie lub nieenzymatycznie do nadtlenu wodoru i dalej do innych RFT. Generowanie RFT prowadzi do nasilenia się stanu stresu oksydacyjnego w komórce.

RFT powstają również w wyniku alternatywnych reakcji nieenzymatycznych estrogenów katecholowych z jonami metali. Produkty pośrednie tych przemian mogą modyfikować zasady azotowe, wprowadzać pojedyncze pęknięcia do nici i oksydacyjne uszkodzenia DNA.

Główną drogą inaktywacji 2- i 4- katecholowych estrogenów w organizmie jest *O*-metylacja przez *O*-metyltransferazę katecholową (COMT, EC 2.1.1.6.). Metylacja uniemożliwia dalsze przemiany katecholi do chinonów i semichinonów zmniejszając tym samym powstawanie form rodnikowych. COMT katalizuje przeniesienie grupy metylowej z *S*-adenozylu-*L*-metioniny (SAM) na jedną z grup hydroksylowych w ugrupowaniu katecholowym (preferencyjnie przy węglu 3) (Zhu, 2002).

Dwie formy (rozpuszczalna i błonowa) są kodowane przez gen zlokalizowany na dłuższym ramieniu chromosomu 22. W genie COMT występuje polimorfizm w obrębie 3 eksonu. W formie cytoplazmatycznej zmianie ulega adenina na guaninę w kodonie 108, a w formie zasocjowanej z błoną w kodonie 158, co powoduje zastąpienie waliny metioniną, co z kolei skutkuje 3- do 4-krotne zmniejszenie aktywności enzymatycznej białka kodowanego przez allel zmutowany.

Czynnik wpływający na tempo metylacji katalizowanej przez COMT uważa się również dostępność grup metylowych dostarczanych z SAM podczas metabolizmu folianów.

Ich stężenie także zależne jest od aktywności jednego z głównych enzymów szlaku metylacyjnego, reduktazy metylenotetrahydrofolianowej (MTHFR) (EC 1.5.1.20), która jest enzymu limitującego cykl aktywnego metylu, kodowanego przez polimorficzny gen MTHFR znajdujący się na chromosomie 1p36.3. W obrębie eksonu 4 kodującego domenę katalityczną MTHFR występuje tranzycja cytozyny na tyminę w pozycji 677 w 222 kodonie, powodując zastąpienie alaniny waliną w białku. Zmiana ta skutkuje powstaniem enzymu o niższej aktywności katalitycznej oraz o niższej stabilności cieplnej w warunkach *in vitro* (Abu-Amero, 2003). Drugi polimorfizm to transwersja adeniny na cytozynę w pozycji 1298 w obrębie eksonu 7. Powoduje ona zamianę w kodonie 429 z glutaminianu na alaninę w obrębie domeny regulatorowej enzymu, co zmniejsza powinowactwo MTHFR do jego inhibitora S-adenozylometioniny (SAM).

Badania nad wpływem COMT na rozwój nowotworu piersi pokazały, że homozygoty LL są bardziej podatne na zachorowanie w okresie przedmenopauzalnym natomiast ryzyko wystąpienia nowotworu piersi w okresie pomenopauzalnym jest niższe niż u kobiet posiadających allel H (Mitrunen, 2003). Może to wynikać z faktu, że kobiety posiadające dwa zmutowane allele są słabiej chronione przed działaniem katecholowych estrogenów. Stwierdzono, że 2-hydroksyestron i 2-hydroksyestradiol są dużo szybciej metabolizowane przez COMT niż 4-hydroksy-pochodne estrogenów. Ponadto 2-metoksyestradiol wykazuje, oprócz hamowania wzrostu komórek nabłonka, fibroblastów mięśnia sercowego, adipocytów, komórek gruczołowych jajnika, jak również właściwości antyangiogenne. Ma niskie powinowactwo do ER i nie wykazuje efektu estrogenowego. Efekt antyproliferacyjny 2-metoksyestradiolu jest wywierany poprzez aktywację ekspresji białek p53 i p34 oraz modulację polimeryzacji mikrotubul (Mueck, 2002).

Inną drogą katabolizmu jest jego koniugacja z glutationem lub grupą sulfonową (Mitrunen, 2001). Transferazy glutationowe (GST) EC 2.5.1.18, to bardzo liczna grupa cytoplazmatycznych enzymów katalizujących koniugację zredukowanego glutationu (GSH) do szeregu związków elektrofilowych, zwiększając tym samym ich rozpuszczalność w wodzie i ułatwiając wydalenie z organizmu. Transferazy glutationowe odpowiadają za inaktywację form chinonowych katecholowych estrogenów. Wszystkie geny z rodziny transferaz glutationowych typu: GSTM, GSTP, GSTT, GSTA i GSTZ występują w formach polimorficznych, co powoduje ogromne międzyosobnicze zróżnicowanie zdolności metabolizowania związków potencjalnie kancerogennych, przy czym np.: połowa populacji kaukaskiej w ogóle nie posiada genu kodującego GSTM1 i/lub genu GSTT1.

Sulfotransferaza steroidowa EC 2.8.2.1 odpowiada za przeniesienie reszty siarczkowej na 17 $\beta$ -estradiol, estron, DHEA i cholesterol. Siarczan estronu jest nieaktywny biologicznie a jego poziom we krwi przekracza 5–10-krotnie stężenie nieskoniugowanych estrogenów takich jak estron, 17 $\beta$ -estradiol i estriol u kobiet w wieku rozrodczym, jak i pomenopauzalnym. Polimorfizm sulfotransferazy powoduje zamianę argininy na histydynę w pozycji 213.

Sulfataza steroidowa katalizuje proces desulfatacji hormonów sterydowych, w której genie zidentyfikowano ponad 10 miejsc polimorficznych (Goodsell, 2006). Ponieważ sulfurowe pochodne estrogenów mają dość długi czas życia mogą stanowić pulę potencjalnie dostępnych hormonów, których stężenie zależy od równowagi między działaniem tych dwóch enzymów, których działanie jest modyfikowane przez posiadane polimorfizmy.

Kolejną drogą usuwania estrogenów z organizmu jest ich koniugacja z kwasem glukuronowym przez UDP-glukuronylotransferazę, w której genie występuje polimorfizm insercji (TA)<sub>n</sub> w obrębie promotora, powodujący obniżenie ekspresji (Lord, 2006).

## Podsumowanie

Każdą osobę charakteryzuje unikalna kombinacja genów polimorficznych kodujących enzymy i białka odpowiedzialne za syntezę estradiolu, jego transport, oddziaływanie i katabolizm. Wynikiem tego jest zdywersyfikowane stężenie estrogenów oraz niezmienne zróżnicowana osobnicza podatność na kancerogenne działanie pochodnych estradiolu.

## Literatura

1. Abu-Amero, K.K., Wyngaard C.A., Dzimir N., Prevalence and role of methylenetetrahydrofolate reductase 677 C-->T and 1298 A-->C polymorphisms in coronary artery disease in Arabs. *Arch Pathol Lab Med*, 2003. 127(10), 1349–1352.
2. Ahsan, H., i wsp., Variants in estrogen-biosynthesis genes CYP17 and CYP19 and breast cancer risk: a family-based genetic association study. *Breast Cancer Res*, 2005. 7(1), R71–81.
3. Berstein, L.M. i wsp., CYP17 and CYP19 genetic polymorphisms in endometrial cancer: association with intratumoral aromatase activity. *Cancer Letters*, 2004. 207, 191–196.
4. Boyapati S.M. i wsp. Polymorphisms in ER- $\alpha$  Gene Interact with Estrogen. Receptor Status in Breast Cancer Survival. *Clin Cancer Res* 2005;11:1093–1098.
5. Dumas I, Diorio C. Polymorphisms in genes involved in the estrogen pathway and mammographic density. *BMC Cancer*. 2010 Nov 22;10:636.
6. Dunning, A.M., i wsp., Polymorphisms associated with circulating sex hormone levels in postmenopausal women. *J Natl Cancer Inst*, 2004. 96(12), 936–945.
7. Aschim E.L., i wsp. Polymorphism in the Estrogen Receptor- $\beta$  Gene Is Associated with Male Infertility *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2005.

8. Gallicchio, L., i wsp., Polymorphisms in estrogen-metabolizing and estrogen receptor genes and the risk of developing breast cancer among a cohort of women with benign breast disease. *BMC Cancer*, 2006. 6, 173.
9. Goodsell, D.S., The molecular perspective: estrogen sulfotransferase. *Oncologist*, 2006. 11(4), 418–419.
10. Griffiths, H.R., i wsp., Biomarkers. *Mol Aspects Med*, 2002. 23(1–3), 101–208.
11. Hiraku, Y., i wsp., Catechol estrogens induce oxidative DNA damage and estradiol enhances cell proliferation. *Int J Cancer*, 2001. 92(3), 333–337.
12. Jasienska G., i wsp., CYP17 genotypes differ in salivary 17-beta estradiol levels: a study based on hormonal profiles from entire menstrual cycles. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2006. 15(11), 2131–2135.
13. Kristensen V.N., i wsp., Gene expression profiling of breast cancer in relation to estrogen receptor status and estrogen-metabolizing enzymes: clinical implications. *Clin Cancer Res*, 2005. 11(2 Pt 2), 878s–883s.
14. Lai J., i wsp., CYP gene polymorphisms and early menarche. *Mol Genet Metab*, 2001. 74(4), 449–457.
15. Lord S.J., i wsp., Polymorphisms in genes involved in estrogen and progesterone metabolism and mammographic density changes in women randomized to postmenopausal hormone therapy: results from a pilot study. *Breast Cancer Res*, 2005. 7(3), R336–344.
16. Milczarek R., Klimek A., [Aromatase-key enzyme of estrogen biosynthesis]. *Postepy Biochem*, 2005. 51(4), 430–439.
17. Mitrunen K., Hirvonen A., Molecular epidemiology of sporadic breast cancer. The role of polymorphic genes involved in oestrogen biosynthesis and metabolism. *Mutat Res*, 2003. 544(1), 9–41.
18. Mitrunen, K., i wsp., Glutathione S-transferase M1, M3, P1, and T1 genetic polymorphisms and susceptibility to breast cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2001. 10(3), 229–236.
19. Miyoshi Y., Noguchi S., Polymorphisms of estrogen synthesizing and metabolizing genes and breast cancer risk in Japanese women. *Biomed Pharmacother*, 2003. 57(10), 471–481.
20. Modugno F., Ovarian cancer and polymorphisms in the androgen and progesterone receptor genes: a HuGE review. *Am J Epidemiol*, 2004. 159(4), 319–335.
21. Mueck A.O., Seeger H., Lippert T.H., Estradiol metabolism and malignant disease. *Maturitas*, 2002. 43(1), 1–10.
22. Murayama, N., i wsp., Roles of CYP3A4 and CYP2C19 in methyl hydroxylated and N-oxidized metabolite formation from voriconazole, a new anti-fungal agent, in human liver microsomes. *Biochem Pharmacol*, 2007. 73(12), 2020–2026.
23. Nagel Susan C. i wsp. Endocrine control of sexual differentiation: effects of the maternal–fetal environment and endocrine disrupting chemicals. *Advances in Molecular and Cell Biology*, 2004. 34, 15–37.

24. Sasaki M., i wsp., Polymorphisms of the CYP1B1 gene as risk factors for human renal cell cancer. *Clin Cancer Res*, 2004. 10(6), 2015–2019.
25. Thompson D. i wsp. Identification of common variants in the SHBG gene affecting sex hormone binding globulin levels and breast cancer risk in postmenopausal women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2008 December ; 17(12), 3490–3498.
26. Wang L. i wsp. Human 3beta-hydroxysteroid dehydrogenase types 1 and 2: Gene sequence variation and functional genomics. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2007;107(1-2):88–99.
27. Zhu B.T., Catechol-O-Methyltransferase (COMT)-mediated methylation metabolism of endogenous bioactive catechols and modulation by endobiotics and xenobiotics: importance in pathophysiology and pathogenesis. *Curr Drug Metab*, 2002. 3(3), 321–349.