

Anna Zabost, Zofia Zwolska, Ewa Augustynowicz-Kopec

Zakład Mikrobiologii Instytutu Gruźlicy Chorób Płuc w Warszawie  
Kierownik: prof. nadzw. dr hab. n. med. E. Augustynowicz-Kopec

## Rola biologiczna prokariotycznych i eukariotycznych N-acetylotransferaz

### The biological role of prokaryotic and eukaryotic N-acetyltransferase

Praca nie była finansowana.

#### Abstract

The N-acetyltransferases (NAT; E.C.2.3.1.5) are involved in the metabolism of drugs and environmental toxins. They catalyse the acetyl transfer from acetyl coenzyme A to an aromatic amine, heterocyclic amine, or hydrazine compound. NAT homologues are present in numerous species from bacteria to human. Sequence variations in the human NAT1 and NAT2 result in the production of NAT proteins with variable enzyme activity or stability, leading to slow or rapid acetylation. Therefore, genetic polymorphisms in NAT1 and NAT2 influence drug metabolism and drug-related toxicity. Epidemiological studies suggest that the NAT1 and NAT2 acetylation polymorphisms modify the risk of developing cancers of the urinary bladder, colorectal, breast, head and neck, and lung.

**Key words:** acetylation, drug metabolism, genetic polymorphism, neoplastic disease, isoniazyd, N-acetyltransferase 1, N-acetyltransferase 2

**Pneumonol. Alergol. Pol. 2013; 81: 137–144**

#### Streszczenie

N-acetylotransferazy (NAT; EC2.3.1.5) biorą czynny udział w metabolizowaniu leków i toksyn środowiskowych. Katalizują przeniesienie grupy acetylowej z acetylokoenzymu A do terminalnej grupy aminowej aryloamin, arylohydrazyn i niektórych amin heterocyklicznych. Enzymy aryloamino N-acetylotransferazy zostały zidentyfikowane u wielu organizmów eukariotycznych i prokariotycznych. Polimorfizm genetyczny N-acetylotransferaz powoduje powstanie enzymów o zmienionej sekwencji aminokwasowej, która przyczynia się do obniżenia ich aktywności i stabilności. Występowanie polimorfizmu w aktywności enzymu N-acetylotransferazy 2 jest przyczyną występowania dwóch odmiennych fenotypowo grup: wolnych i szybkich acetylatorów. Szybkość metabolizowania leków oraz związków kancerogennych zależnych od N-acetylotransferaz wpływa na skuteczność i efekt toksyczny tych leków oraz może mieć związek ze zwiększonym ryzykiem wystąpienia niektórych jednostek chorobowych. Badania epidemiologiczne sugerują, że polimorfizm N-acetylotransferaz może mieć wpływ na ryzyko zachorowania na raka pęcherza moczowego, jelita grubego, piersi, głowy i szyi oraz płuc.

**Słowa kluczowe:** acetylacja, choroba nowotworowa, metabolizm leków, izoniazyd, N-acetylotransferaza 1, N-acetylotransferaza 2, polimorfizm genetyczny

**Pneumonol. Alergol. Pol. 2013; 81: 137–144**

#### N-acetylotransferaza — rys historyczny

W metabolizmie wielu związków oraz leków ważną rolę odgrywa zdolność organizmu do

zwiększania rozpuszczalności metabolizowanych substancji (II faza biotransformacji), dzięki czemu mogą być one wydalane przez nerki. Przykładem takiego procesu jest acetylacja polegająca na przy-

Tabela 1. Chronologia badań nad aktywnością N-acetylotransferazy

Table 1. The chronology of studies of N-acetyltransferase activity

Rok	Odkrycia
1926	Reakcja N-acetylacji jako reakcja biotransformacji kwasu p-aminobenzoowego (PABA) [2]
1937	Reakcja N-acetylacji jako reakcja biotransformacji sulfonamidów [2]
Lata 50. XX w.	Międzyosobnicze różnice w eliminacji izoniazydu [3]
1956	Izolacja enzymu N-acetylotransferazy przez John Jenne [4]
Lata 60. XX w.	Szybkość acetylacji izoniazydu jako cecha dziedziczna. Bimodalny rozkład acetylacji u ludzi [5]
Lata 70. XX w.	Rozpoczęcie badań nad polimorfizmem N-acetylotransferazy ludzkiej
1989; 1990	Dwa szlaki acetylacji (NAT1 i NAT2) [6, 7]
1990	Stwierdzenie obecności trzech mutacji w obrębie genu NAT2 odpowiedzialnych za wolny typ acetylacji [8]
1991	Zidentyfikowanie kolejnych mutacji punktowych [9, 10]
1993	Stwierdzenie występowania wariantów alleli genu NAT1 [11]
1994	Określenie lokalizacji genów NAT na chromosomie (*p21.3–23.1) [12]

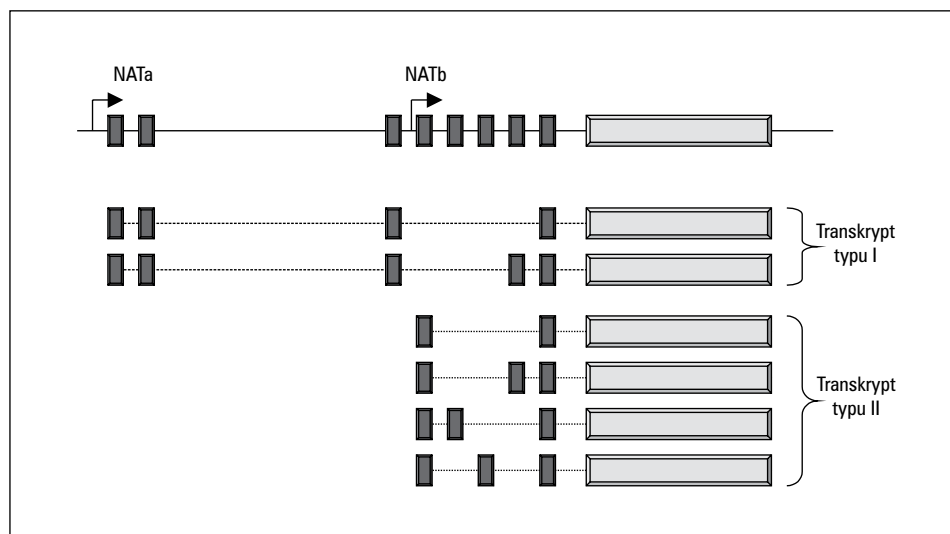
łączeniu rodników acetylowych do substratów, którymi są związki z grupą NH<sub>2</sub>, OH lub SH przy udziale enzymu N-acetylotransferazy. Źródłem rodnika acetylowego jest acetylo-CoA. Acetylacja to podstawowa droga biotransformacji leków (m.in. hydralazyny, izoniazydu [INH], nitrazepam, dapsonu), amin aromatycznych oraz wielu związków kancerogennych w organizmie człowieka. Reakcja ta zachodzi głównie w mikrosomach wątroby zawierających aktywne układy enzymatyczne oraz w mniejszym stopniu w komórkach śledziona, płuc i jelit. Główną funkcją N-acetylotransferaz jest ułatwienie połączenia grupy acetylowej z grupą aminową amin aromatycznych i hydrazyn (reakcja N-acetylacji), czyli detoksykacja potencjalnie toksycznych związków egzogennych. Rzadziej katalizowane są reakcje N,O-acetylacji i O-acetylacji, w których może dochodzić do aktywacji potencjalnych kancerogenów [1].

N-acetylacja została po raz pierwszy opisana w 1926 roku jako droga biotransformacji kwasu p-aminobenzoowego (PABA, *para-aminobenzoic acid*), a w 1937 roku opisano metabolizm sulfonamidów stosowanych w leczeniu infekcji wywołanych przez paciorkowce [2] (tab. 1).

W badaniach nad acetylacją przeprowadzonych w latach 60. XX wieku przez Evansa stwierdzono osobnicze różnice w szybkości metabolizowania izoniazydu u ludzi oraz fakt, że szybkość acetylacji leku jest cechą dziedziczną [5]. Badania biochemiczne i kinetyczne dotyczące N-acetylotransferazy przedstawione przez Jenne [4] pozwoliły w połowie lat 60. na sformułowanie dwóch ważnych obserwacji odnośnie do acetylacji:

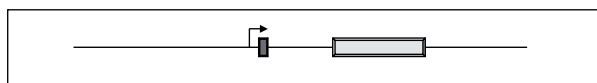
1. analiza szybkości metabolizowania substancji rozkładanych przez N-acetylotransferazy umożliwiła podział związków na dwie grupy: **polimorficzne**, do których zaliczono na przykład izoniazyd, sulfametazynę, i **monomorficzne**: kwas p-aminobenzoowy (PABA), kwas p-aminosalicylowy (PAS, *para-aminosalicylic acid*). Postawiono wówczas hipotezę, że te dwie grupy związków są najprawdopodobniej przekształcane przez oddzielne enzymy;
2. powinowactwo substratowe enzymu N-acetylotransferazy wyizolowanego z komórek wątroby osób wolno acetylujących (wolni acetylatorzy) jest takie samo jak enzymu wyizolowanego z komórek wątroby osób szybko acetylujących (szybcy acetylatorzy). Sugerowano, że wolni acetylatorzy posiadają enzym o niższej aktywności bez zmian w strukturze powodujących mniejsze powinowactwo do substratu. Wczesne obserwacje dotyczące podziału populacji na szybkich i wolnych acetylatorów zostały potwierdzone współczesnymi badaniami zmiany aktywności białka [13].

Punktem wyjścia do kolejnych badań była obserwacja, że niektóre substancje są acetylowane z jednakową szybkością w populacji, natomiast inne z różną. Przeprowadzone doświadczenia potwierdziły występowanie u ludzi dwóch szlaków acetylacji: jednego katalizowanego przez enzym N-acetylotransferazę 1 i drugiego przez N-acetylotransferazę 2 [14]. Geny kodujące oba enzymy zostały po raz pierwszy wyizolowane w 1989 roku przez Granta i wsp. [7]. U człowieka są



Rycina 1. Organizacja genu *NAT1*

Figure 1. Genomic organization of the *NAT1*



Rycina 2. Organizacja genu *NAT2*

Figure 2. Genomic organization of the *NAT2*

one umiejscowione na 8 chromosomie autosomalnym. Sekwencje obu genów wykazują homologię w 87% [15]. Sklonowanie genów pozwoliło na bezpośrednie porównanie sekwencji aminokwasowej N-acetylotransferazy typu 1 i typu 2. Oba enzymy posiadają identyczną w 81% sekwencję aminokwasową [13]. Mimo podobieństw enzymy te różnią się w powinowactwie do substratów: *NAT1* posiada wysokie powinowactwo do kwasu PAS, PABA, podczas gdy *NAT2* wykazuje wyższy stopień powinowactwa do sulfametazyny (SMZ), izoniazydu, prokainamidu i dapsonu [15–17].

## N-acetylotransferaza 1 i N-acetylotransferaza 2

W populacji ludzkiej geny *NAT1* i *NAT2* wykazują polimorfizm. Do tej pory zidentyfikowano 26 alleli *NAT1* i 53 allele *NAT2* [18]. Do początku lat 90 XX wieku N-acetylotransferaza 1 kodowana przez gen *NAT1* była uważana za enzym monomorficzny. Zaobserwowano jednak międzyosobnicze różnice w aktywności tego enzymu w stosunku do PABA i PAS. Badania Vatsisa i Webera w 1993 roku dowiodły istnienia kilku „wariantów” alleli genu *NAT1* [11]. Gen *NAT1* zawiera 9 eksonów obejmujących około 53 kb. W obrębie tego genu znajdują się dwa alternatywne promotory określa-

ne jako *NATa* i *NATb*. W zależności od aktywności miejsca promotorowego powstają różne warianty matrycowego RNA [19] (ryc. 1).

Do chwili obecnej zidentyfikowano 26 alleli różniących się pojedynczymi nukleotydami (SNP, *single nucleotide polymorphism*) (24 SNPs w tym 19 wewnątrz regionu kodującego) [15].

Do najczęściej identyfikowanych alleli genu *NAT1* w populacji ludzkiej należy dziki allel *NAT1\*4* występujący u 70% przedstawicieli rasy kaukaskiej i allel *NAT1\*10* zawierający dwie zmiany polimorficzne poza regionem kodującym. Częstość występowania tego allelu u rasy kaukaskiej wynosi około 20%. Jak dotąd dla większości zbadanych alleli genu *NAT1* nie określono wpływu obserwowanego polimorfizmu na aktywność enzymu.

Pierwsze badania dotyczące korelacji pomiędzy genotypem *NAT1* a fenotypem acetylacji zostały przeprowadzone w 1995 roku przez Bella, który stwierdził, że aktywność enzymu kodowanego przez allel *NAT1\*10* w komórkach pęcherza i okrężnicy jest dwa razy wyższa niż aktywność enzymu kodowanego przez allel dziki *NAT1\*4* [20, 21].

Budowa genu *NAT2* jest mniej złożona niż *NAT1*, ponieważ posiada on tylko jedno miejsce promotorowe [19] (ryc. 2).

Różnice w szybkości metabolizowania substancji przez N-acetylotransferazę 2 są związane z polimorfizmem genetycznym. Pierwsze badania przeprowadzone przez Deguchiego w 1990 roku zidentyfikowały w obrębie genu trzy zmiany polimorficzne C<sup>481</sup>T (allel *NAT2\*5*), G<sup>590</sup>A (allel *NAT2\*6*) i G<sup>857</sup>A (allel *NAT2\*7*). Produkty białko-

we tych alleli wykazują niski stopień aktywności, spowalniając proces acetylacji komórkowej [8]. Do chwili obecnej zidentyfikowano 53 allele, które zostały zarejestrowane na stronie internetowej (<http://louisville.edu/medschool/pharmacology/NAT.HTML>). Każdy z wariantów allelu genu *NAT2* zawiera od jednej do czterech substytucji nukleotydowych, występujących w pozycjach 111, 190, 191, 282, 341, 364, 411, 434, 481, 499, 590, 759, 803, 845, 857 i 859 [22, 23].

Stosując reakcję amplifikacji, a następnie trawienia określonymi restryktazami, można określić siedem najczęściej występujących mutacji, z których G191C, T341C, G590A, A803G i G857A prowadzą do zamiany kodowanego aminokwasu, natomiast C282T i C481T są mutacjami cichymi [18]. Najczęściej badany jest polimorfizm w pozycjach 341, 590, 857 i charakteryzuje on główne klaster geny *NAT2* (*NAT2\*5*, *NAT2\*6* i *NAT2\*7*) [18] (tab. 2).

### N-acetylotransferaza u *Procarvota*

Pierwszym organizmem prokariotycznym, u którego stwierdzono występowanie arylamino

N-acetylotransferazy była *Salmonella typhimurium*. W latach 90. ubiegłego wieku enzym ten zidentyfikowano również u innych gatunków bakterii, takich jak: *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium bovis* BCG, *Mycobacterium avium*, *Mycobacterium smegmatis*, *Pseudomonas aeruginosa* i *Mesorhizobium loti* [1, 15, 24]. Wyniki badań genetycznych genu N-acetylotransferazy u rodzaju *Mycobacterium* wykazały, że w obrębie kompleksu *Mycobacterium tuberculosis* jest on identyczny u wszystkich gatunków, natomiast podobieństwo genu *nat* pomiędzy *Mycobacterium tuberculosis* complex a innymi gatunkami prątków atypowych wynosi 60%. Sekwencja aminokwasów mykobakteryjnej N-acetylotransferazy jest identyczna w 35% z enzymem wyizolowanym z *Salmonella typhimurium* i w 30% z ludzką N-acetylotransferazą 2 [25].

### Gen *nat* i organizacja operonu w obrębie rodzaju *Mycobacterium*

U większości gatunków *Mycobacterium* gen *nat* wchodzi najprawdopodobniej w skład operonu. W przypadku *Mycobacterium tuberculosis* H37R,

Tabela 2. Najczęściej spotykane mutacje w genie *NAT2*

Table 2. The most common mutations in the *NAT2* gene

Mutacja	Allele	Częstość występowania polimorfizmu	Zmiana aminokwasowa i konsekwencje
G191A	<i>NAT2*14</i> (*14A, *14B, *14C, *14D, *14E, *14F, *14G, *14H)	Populacja orientalna — 0% Populacja kaukaska — 0,3% Populacja afrykańska — 6,3%	Leu241Ile Obniżona aktywność i stabilność białka
C282T	<i>NAT2*7</i> , <i>NAT2*6</i> (*6A, *6C, *6D, *6G, *6H, *6I, *6J, 6K i *6L), *5G, *5J, *5K, *12B, *12E, *13A, *13B, *14B, *14D, *14G, *14H	Populacja orientalna — 37,9% Populacja kaukaska — 31,0% Populacja afrykańska — 32,9%	Tyr94Tyr Brak zmian w białku
T341C	<i>NAT2*5</i> (*5A, *5B, *5C, *5D, *5E, *5F, *5G, *5H, *5I, *5J, *5K, *5L i *5M), *14C, *14F	Populacja orientalna — 16% Populacja kaukaska — 44,4% Populacja afrykańska — 41,6%	Ile114Thr Zwiększona degradacja białka
C481T	<i>NAT2*5</i> (*5A, *5B, *5F, *5G, *5H, *5I, *5L, *5M), *6E, *11A, *11B, *12C, *14C	Populacja orientalna — 4,7% Populacja kaukaska — 43,4% Populacja afrykańska — 35,1%	Leu161Leu Brak zmian w białku
G590A	<i>NAT2*6</i> (*6A, *6L), *5E, *5J, *14D	Populacja orientalna — 26,8% Populacja kaukaska — 28,9% Populacja afrykańska — 26,0%	Arg197Gln Obniżona aktywności i stabilności białka
A803G	*5B, *5C, *5E, *5G, *5H, *5I, *5L, *5M, *6C, *6F, *12A do *12H, *14C, *14E, *14F i *14G	Populacja orientalna — 7,0% Populacja kaukaska — 43,6% Populacja afrykańska — 51,0%	Arg268Lys Brak zmian w białku
G857A	<i>NAT2*7</i> (*7A i *7B) *6I i *6J	Populacja orientalna — 13,4% Populacja kaukaska — 2,1% Populacja afrykańska — 2,4%	Gly286Glu Obniżona aktywność i stabilność białka

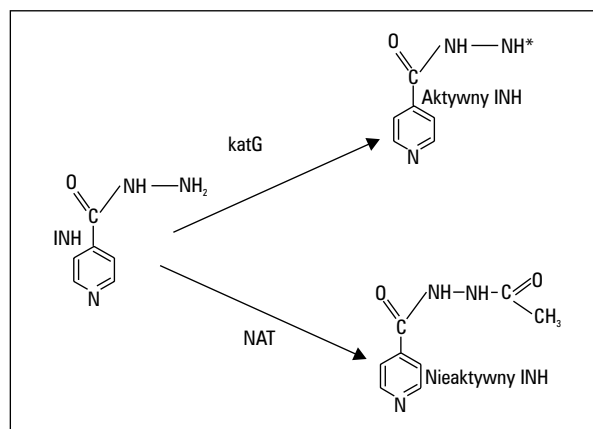
i *Mycobacterium bovis* BCG operon ten składa się z genu *nat*, 4 genów *hsa* (*hsaA*, *hsaD*, *hsaC*, *hsaB*) oraz pseudogenu [26]. Geny operonu odgrywają znaczącą rolę w patogenezie gruźlicy, ponieważ umożliwiają one przeżycie prątkom wewnątrz komórek makrofagów. Prątki żyjące wewnątrz makrofagów do spowolnionych procesów metabolicznych jako źródło węgla i energii wykorzystują cholesterol. Za degradację cholesterolu odpowiedzialne są między innymi geny *hsaA* i *hsaD* znajdujące się w obrębie operonu [27].

### Aktywność N-acetylotransferazy u *Mycobacterium*

W pierwszych badaniach nad aktywnością N-acetylotransferazy w komórkach prątków szczepu *Mycobacterium tuberculosis complex* pozbawiono genu *nat* a następnie obserwowano ich szybkość wzrostu i analizowano skład ściany komórkowej. Stwierdzono, że szczepy pozbawione genu *nat* później wchodziły w logarytmiczną fazę wzrostu, a ich kolonie są mniejsze od koloni szczepów dzikich. Wprowadzenie funkcjonalnej kopii genu *nat* do szczepu mutantu powodowało przywrócenie dzikiego fenotypu [28]. Biochemiczna analiza ściany komórkowej wykazała, że delecja genu *nat* zaburza prawidłową biosyntezę kwasów mykoloowych i ich pochodnych, a tym samym przyczynia się do wzrostu wrażliwości *Mycobacterium tuberculosis complex* na leki przenikające przez ścianę komórkową. Przypuszcza się, że N-acetylotransferaza może odgrywać ważną rolę w procesie syntezy kwasów mykoloowych wchodzących w skład ściany komórkowej mykobakterii [28, 29]. A zatem, aktywność N-acetylotransferazy może stanowić jeden z celów dla nowej generacji leków przeciwprątkowych [30].

Stwierdzono również, że bakteryjna N-acetylotransferaza oraz ludzka N-acetylotransferaza 2 mogą metabolizować te same substancje. Przykładem tak metabolizowanej substancji może być izoniazyd, który jest podawany w postaci proleku. Po wnikięciu do komórki prątka wymaga aktywacji, aby uzyskać aktywność terapeutyczną. Proces aktywacji prowadzony jest przez enzym katalaza-peroksydaza (produkt genu *katG*). Mutacje w obrębie tego genu są główną przyczyną nabywania oporności na INH (brak aktywnej formy leku). Inną przyczyną oporności *Mycobacterium tuberculosis complex* na INH może być również acetylacja cząsteczki leku przez bakteryjną N-acetylotransferazę do acetyloizoniazidu, który nie może ulec utlenieniu i tym samym aktywacji przez *katG* [24] (ryc. 3).

Większość gatunków mykobakterii jest naturalnie wrażliwa na izoniazyd. Dla *Mycobacterium*



Rycina 3. Schemat aktywacji i inaktywacji izoniazidu (INH)

Figure 3. Schematic activation and inactivation of isoniazid (INH)

*tuberculosis* minimalna wartość hamująca dla tego leku (MIC) wynosi 0,2 µg/ml a dla *Mycobacterium smegmatis* 5 µg/ml. Dla mutantów *M. smegmatis* z dodatkowo wklonowanym genem N-acetylotransferazy wartość MIC wzrastała 3-krotnie (15 µg/ml) [25], co sugeruje, że wzrost ekspresji genu powoduje wzrost aktywności N-acetylotransferazy u szczepów *Mycobacterium* i może być jedną z przyczyn oporności prątków gruźlicy na izoniazyd [29].

W 2001 roku wśród szczepów *Mycobacterium tuberculosis* izolowanych od chorych zidentyfikowano polimorfizm w obrębie genu *nat* [31]. Zidentyfikowano dwie mutacje powodujące zamianę Gln na Arg w pozycji 207 oraz tyrozyny na histydynę w pozycji 177. Wiadomo że efektem mutacji Gln207Arg jest enzym o obniżonej aktywności, co może powodować większą wrażliwość tych szczepów prątków gruźlicy na izoniazyd [30].

### Aktywności N-acetylotransferazy u *Eucaryota*

Różnice w szybkości metabolizowania leków zależne od aktywności N-acetylotransferaz mogą być przyczyną znaczących różnic osobniczych w wartościach stężeń leków w surowicy mimo podania jego jednakowej dawki. Uważa się, że polimorfizm w obrębie genów kodujących enzymy metabolizujące leki może spowodować zmiany w odpowiedzi na stosowane leczenie. Różnorodność alleli genu *NAT2* skutkuje międzyosobniczymi różnicami w farmakologicznej i toksykologicznej odpowiedzi na leki [15]. Powoduje to, że u niektórych chorych ta sama dawka leku jest niewystarczająca do osiągnięcia stężenia terapeutycznego, natomiast u innych — powoduje występowanie niebezpiecznych działań niepożądanych. Osobnicza różnorodność w aktywności N-acetylo-

transferazy została zidentyfikowana już ponad 50 lat temu, kiedy stwierdzono międzyosobnicze różnice w eliminowaniu izoniazydu z organizmu [4]. Izoniazyd jest jednym z leków, który przyczynia się do występowania działań niepożądanych. Przyczyną tego zjawiska jest biotransformacja przy udziale N-acetylotransferazy do hepatotoksycznych produktów. Długotrwałe przyjmowanie leków przeciwprątkowych może powodować ostre lub przewlekłe zapalenie wątroby [32]. Najcięższe postacie ostrego zapalenia wątroby w czasie przyjmowania izoniazydu wiążą się z nadmiarem hydrazyny, która powstaje przy udziale amidazy. Wolni acetylatorzy przyjmujący standardową dawkę INH są bardziej podatni na wystąpienie zapalenia wątroby niż szybcy acetylatorzy.

Organizm człowieka jest narażony na oddziaływanie ksenobiotyków, w tym również związków kancerogennych. Enzymy należące do super rodziny cytochromu P450 odgrywają zasadniczą rolę w procesach biotransformacji ksenobiotyków w tym leków, toksyn i karcynogenów, a tym samym mogą być czynnikami modulującymi ryzyko wystąpienia nowotworów [33]. U osób z wolnym typem acetylacji może dochodzić do kumulacji substancji kancerogennych metabolizowanych przez N-acetylotransferazy. „Wolni acetylatorzy” są bardziej wrażliwi na niskie poziomy środowiskowych kancerogenów, a długotrwałe narażenie na działanie tych substancji może powodować u nich uszkodzenia chromosomów komórek somatycznych [34].

W wielu przeprowadzonych badaniach wykazano, że wolny fenotyp acetylacji usposabia do występowania niektórych chorób, na przykład łuszczycy, tocznia rumieniowatego układuowego (SLE, *Systemic Lupus Erythematosus*), chorób alergicznych i niektórych rodzajów nowotworów [35–38].

Pierwsze prace badawcze dotyczące korelacji pomiędzy wolnym typem acetylacji a rakiem pęcherza zostały przeprowadzone w 1979 roku przez Lowera [39]. Szczególnie narażone na wystąpienie raka pęcherza są osoby o wolnym typie acetylacji, posiadające allel NAT2\*5. Ryzyko zachorowania na nowotwór u tych osób zwiększa się przy środowiskowej ekspozycji na aminy aromatyczne [16].

N-acetylotransferaza 2 bierze udział w metabolizmie związków kancerogennych (MeIQx-2-amino-3,8-dimetyloimidazo[4,5-f]chinoksolina i PhIP-2-amino-1-metylo-6-fenyloimidazo[4,5-b]pirydyna) pochodzących z pożywienia, powstających podczas przygotowania mięsa w wysokiej temperaturze (pieczenie na grillu, smażenie).

Przemiany tych związków zachodzą zarówno w wątrobie, jak i w jelicie grubym. Spożywanie dużej ilości czerwonego mięsa przygotowywanego w wysokich temperaturach, w których powstają związki kancerogenne, zwiększa ryzyko wystąpienia nowotworu okrężnicy u osób z szybkim typem acetylacji NAT1 i NAT2 [14].

Hipotezy dotyczące związku pomiędzy polimorfizmem acetylacji a rozwojem raka piersi zostały sformułowane trzy dekady temu i opierały się na badaniach fenotypowych 41 pacjentów. W badaniach tych stwierdzono związek pomiędzy szybkim typem acetylacji a wystąpieniem raka piersi [33]. Pierwsze badania genetyczne dotyczące związku polimorfizmu NAT i zachorowania na raka piersi opublikowano 1995 roku. Nie wykazano w nich związku pomiędzy polimorfizmem acetylacji a ryzykiem wystąpienia zachorowania. Huang i wsp., badając kobiety po menopauzie, stwierdzili słaby związek pomiędzy wolnym typem acetylacji a częstością występowania nowotworu piersi [40]. W innych badaniach wykazano wzrost ryzyka zachorowania na nowotwór piersi u kobiet palaczek po menopauzie — wolnych acetylatorów. Obecny stan wiedzy nie pozwala na wykazanie korelacji pomiędzy polimorfizmem NAT a ryzykiem zachorowania na raka piersi [33].

W przedstawionych dotychczas badaniach trudno doszukać się udowodnionej korelacji pomiędzy typem acetylacji a ryzykiem wystąpienia raka płuca. Niektórzy autorzy wskazują wolny typ acetylacji, jako predysponujący do tego nowotworu, podczas gdy inni upatrują większe ryzyko zachorowania wśród szybkich acetylatorów [41–46].

Niektóre prace wskazują, że typ acetylacji może mieć wpływ na proces inaktywacji ekspresji amin biogennych, w tym histaminy, która jest odpowiedzialna za objawy reakcji alergicznych [47, 48]. Patkowski i wsp. w badaniach przeprowadzonych wśród alergików wykazał, że 80% osób z przewlekłym alergicznym zapaleniem błony śluzowej nosa miało wolny fenotyp acetylacji [49]. Podobne wyniki otrzymała Zielińska i wsp., badając dzieci z objawami atopii i stwierdzając wyraźną przewagę wolnego typu acetylacji — 91% [50]. Podobnie Gawrońska-Szklarz i wsp. stwierdzali 5-krotnie wyższe ryzyko wystąpienia choroby atopowej wśród wolnych acetylatorów [51].

Toczeń rumieniowaty układowy charakteryzuje się produkcją patologicznych przeciwciał przeciwko różnym autoantygenom. Niektórzy badacze sugerują, że nie tylko predyspozycje genetyczne i sprawność układu odpornościowego mogą być czynnikami determinującymi wystąpienie tocznia rumieniowatego, ale również fenotyp acetylacji

[52–54]. Pierwsze doniesienia o związku pomiędzy fenotypem acetylacji i SLE były opublikowane w 1970 roku. Wyniki licznych badań wykazały przewagę wolnego typu acetylacji u chorych. Jednak należy dodać, że obserwacje były prowadzone w małych grupach od 14 do 32 chorych z SLE [52–54]. Skrętkowicz i wsp. u chorych z SLE i na twardzinę układową (SSc, *systemic sclerosis*) stwierdzili, że polimorfizm acetylacji nie jest czynnikiem ryzyka dla wystąpienia tych schorzeń [55, 56]. W badaniach japońskich dotyczących związku polimorfizm NAT2 z ryzykiem wystąpienia SLE u palaczy wykazano, że wolny typ acetylacji NAT2 może być czynnikiem podatności na SLE [57].

### Podsumowanie

Od ponad 50 lat prowadzone są badania nad zrozumieniem roli N-acetylotransferaz w metabolizmie leków i predyspozycji do wystąpienia niektórych chorób. Arylamino N-acetylotransferazy należą do super rodziny cytochromu P450. Enzymy należące do tej grupy odrywają zasadniczą rolę w procesach biotransformacji leków, toksyn i kancerogenów. Ostatnie osiągnięcia w dziedzinie genomiki i proteomiki pozwoliły na poznanie budowy enzymu, mechanizmów jego regulacji oraz funkcji w organizmie. U *Mycobacterium*, N-acetylotransferaza może być dobrym celem dla przyszłych leków przeciwgruźliczych, nie tylko ze względu na zaangażowanie tego enzymu w metabolizm izoniazydu, ale również dlatego, że jego niedobór wydaje się mieć niekorzystny wpływ na budowę komórki prątka oraz jego funkcje życiowe. W ostatnich latach coraz większe zainteresowanie budzą badania mające na celu powiązanie osobniczej zdolności do przekształcania związków kancerogennych z predyspozycją genetyczną do wystąpienia niektórych jednostek chorobowych, w tym nowotworów. Jak dotychczas nie do końca znane są mechanizmy patofizjologiczne leżące u podstawy związku pomiędzy polimorfizmem genetycznym N-acetylotransferaz, enzymów biorących udział w metabolizmie ksenobiotyków a patogenizacją nowotworów. Poznanie tych mechanizmów będzie, zdaje się, jednym z ważnych elementów na drodze profilaktyki chorób nowotworowych.

### Konflikt interesów

Autorzy nie deklarują konfliktu interesów.

### Piśmiennictwo

- Westwood I.M., Kawamura A., Fullam E., Russell A.J., Davies S.G., Sim E. Structure and mechanism of arylamine N-acetyltransferases. *Curr. Top. Med. Chem.* 2006; 6: 1641–1654.

- Mushtaq A., Anderton M., Cornish V. Pharmacogenomics of arylamine N-acetyltransferase. *Curr. Pharmacogenomics* 2004; 2: 219–231.
- Augustynowicz-Kopeć E. Wskaźniki biodostępności izoniazydu (INH) u chorych leczonych na gruźlicę i ich znaczenie w monitorowaniu terapii” Praca doktorska 1998 Promotor: Prof. dr hab. Zofia Zwolska.
- Jenne J.W. Studies of human patterns of isoniazid metabolism using an intravenous fall-off technique with a chemical method. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1960; 81: 1–8.
- Evans D.A., White T.A.: Human acetylation polymorphism. *J. Lab. & Clin. Med.* 1964; 63: 394–403.
- Blum M., Grant D.M., McBride W., Heim M., Meyer U.A. Human arylamine N-acetyltransferase genes: isolation, chromosomal localization, and functional expression. *DNA Cell Biol.* 1990; 9: 193–203.
- Grant D.M., Lottspeich F., Meyer U.A. Evidence for two closely related isozymes of arylamine N-acetyltransferase in human liver. *FEBS Lett.* 1989; 244: 203–207.
- Deguchi T., Mashimo M., Suzuki T. Correlation between acetylator phenotypes and genotypes of polymorphic arylamine N-acetyltransferase in human liver. *J. Biol. Chem.* 1990; 265: 12575–12760.
- Blum M., Demierre A., Grant D.M., Heim M., Meyer U.A. Molecular mechanism of slow acetylation of drugs and carcinogens in human. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1991; 88: 5237–5241.
- Vatsis K.P., Martell K.J., Weber W.W. Diverse point mutations in the human gene for polymorphic N-acetyltransferase. *Prot. Natl. Acad. Sci.* 1991; 88: 6333–6337.
- Vatsis K.P., Weber W.W. Structural heterogeneity of Caucasian N-acetyltransferase at the NAT1 gene locus. *Arch. Biochem. Biophys.* 1993; 301: 71–76.
- Hickman D., Risch A., Buckle V. i wsp. Chromosomal localization of human genes for arylamine N-acetyltransferase. *Biochem. J.* 1994; 297: 441–445.
- Grant D.M. Structures of human arylamine N-acetyltransferases. *Curr. Drug Metab.* 2008; 9: 465–470.
- Hein D.W. Molecular genetics and function of NAT1 and NAT2; role in aromatic amine metabolism and carcinogenesis. *Mutat. Res.* 2002; 506–507: 65–77.
- Sim E., Payton M., Noble M., Minchin R. An update of genetic, structural and functional studies of arylamine N-acetyltransferase in eukaryotes and prokaryotes. *Hum. Mol. Genet.* 2000; 9: 2435–2441.
- Hein D.W., Doll M.A., Fretland A.J. i wsp. Molecular genetics and epidemiology of the NAT1 and NAT2 acetylation polymorphisms. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 2000; 9: 29–42.
- Meyer U.A. Polymorphism of human acetyltransferases. *Environ. Health Perspect.* 1994, 102: 213–216.
- Garcia-Martín E. Interethnic and intraethnic variability of NAT2 single nucleotide polymorphisms. *Curr. Drug Metab.* 2008; 9: 487–497.
- Butcher N.J., Tiang J., Minchin R.F. Regulation of arylamine N-acetyltransferases. *Curr. Drug Metab.* 2008; 9: 498–504.
- Bell D.A., Badawi A.F., Lang N.P., Ilett N.F., Kadlubar F., Hironen A. Polymorphism in the N-acetyltransferase 1 (NAT1) polyadenylation signal: Association of NAT1\*10 allele with higher N-acetylation activity in bladder and colon tissue. *Cancer Res.* 1995; 55: 5226–5229.
- Kadlubar F.F., Badawi A.F. Genetic susceptibility and carcinogen-DNA adduct formation in human urinary bladder carcinogenesis. *Toxicol. Lett.* 1995; 82–83: 627–632.
- Boukouvala S., Fakis G. Arylamine N-acetyltransferases: what we learn from genes and genomes. *Drug Metab. Rev.* 2005; 37: 511–564.
- Cascorbi I., Brockmüller J., Mrozikiewicz P.M., Müller A., Roots I. Arylamine N-acetyltransferase activity in man. *Drug Metab. Rev.* 1999; 31: 489–502.
- Sandy J., Mushtaq A., Kawamura A., Sinclair J., Sim E., Noble M. The structure of arylamine N-acetyltransferase from *Mycobacterium smegmatis* — an enzyme which inactivates the anti-tubercular drug, isoniazid. *J. Mol. Biol.* 2002; 318: 1071–1083.
- Payton M., Auty R., Delgoda R., Everett M., Sim E. Cloning and characterization of arylamine N-acetyltransferase genes from *Mycobacterium smegmatis* and *Mycobacterium tuberculosis*: increased expression results in isoniazid resistance. *J. Bacteriol.* 1999; 181: 1343–1347.
- Anderton M.C., Bhakta S., Besra G.S., Jeavons P., Eltis L.D., Sim E. Characterization of the putative operon containing arylamine N-acetyltransferase (nat) in *Mycobacterium bovis* BCG. *Mol. Microbiol.* 2006; 59: 181–192.
- van der Geize R., Yam K., Heuser T., Wilbrink M.H. i wsp. A gene cluster encoding cholesterol catabolism in a soil actino-

- mycete provides insight into *Mycobacterium tuberculosis* survival in macrophages. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 2007; 104: 1947–1952.
28. Bhakta S., Besra G.S., Upton A.M. i wsp. Arylamine N-acetyltransferase is required for synthesis of mycolic acids and complex lipids in *Mycobacterium bovis* BCG and represents a novel drug target. J. Exp. Med. 2004; 199: 1191–1199.
  29. Payton M., Gifford C., Schartau P. i wsp. Evidence towards the role of arylamine N-acetyltransferase in *Mycobacterium smegmatis* and development of a specific antiserum against the homologous enzyme of *Mycobacterium tuberculosis*. Microbiology 2001; 147: 3295–3302.
  30. Sim E., Sandy J., Evangelopoulos D. i wsp. Arylamine N-acetyltransferase in mycobacterium. Curr. Drug Metab. 2008; 9: 510–519.
  31. Upton A., Mushtaq A., Victor T.C. i wsp. Arylamine N-acetyltransferase of *Mycobacterium tuberculosis* is a polymorphic enzyme and a site of isoniazid metabolism. Mol. Microbiol. 2001; 42: 309–317.
  32. Huang Y.S., Chern H.D., Su W.J. i wsp. Polymorphism of the N-acetyltransferase 2 gene as a susceptibility risk factor for antituberculosis drug-induced hepatitis. Hepatology 2002; 35: 883–889.
  33. Agúndez J.A. Polymorphisms of human N-acetyltransferases and cancer risk. Curr. Drug Metab. 2008; 9: 520–531.
  34. Niewiński P., Orzechowska-Józwenko K. Znaczenie uwarunkowanej genetycznie acetylacji leków i ksenobiotyków w patogenezie chorób nowotworowych. Post. Med. Dośw. 1996; 50: 131–143.
  35. Olszewska Z., Orłowska-Westwood B., Orszulak D., Jabłkowska-Gajdzińska J., Skrętkowicz J. Fenotyp acetylacji w łuszczycy. Przegl. Dermatol. 1980; 67: 19–22.
  36. Orzechowska-Juzwenko K., Milejski P., Patkowski J., Nittner-Marszalska M., Małolepszy J. Acetylator phenotype in patients with allergic diseases and its clinical significance. Int. J. Clin. Pharmacol. Ther. Toxicol. 1990; 28: 420–425.
  37. Skrętkowicz J. Przegląd najczęściej stosowanych metod oznaczania fenotypu acetylacji i rozróżniania osób wolno lub szybko acetylujących. Farm. Pol. 1990; 46: 7–10.
  38. Smith G., Stanley L.A., Sim E., Strange R.C., Wolf C.R. Metabolic polymorphisms and cancer susceptibility. Cancer Surv. 1995; 25: 27–65.
  39. Lower G.M., Nilsson, T., Nelson C. E., Wolf H., Gamsky T. E., Bryan G. T. N-Acetyltransferase phenotype and risk in urinary bladder cancer: approaches in molecular epidemiology. Preliminary results in Sweden and Denmark. Environ Health Perspect. 1979; 29: 71–79.
  40. Huang CS., Chern H.D., Shen C.Y., Hsu S.M., Chang K.J. Association between N-acetyltransferase 2 (NAT2) genetic polymorphism and development of breast cancer in post-menopausal Chinese women in Taiwan, an area of great increase in breast cancer incidence. Int. J. Cancer 1999; 82: 175–179.
  41. Belogubova E.V., Kuligina E.Sh., Togo A.V. i wsp. 'Comparison of extremes' approach provides evidence against the modifying role of NAT2 polymorphism in lung susceptibility. Cancer Letters 2005; 21: 177–183.
  42. Seow A., Zhao B., Lee E.J., i wsp. NAT2 slow acetylator genotype is associated with increased risk of lung cancer among non-smoking Chinese women in Singapore. Carcinogenesis 1999; 20: 1877–1881.
  43. Sørensen M., Autrup H., Tjønneland A., Overvad K., Raaschou-Nielsen O. Genetic polymorphisms in *CYP1B1*, *GSTA1*, *NQO1* and NAT2 and the risk of lung cancer. Cancer Letters 2005; 221: 185–190.
  44. Cascorbi I., Brockmüller J., Mrozikiewicz P.M., Bauer S., Loddenkemper R., Roots I. Homozygous rapid arylamine N-acetyltransferase (NAT2) genotype as a susceptibility factor for lung cancer. Cancer Res. 1996; 56: 3961–3966.
  45. Zhou W., Liu G., Thurston S.W. i wsp. Genetic polymorphisms I N-acetyltransferase-2 and microsomal epoxide hydrolase, cumulative cigarette smoking, and lung cancer. Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev. 2002; 11: 15–21.
  46. Nyberg F., Hou S.M., Hemminki K., Lambert B., Pershagen G. Glutathione S-transferase 1 and N-acetyltransferase 2 genetic polymorphisms and exposure to tobacco smoke in nonsmoking and smoking lung cancer patients and population controls. Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev. 1998; 7: 875–883.
  47. Endo Y. Elevation of histamine levels in rat and mouse tissues by the deacetylation of administered N-acetylhistamine. Eur. J. Pharmacol. 1979; 60: 299–305.
  48. Tabor H., Mehler A.H., Stadtman E.R. The enzymatic acetylation of amines. J. Biol. Chem. 1953; 204: 127–138.
  49. Patkowski J., Małolepszy J., Milejski P., Orzechowska-Juzwenko K., Nittner-Marszalska M. Acetylation phenotype in the atopic allergy. Pol. Tyg. Lek. 1987; 42: 870–873.
  50. Zielińska E., Niewiarowski W., Bodalski J., Stańczyk A., Bolański W., Rębowski G. Arylamine N-acetyltransferase (NAT2) gene mutation in children with allergic diseases. Clin. Pharmacol. Ther. 1997; 62: 635–642.
  51. Gawrońska-Szklarz B., Luszawska-Kutrzeba T., Czaja-Bulsa G., Kurzawski G. Relationship between acetylation polymorphism and risk of atopic diseases. Clin. Pharmacol. Ther. 1999; 65: 562–569.
  52. Fishbein E., Alarcón-Segovia D. Slow acetylation phenotype in systemic lupus erythematosus. Arthritis Rheum. 1979; 22: 95–97.
  53. Johansson E., Mustakallio K.K., Mattila M.J. Polymorphic acetylator phenotype and systemic lupus erythematosus. Acta Med. Scand. 1981; 210: 193–196.
  54. Reidenberg M.M., Martin J.H. The acetylator phenotype of patients with systemic lupus erythematosus. Drug Metab. Dispos. 1974; 2: 71–73.
  55. Rychlik-Sych M., Skrętkowicz J., Gawrońska-Szklarz B., Górnik W., Sysa-Jędrzejowska A., Skrętkowicz-Szarmach K. Acetylation genotype and phenotype in patients with systemic lupus erythematosus. Pharmacol. Rep. 2006; 58: 22–29.
  56. Skrętkowicz J., Rychlik-Sych M., Gawrońska-Szklarz B., Górnik W., Sysa-Jędrzejowska A., Skrętkowicz-Szarmach K. Polimorfizm genetyczny NAT2 w chorobach tkanki łącznej. Probl. Ter. Monit. 2005; 16: 33.
  57. Kiyohara C., Washio M., Horiuchi T. i wsp.; Kyushu Sapporo SLE (KYSS) Study Group. Cigarette smoking, N-acetyltransferase 2 polymorphisms and systemic lupus erythematosus in a Japanese population. Lupus 2009; 18: 630–638.