

Received: 2012.11.19
Accepted: 2013.05.09
Published: 2013.08.02

Nowe cytochromy P450 jako biomarkery i potencjalne cele oddziaływania w chemioprewencji i terapii nowotworów

New cytochrome P450 isoforms as cancer biomarkers and
targets for chemopreventive and chemotherapeutic agents

Hanna Szaefer, Michał Cichocki, Aleksandra Majchrzak-Celińska

Katedra Biochemii Farmaceutycznej Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Streszczenie

Cytochromy P450 (P450) stanowią wielogenową rodzinę enzymów katalizujących metabolizm tlenowy wielu ksenobiotyków, w tym leków przeciwnowotworowych oraz związków endogennych. Poszczególne izoformy cytochromu P450 występują na zróżnicowanym poziomie w różnych typach tkanek i komórek, a ekspresja ich genów i w konsekwencji ostateczna aktywność podlega selektywnej regulacji. Dodatkowo wykazano zróżnicowaną ekspresję genów niektórych izoform P450 w komórkach nowotworowych w porównaniu z komórkami prawidłowymi. Stwarza to możliwość wykorzystania tych izoenzymów jako markerów procesu nowotworowego. W artykule omówiono charakterystykę i funkcję pięciu izoform cytochromu P450: P450 1B1, P450 2W1, P450 2S1, P450 2R1, P450 2U1, mogących stanowić potencjalne cele oddziaływania strategii terapeutycznych i prewencyjnych. Wybrano powyższe izoformy, gdyż poziom ich ekspresji w tkankach nowotworowych zdecydowanie przewyższa obserwowany w tkankach prawidłowych.

Słowa kluczowe: cytochrom P450 • izoenzymy P450 • nowotwory • chemioprewencja

Summary

Cytochromes P450 (P450) are a multigene family of enzymes possessing a central role in the oxidative metabolism of a wide range of xenobiotics, including anticancer drugs, and endogenous compounds. The activity of different P450 isoforms varies within specific tissues and cell types and is selectively regulated together with their gene expression. Moreover, differential expression of certain P450 isoforms' genes in tumor cells compared to normal tissues can be observed. This creates the potential for the use of these isozymes as tumor markers or selective prodrug activators. This article discusses the characteristics and function of five isoforms of cytochrome P450 (P450 1B1, P450 2W1, P450 2S1, P450 2R1, P450 2U1) that could be potential targets for tumor therapeutic and preventive strategies. These isoforms have been chosen because their level of expression in tumor tissues is definitely higher than in normal tissues.

Key words: cytochrome P450 • P450 isoenzymes • human cancers • chemoprevention

Full-text PDF: <http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=1061339>

Word count: 3910

Tables: 1

Figures: 1

References: 56

Adres autorki: dr n. farm. Hanna Szaefer, Katedra Biochemii Farmaceutycznej, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, ul. Święcickiego 4, 60-781 Poznań; e-mail: hszaefer@ump.edu.pl

Wykaz skrótów: **AhR** – receptor węglowodorów aromatycznych; **ARNT** – jądrowy translokator receptora węglowodorów aromatycznych; **B[a]P** – benzo[a]piren; **P450** – cytochrom P450; **DHET** – kwas dihydroksyeikozatrienowy; **CPR** – reduktaza NADPH-cytochrom P450; **ER** – receptor estrogenowy; **GDEPGT** – genowo ukierunkowana terapia enzym-prolek; **HIF-1 α** – czynnik indukowany hipoksją; **TCDD** – 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioksyna; **WWA** – wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne.

WSTĘP

Cytochromy P450 (P450) stanowią nadrodzinę monooksygenaz zawierających ugrupowanie hemowe, odpowiedzialnych przede wszystkim za pierwszą fazę metabolizmu ksenobiotyków, a także za metabolizm i biosyntezę wielu związków endogennych, takich jak hormony steroidowe i eikozanoidy. Enzymy te są obecne u niemal wszystkich organizmów, włączając bakterie, grzyby, rośliny, zwierzęta i człowieka, u którego opisano przynajmniej 57 genów kodujących aktywne postaci P450, a także 58 pseudogenów, dla których nie odnaleziono otwartej ramki odczytu [33]. W oparciu o strukturę pierwszorzędową izoenzymy cytochromu P450 zostały zakwalifikowane do rodzin i podrodzin. Enzymy należące do jednej rodziny wykazują identyczność struktury pierwszorzędowej co najmniej w 40%, a członkowie podrodzin w ponad 55% [54].

Cytochromy P450 są umiejscowione głównie w siateczce endoplazmatycznej hepatocytów, ale występują także w mniejszej ilości w innych narządach, przede wszystkim w nerkach, płucach, sercu, mózgu i skórze. Aktywność katalityczna cytochromów P450 obejmuje najczęściej reakcje C-oksydacji (hydroksylacja, epoksydacja, peroksydacja), N- i S-oksydacji, a także oksydacyjnej O-, S- lub N-dealkilacji oraz inne typy reakcji, związane z pierwszą fazą metabolizmu ksenobiotyków i związków endogennych oraz ich biosyntezy. Do funkcjonowania P450 niezbędny jest system transportu elektronów. Jednym z jego elementów u człowieka jest reduktaza NADPH-cytochrom P450 (CPR).

Podstawowym celem reakcji pierwszej fazy metabolizmu ksenobiotyków z udziałem cytochromu P450 jest ich przekształcenie w postać o zwiększonej rozpuszczalności w wodzie, co ułatwia wydalanie. Niekiedy jednak reakcje te prowadzą do zwiększenia reaktywności lub aktywności biologicznej związku. Ta pierwsza sytuacja odnosi się do wielu chemicznych kancerogenów, natomiast zwiększona aktywność biologiczna jest pożądana w przypadku proleków.

Poszczególne izoformy P450 występują na zróżnicowanym poziomie w różnych typach tkanek i komórek, a ekspresja ich genów i w konsekwencji ostateczna aktywność podlega selektywnej regulacji. Ponadto zaobserwowano, że geny niektórych izoform P450 ulegają ekspresji na odmiennym poziomie w komórkach zmienionych nowotworowo, w porównaniu do komórek prawidłowych. W związku z tym izoenzymy cytochromu P450 mogą być potencjalnie wykorzystywane jako markery procesu nowotworowego, a także jako cele oddziaływania strategii terapeutycznych lub prewencyjnych.

W ostatnich latach opisano nowe izoformy cytochromu P450, których funkcja fizjologiczna często nie jest jeszcze dokładnie poznana. Niekiedy są to postaci „sieroce”, o nieznanym substracie endogennym.

W artykule podsumowano aktualny stan wiedzy na temat wybranych izoform cytochromu P450, które mogą być potencjalnie wykorzystane jako biomarkery chorób nowotworowych oraz punkty uchwytu strategii chemioprewencyjnych i terapeutycznych. Opisano izoformę P450 1B1 oraz zaliczane do izoform „sierocych”: P450 2W1, P450 2S1, P450 2R1, P450 2U1.

P450 1B1

P450 1B1 jest jedynym przedstawicielem zidentyfikowanej stosunkowo niedawno podrodziny P450 1B. Dotąd udało się sklonować i scharakteryzować mysie, szczurze oraz ludzkie geny *P450 1B1*. Ludzki P450 1B1 został po raz pierwszy wyizolowany z traktowanych 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioksyną (TCDD) keratynocytów w 1994 roku. Gen dla tej izoformy umiejscowiony w chromosomie 2p21-22 obejmuje około 12 tysięcy par zasad i złożony jest z trzech eksonów oraz dwóch intronów. Jest to jeden z największych znanych genów cytochromu P450 – powstający w wyniku transkrypcji i zbudowany z 5,2 tysięcy par zasad mRNA, koduje bowiem białko złożone z 543 amino-

kwasów. Jednocześnie powstający na skutek translacji izoenzym należy do najprostszych pod względem struktury [28,48]. Mimo wysokiego stopnia homologii sekwencji aminokwasowej genów (>80%): mysiego, szczurzego oraz ludzkiego, występują znaczące różnice w tkankowości ekspresji, regulacji, a także swoistości metabolicznej.

P450 1B1 wykazuje ekspresję w pozawątrobowych tkankach steroidogennych np. jajnikach, jądrach oraz w tkankach docelowych hormonów steroidowych np. gruczole piersiowy, macicy, prostaty. Obecność tego izoenzymu została również wykazana w sercu, nerkach, jelitach, mózgu [19].

Izoforma *P450 1B1* metabolizuje, podobnie jak inne enzymy z rodziny *P450 1*, szeroki zakres ksenobiotyków. Ma ona zdolność aktywowania wiele kancerogenów środowiskowych i żywnościowych oraz składników dymu tytoniowego, w tym wielopierścieniowych węglowodórów aromatycznych (WWA) [19,32]. W tabeli 1 przedstawiono substraty *P450 1B1*.

Ekspresja *P450 1B1* podlega regulacji z udziałem niektórych podstawowych czynników transkrypcyjnych,

włącznie z receptorem węglowodórów aromatycznych (AhR) i receptorem estrogenowym (ER). Regulacja ekspresji *P450 1B1* jest częściowo zależna od czynnika indukowanego hipoksją 1 α (HIF-1 α), uważanego za podstawowy przełącznik molekularny, wpływający na ekspresję genów w odpowiedzi na obniżone ciśnienie tlenu, co występuje w komórkach nowotworowych. Przy prawidłowym ciśnieniu tlenu HIF-1 α ulega hydroksylacji, co predysponuje go do poliubikwitynylacji i degradacji proteasomalnej. W warunkach hipoksji HIF-1 α ulega stabilizacji i translokacji do jądra komórkowego, gdzie tworzy heterodimer HIF-1, będący połączeniem z białkiem HIF-1 β . Ten heterodimer bywa nazywany jądrowym translokatorem receptora węglowodórów aromatycznych (aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator – ARNT). Z kolei ARNT tworzy dimer z receptorem węglowodórów aromatycznych i aktywuje ekspresję genów po połączeniu z sekwencją konsensusową TNGCGTG w tzw. elementach odpowiedzi na ksenobiotyki w genach docelowych. Takie działanie może prowadzić do zwiększenia ekspresji *P450 1B1* i 1A1 [41].

Udowodniona w licznych badaniach obecność *P450 1B1* w różnych typach komórek nowotworowych sugeruje

Tabela 1. Substraty dla wybranych nowych izoform P450 (zmodyfikowano wg [13,19,24])

P450 1B1	P450 2W1	P450 2S1
Benzo[a]piren	kwas arachidonowy	benzo[a]piren
7,12-dimetylobenzo[a]antracen	benzofetamina	9,10-dihydro-benzo[a]piren
Benzo[a]antracen	dimetylonitrozoamina	7,12-dimetylobenzo[a]antracen
3-metylocholanren	naftalen	benzo[a]pireno-7,8-dihydrodiol
Estradiol	testosteron	aflatoksyna B1
Mitoksantron	benzo[a]piren	naftalen
Paklitaksel	kwas all- <i>trans</i> -retinowy	styren
Resweratrol	kwas oleinowy	kwas all- <i>trans</i> -retinowy
	dibenzo[a,l]piren	metoksyrezorufina
	7,12-dimetylobenzo[a]antraceno-3,4-diol	
	benzo[a]antraceno-3,4-diol	
	5,6-dimetylochryzeno-1,2-diol	
	chryzeno-1,2-diol	
	7,12-dimetylobenzo[a]antraceno-3,4-diol	
	(-)-benzo[a]pireno-7,8-diol	
	(+)-benzo[a]pireno-7,8-diol	
	dibenzo[a,l]pireno-11,12-diol	
	5-metylochryzeno-1,2-diol	
	(+/-)-benzo[a]pireno-7,8-diol	
	sterigmatocystyna	
	aflatoksyna B1	
	3-metoksy-4-aminoazobenzen	
	2-aminofluoren	
	2-aminoantracen	
	Trp-P-1 (3-amino-1,4-dimetylo-5H-pirydo[4,3-b]indol)	
	MeIQ (2-amino-3,4-dimetyloimidazo[4,5-f]chinolina)	

jego udział w procesie kancerogenezy, a także w zjawisku lekooporności obserwowanej w przebiegu terapii. Zwiększony poziom białka enzymatycznego *P450 1B1* stwierdza się w komórkach nowotworowych tkanki łącznej, piersi, pęcherza moczowego, mózgu, okrężnicy, przełyku, nerek, wątroby, płuc, węzłów chłonnych, jajnika, skóry, jelita cienkiego, żołądka, jąder i macicy. Brak lub bardzo niski poziom białka stwierdza się natomiast w tkankach prawidłowych. Nadekspresja *P450 1B1* związana jest przypuszczalnie z regulacją na dwóch poziomach: transkrypcyjnym i potranskrypcyjnym. Interesujące jest to, że nie zaobserwowano istotnych różnic w poziomach mRNA dla genu *P450 1B1* między tkankami zdrowymi, a zmienionymi nowotworowo, co może sugerować istnienie regulacji na poziomie potranskrypcyjnym [50].

Szczególną rolę *P450 1B1* pełni w procesie rozwoju nowotworu gruczołu piersiowego. Izoforma ta jest enzymem katalizującym hydroksylację estrogenów do 4-hydroksyestrogenów, co jednocześnie indukuje działanie genotoksyczne tych hormonów i wydaje się, że odgrywa istotną rolę w rozwoju niektórych nowotworów [22]. Ekspresję *P450 1B1* oraz powstawanie 4-hydroksyestradiolu powiązano z nowotworami estrogenozależnymi u różnych gatunków zwierząt i człowieka. Metabolit 4-hydroksyestradiolu ma najwyższą aktywność kancerogenną, a także estrogeną i jest obecny w większych ilościach w komórkach raka piersi, niż inne metabolity 17 β -estradiolu [20]. Polimorfizm *P450 1B1* jest jednym z czynników ryzyka zapadalności na raka piersi w niektórych populacjach. Wydaje się, że dwa popularne warianty polimorficzne, zawierające mutacje w eksonie 2 (kodon 119, Ala $\rightarrow$ Ser) i eksonie 3 (kodon 432, Val $\rightarrow$ Leu) kodujących domenę wiążącą hem, mają zmodyfikowaną aktywność enzymatyczną [22]. To powinno wyjaśnić międzysobnicze różnice w predyspozycjach na zapadalność na nowotwory, wywołane kancerogenami środowiskowymi. Badania populacyjne na grupach wykazujących się wysokim stopniem podobieństwa genetycznego, np. Chińczyków Han [22] lub populacji Japonii [51], wskazują na istnienie powiązania między polimorfizmem *P450 1B1* i częstością zachorowań na raka piersi. Istnieją jednak pewne doniesienia, sugerujące występowanie wariantów polimorficznych o działaniu protekcyjnym, takim jak np. badania na grupie kobiet z Szanghaju, kobiet rasy kaukaskiej i Afroamerykanek z Nashville w stanie Tennessee oraz kobiet z Polski [3,16,53].

Dodatkowo wykazano, że w mikrośrodowisku guza zauważalna jest zróżnicowana ekspresja *P450 1B1* [27]. Badania z zastosowaniem ludzkich komórek raka endometrium linii KLE, Ishikawa, HEC-1-B i RL95-2 [40] wskazały także na odmienny profil ekspresji *P450 1B1* w nowotworach endometrialnych oraz że osłabienie tej ekspresji działa antyproliferacyjnie i proapoptotycznie. Z kolei zwiększenie ekspresji może być związane z większą inwazyjnością raka. Brandi i wsp. opisali przypadek pacjenta z rakiem prostaty po całkowitej prostatektomii, posiadającego wariant polimorficzny

P450 1B1, u którego zaobserwowano całkowitą remisję zaledwie po dwóch cyklach chemioterapii docetakselą [4]. W badaniach Sissunga i wsp. w grupie 52 mężczyzn z rakiem prostaty otrzymujących docetaksel zaobserwowano, że pacjenci posiadający dwie kopie wariantu polimorficznego *P450 1B1**3 gorzej odpowiadali na terapię w porównaniu z pacjentami posiadającymi co najmniej jedną kopię allelu *P450 1B1**1 [42]. Wykazano ponadto, że klirens docetakselu nie jest związany z posiadanym wariantem polimorficznym *P450 1B1* oraz że enzym ten nie bierze udziału w metabolizmie docetakselu, co wskazuje, że indywidualne różnice w odpowiedzi na terapię docetakselą nie są związane z różnicą metabolizmu tego leku. Wykazano również, że nadekspresja *P450 1B1* związana jest z odwracalną opornością na docetaksel [29]. Te doniesienia podkreślają istotną rolę *P450 1B1* w modulacji aktywności leków przeciwnowotworowych.

Aby wyjaśnić związek między statusem genetycznym *P450 1B1*, a skutecznością terapii docetakselą, wysunięto dwie hipotezy. Pierwsza z nich zakłada, że *P450 1B1* obniża efektywne stężenie leku w komórkach nowotworowych, przez wiązanie wewnątrzkomórkowej puli leku. Druga z kolei zakłada, że metabolizm z udziałem *P450 1B1* prowadzi do zwiększonego poziomu różnych substancji o działaniu genotoksycznym, co wpływa na przeżywalność komórek nowotworowych. Odkryto, że pochodne chinonowe dwóch metabolitów katecholowych estrogenów, wykazują działanie hamujące polimeryzację tubuliny, która występuje podczas terapii docetakselą i paklitakselą. Może to obniżyć odpowiedź na chemioterapię [29].

P450 1B1 jest także istotny w farmakoterapii nowotworów androgenozależnych, takich jak rak prostaty czy jąder. Może on być nawet rozważany jako przedmiot prostatoswoistej terapii przeciwnowotworowej. Wykazano, że izoenzym ten ma zdolność metabolizowania flutamidu, niesteroidowego antyandrogenu stosowanego w leczeniu nowotworu prostaty, powodując różną odpowiedź nowotworu na terapię tym lekiem [43]. Przedstawione wyżej dane wskazują, że izoforma ta może mieć potencjalne zastosowanie jako biomarker procesu nowotworzenia oraz jako cel oddziaływania strategii antynowotworowych.

P450 1B1 jest również zaangażowany w szlaki metaboliczne komórek nowotworowych endometrium, związane z cyklem komórkowym, adhezją lub apoptozą. Izoenzym ten może także współuczestniczyć w regulacji białek zaangażowanych w kontrolę cyklu komórkowego, takich jak cyklina E1, Skp2 oraz TRAIL [40]. Sugeruje się, że białka te są potencjalnymi celami w terapiach nowotworowych, w związku z tym hamowanie ekspresji *P450 1B1* mogłoby teoretycznie sprzyjać skuteczności takich terapii.

P450 1B1 był przedmiotem badań w kontekście chemoprewencyjnego oddziaływania wielu składników diety.

Wykazano, że izoforma ta jest zaangażowana w aktywację metaboliczną resweratrolu, związku obecnego w skórce czerwonych winogron, żurawinie, orzeszkach ziemnych oraz czerwonym winie, mającego potencjalne właściwości chemioprewencyjne i antynowotworowe. Pod wpływem P450 1B1 resweratrol ulega przekształceniu do piceatannolu, czynnika cytotoksycznego w stosunku do komórek nowotworowych [50]. Związek ten ma zdolność bezpośredniego hamowania P450 1B1, jednak nie inaktywuje tego enzymu całkowicie [6]. Wobec tego wydaje się prawdopodobne, że niektóre z antynowotworowych właściwości związków pochodzenia roślinnego, w tym polifenoli, mogą wynikać z ich aktywacji metabolicznej z udziałem P450 1B1. Wykazano, że resweratrol hamuje aktywność P450 1B1 w modelach *in vitro* – w ludzkich komórkach nabłonka oskrzeli oraz nabłonka gruczołu piersiowego [8,30]. Szaefer i wsp. [45] badali wpływ roślinnych związków fenolowych: wymienionego wyżej resweratrolu oraz kwasu protokatechowego, chlorogenowego i taninowego na poziom P450 1B1 w modelu *in vivo* – naskórka myszy. Zaobserwowano obniżenie indukowanego przez benzo[a]piren (B[a]P) poziomu białka P450 1B1 pod wpływem kwasu taninowego. Ci sami autorzy [46] oceniali także wpływ innych związków o potencjalnym działaniu chemioprewencyjnym: soków z kapusty oraz obecnego w znacznych ilościach w warzywach z rodziny krzyżowych: indolo-3-karbinolu oraz jego metabolitu 3,3'-diindolilometanu na profil ekspresji enzymów cytochromu P450 zaangażowanych w metabolizm estrogenów (w tym P450 1B1) w komórkach nowotworu piersi. Wykazano zróżnicowaną ekspresję P450 1B1 pod wpływem wymienionych związków w zależności od stopnia agresywności zastosowanych linii komórkowych. Przedstawione dane dowodzą możliwości wykorzystania P450 1B1 jako celu oddziaływania potencjalnych czynników chemioprewencyjnych.

P450 2W1

Dzięki badaniom w ramach projektu poznania ludzkiego genomu (Human Genome Project) odkryto m.in. nową izoformę cytochromu P450 – P450 2W1. Gen *P450 2W1* jest umiejscowiony na chromosomie 7 i wykazuje typową dla rodziny 2 strukturę z 9 eksonami. Przewidywana sekwencja 490 aminokwasów wykazuje 33-42% identyczności z członkami rodziny P450 2 [25]. *P450 2W1* wykazuje ekspresję w tkankach płodowych, a także w tkankach zmienionych nowotworowo u dorosłych, natomiast nie stwierdzono mRNA dla genu *P450 2W1* lub jego poziom był znikomy w prawidłowych dojrzałych tkankach. Wydaje się, że gen ten jest niezbędny do wzrostu płodowego, następnie ulega wyciszeniu od chwili narodzin, by ostatecznie wykazywać aktywność w tkankach nowotworowych. Ten osobliwy profil ekspresji pozwala uznać, że P450 2W1 odgrywa istotną rolę w tkankach intensywnie proliferujących. Badania nad swoistą ekspresją *P450 2W1* w poszczególnych typach tkanek i komórek są jednak ciągle w początkowym stadium i często dostarczają przeciwstaw-

nych wyników. Karlgren i wsp. [24] odkryli na przykład ekspresję *P450 2W1* w 54% wszystkich badanych próbek guzów, natomiast poziom mRNA tego genu był bardzo niski lub nieoznaczalny w tkankach płodowych i prawidłowych tkankach dojrzałych. Guzy okrężnicy i nadnerczy wykazywały najwyższy poziom ekspresji *P450 2W1*. Badania Tana i wsp. [47] potwierdziły wysoką ekspresję *P450 2W1* w guzach okrężnicy i wykazały, że izoenzym ten odgrywa bardzo ważną rolę w biotransformacji 2-(3,4-dimetoksyfenilo)-5-fluorobenzotiazolu do postaci aktywnej chemioprewencyjnie w komórkach nowotworu okrężnicy.

W innych badaniach z wykorzystaniem analizy Northern blot i mRNA dot-blot, nie wykazano istotnej ekspresji *P450 2W1* w prawidłowych tkankach wątroby, nerek, jelita cienkiego, żołądka, płuc, tchawicy i śledziony osób dorosłych. Co ciekawe, analogiczne analizy przeprowadzone na tkankach płodowych (mózg, serce, nerki, wątroba, śledziona, grasicca i płuca), nie wykazały ekspresji *P450 2W1* [25]. Inni badacze wykryli z kolei transkrypty tego genu w dojrzałych tkankach śledziony, jąder, płuc, trzustki, łożyska, jajników, grasicy, prostaty, okrężnicy i jelita cienkiego [11]. Aung i wsp. [1] wykryli transkrypty *P450 2W1* w transformowanych nowotworowo komórkach żołądka, podczas gdy w prawidłowych komórkach tego narządu nie są one wykrywalne. Te obserwacje wskazują na potencjalną rolę, jaką *P450 2W1* może odgrywać w kancerogenezie układu pokarmowego. W większości przypadków ekspresję tej izoformy stwierdzano przede wszystkim w tkankach zmienionych nowotworowo. Ponadto, cytochrom P450 2W1 aktywuje wiele prokancerogenów, co wraz z poprzednią obserwacją pozwala uważać, że izoforma ta może sprzyjać akumulacji uszkodzeń DNA w zmienionych nowotworowo tkankach, przyczyniając się w ten sposób do przyspieszenia rozwoju choroby [55].

Zmiany poziomu ekspresji *P450 2W1* w różnych typach komórek można przypisać różnicom w metylacji DNA [2]. Zaobserwowano obecność tego genu w postaci zmetylowanej m.in. w embrionalnych nefrocycie linii HEK293 [24]. Natomiast w komórkach nowotworowych raka wątroby linii HepG2 gen *P450 2W1* ulega aktywnej transkrypcji, a jego wyspy CpG nie są zmetylowane, podczas gdy w linii B16A2 jest on wyciszony przez hipermetylację wyspy CpG w jednym z eksonów. Interesujące jest to, że w komórkach embrionalnych HEK293 wykryto również białko P450 2W1, lecz w postaci glikozylowanej, co prawdopodobnie uniemożliwia pełnienie prawidłowej funkcji enzymatycznej [17].

Swoisty profil ekspresji genu *P450 2W1* sugeruje jego istotną rolę w tkankach i komórkach intensywnie dzielących się. Może on być zaangażowany w metabolizm endogennych substratów potrzebnych do wzrostu i rozwoju komórek [2].

Aby w pełni zrozumieć rolę P450 2W1 w rozwoju osobniczym człowieka należy przeprowadzić wiele dalszych

badani. Niewątpliwie nadal niewyjaśniona pozostaje rola tego białka w dojrzałych tkankach o wysokim stopniu proliferacji. Mechanizm represji ekspresji *P450 2W1* w dojrzałych tkankach prawidłowych także nie jest do końca poznany. Jako jedną z możliwości proponuje się procesy hipermetylacji rejonu promotorowego tego genu. *P450 2W1* ma dwie wyspy CpG w obrębie rejonu promotorowego: jedną w rejonie od końca 5'(-2032 do -1471 pz) i w obrębie pierwszego eksonu i pierwszego intronu (+55 do +305 pz) [24].

Interesującym zagadnieniem jest określenie swoistości substratowej *P450 2W1*, co pozwoliłoby na opracowanie potencjalnych cząsteczek proleków, które mogłyby ulegać aktywacji metabolicznej wyłącznie w tkankach zmienionych nowotworowo, ograniczając działania niepożądane cytostatyków na organizm pacjenta. Karlgren i wsp. [24] stwierdzili, że cytochrom ten katalizuje utlenianie kwasu arachidonowego do kwasów 8,9-dihydroksyeikozatrienowego (DHET), 11,12-DHET i 14,15-DHET w komórkach linii HEK293. Wu i wsp. [55] używając zrekombinowanego szczepu *E. coli* wykazali udział *P450 2W1* w N-demetylacji benzofetaminy i oksydacji kwasu arachidonowego, a także w aktywacji metabolicznej niektórych prokancerogenów, zwłaszcza dioli WWA. Katalizowanie oksydacji związków indolowych zaobserwowała z kolei (w tym samym modelu doświadczalnym) grupa Yoshioka i wsp. [56]. Zaobserwowano, że oksydacja pochodnych kwasów tłuszczowych katalizowana jest w niskim stopniu [24,55]. Dotychczas poznane substraty *P450 2W1* przedstawiono w tabeli 1. Na obecnym etapie próbuje się poszukiwać optymalnych struktur potencjalnych proleków, będących substratami tej izoformy.

Jak wspomniano wyżej, odkrycie wybiórczej ekspresji genu *P450 2W1* w komórkach zmienionych nowotworowo stworzyło potencjalną możliwość zastosowania proleków aktywowanych przez ten enzym, które niszczyłyby wyłącznie komórki raka, nie czyniąc żadnej szkody komórkom zdrowym.

P450 2S1

P450 2S1 został odkryty przez Rylandera i wsp. [38] w 2001 roku podczas badań ludzkiego genomu. Mysi *P450 2S1* został następnie zidentyfikowany przez Rivera i wsp. [36] w 2002 jako gen indukowany przez TCDD. Gen kodujący tę izoformę zlokalizowano na chromosomie 19 (*locus*:19q13.2) w obrębie klastra zawierającego sekwencje cytochromów *P450* rodziny 2: *P450 2A6*, *P450 2A13*, *P450 2B6* i *P450 2F1* [39]. Badania przeprowadzone z użyciem ludzkich i mysich tkanek oraz linii komórkowych wykazały, że *P450 2S1* jest głównie enzymem pozawątrobowym [13]. Białko enzymatyczne jest obecne w skórze człowieka, z tendencją do wzrostu poziomu przy naświetlaniu światłem UV [44] oraz w większości tkanek epitelialnych, takich jak płuca, trakt jelitowy, a także podczas embriogenezy [37]. Niedawne badania wykazały, że *P450 2S1* ulega ekspresji w większości ludz-

kich i mysich tkanek, przy czym poziomy ekspresji były wyższe w jelicie cienkim, tchawicy, płucach i nerkach niż w innych tkankach. Nie potwierdzono natomiast ekspresji *P450 2S1* u szczurów. Fizjologiczna rola *P450 2S1* nie jest znana. Jak wskazano w tabeli 1, potencjalnymi substratami dla ludzkiego *P450 2S1* są kwas all-*trans*-retinowy, WWA i metoksyrezorufina. Dodatkowo wykazano, że *P450 2S1* ma zdolność do katalizowania redukcji substratu AQ4N, di-N-tlenku AQ4 [1,4-bis(2-(dimetyloamino)etylo)amino]-5,8-dihydroksyantraceno-9,4-dionu], leku hamującego topoizomerazę [18].

Kwas all-*trans*-retinowy z udziałem *P450 2S1* ulega przekształceniu do pochodnych 4-hydroksy i 5,6-epoksydów. Jednocześnie związek ten jest induktorem *P450 2S1* [44], co potwierdziły badania przeprowadzone na ludzkich keratynocytach [35]. Jak już wspomniano, *P450 2S1* jest indukowany przez TCDD oraz hipoksję [5]. Badania Nishida i wsp. [34] wykazały, że zarówno *P450 2S1*, jak i *P450 2W1* ulegają wyższej ekspresji w komórkach nowotworowych w stanie hipoksji niż w prawidłowej tkance. Kontrolę transkrypcyjną nad ekspresją genu *P450 2S1* sprawuje AhR i ARNT [37].

Wydaje się, że *P450 2S1* może odgrywać istotną rolę w metabolizmie kancerogenów środowiskowych i w ich aktywacji metabolicznej. Przesłanką uzasadniającą takie stwierdzenie jest to, że inne izoformy, podobnie jak *P450 2S1*, indukowane dioksynami (*P450 1A1*, *P450 1A2* i *P450 1B1*) są zaangażowane w aktywację prokancerogenów oraz to, że *P450 2S1* ulega ekspresji na wysokim poziomie w tkankach nabłonkowych o wysokim stopniu narażenia na czynniki środowiskowe. Ponadto profil ekspresji tego cytochromu jest podobny do omówionej wyżej izoformy *P450 1B1*.

Ekspresja genu kodującego izoformę *P450 2S1* występuje głównie w tkance nowotworowej i ulega indukcji pod wpływem WWA. Badania dotyczące ekspresji enzymów metabolizujących ksenobiotyki w różnych rejonach płuc u osób palących i niepalących wykazały znaczącą indukcję *P450 2S1* w popłuczynach oskrzelowo-płucnych u osób palących. Może to potwierdzać zaangażowanie tego izoenzymu w metaboliczną aktywację WWA, będących składnikami dymu tytoniowego, a tym samym sprzyjanie powstawaniu nowotworu płuc [49]. Ponadto sugeruje się, że nadtlenki kwasów tłuszczowych mogą służyć jako fizjologiczne kofaktory w katalizowanym przez *P450 2S1* utlenianiu 7,8-diolu-B[a]P i tym samym zarówno nadtlenki kwasów tłuszczowych, jak i *P450 2S1* mogą odgrywać ważną rolę w indukowanej przez B[a]P kancerogenezie [5]. Tan i wsp. [47] badając funkcjonalną rolę *P450 2S1* i *2W1* w zwiększaniu aktywności przeciwnowotworowej związków benzotiazolowych w komórkach nowotworu piersi i okrężnicy wykazali, że *P450 2S1* prawdopodobnie jest zaangażowany w deaktywację benzotiazoli. Badania dotyczące profilu ekspresji różnych izoform cytochromu *P450* w nowotworach okrężnicy, jajników i piersi u ludzi potwierdziły wysoki poziom ekspresji *P450 2S1* w wymienionych wyżej nowo-

tworach [15,26,31]. W przypadku pierwotnych nowotworów okrężnicy poziom P450 2S1 był znacząco wyższy niż w prawidłowej okrężnicy. Z kolei ekspresja P450 2S1 w nowotworach jajnika z przerzutami była znacząco wyższa niż w pierwotnych nowotworach jajnika. P450 2S1 okazał się także jednym z głównych izoenzymów cytochromu P450 w raku piersi. Przedstawione wyżej dane uzasadniają poszukiwanie możliwości zastosowania P450 2S1 w chemioprewencji i terapii nowotworów.

P450 2R1

Gen *P450 2R1* jest umiejscowiony na chromosomie 11p15.2 i ma 5 eksonów, co odróżnia go od większości pozostałych członków rodziny P450 2, zawierających 9 eksonów. Badania dotyczące tkankowego rozmieszczenia P450 2R1 u ludzi i myszy wykazały u ludzi najwyższe poziomy mRNA w trzustce, wątrobie i nerkach, natomiast u myszy w wątrobie i jądrach [25]. Udowodniono, że P450 2R1 jest aktywny w 25-hydroksylacji witaminy D₂ i D₃ [10]. Wysoka ekspresja w wątrobie, udział w metabolizmie obu witamin D₂ i D₃ łącznie z wysoką konserwatywnością u różnych gatunków wskazują, że może on stanowić nieznaną poprzednio 25-hydroksylazę mikrosomów wątroby. Ponadto została opisana mutacja w drugim eksonie genu *P450 2R1* u pacjenta z niedoborem witaminy D. Powodowało to wymianę aminokwasu w pozycji 99, gdzie leucyna została zastąpiona przez prolinę. Zmutowany enzym P450 2R1 nie był zdolny do metabolizowania witaminy D₃ [9]. Dotychczas nie zidentyfikowano substratu dla P450 2R1. Także rola tego enzymu w metabolizmie chemicznych ksenobiotyków pozostaje nieznana.

Nieliczne prace poświęcono znaczeniu tej izoformy w patogenezie i chemioprewencji nowotworów. Badania dotyczące profilu ekspresji różnych izoform cytochromu P450 w nowotworach jajnika wykazały, że poziom P450 2R1 jest znacząco wyższy w pierwotnym raku jajnika w porównaniu z tkanką prawidłową [15]. Z kolei Chen i wsp. [7] oceniając znaczenie izoenzymów P450 w rozwoju i leczeniu nowotworu prostaty sugerowali, że ze względu na udział P450 2R1 w metabolizmie witaminy D w prostacie analogi witaminy D mogą zostać wykorzystane w prewencji i leczeniu nowotworu prostaty.

P450 2U1

P450 2U1 został wyizolowany przez Chuanga i wsp. [12] oraz Kalgren i wsp. [23] jako nowy P450 odgrywający ważną rolę w modelowaniu ścieżki sygnałowej kwasu arachidonowego. Gen *P450 2U1* jest jedynym członkiem ludzkiej rodziny P450 2U zlokalizowanym na chromosomie 4q25. Jest on blisko spokrewniony z P450 2R1 i podobnie jak ten ostatni ma 5 eksonów [14].

Analogicznie jak *P450 2R1*, *2U1* jest wysoce konserwatywny, przy czym ludzki *P450 2U1* wykazuje odpowiednio 58 i 78% identyczności z *P450 2U1* ryby fugi i myszy.

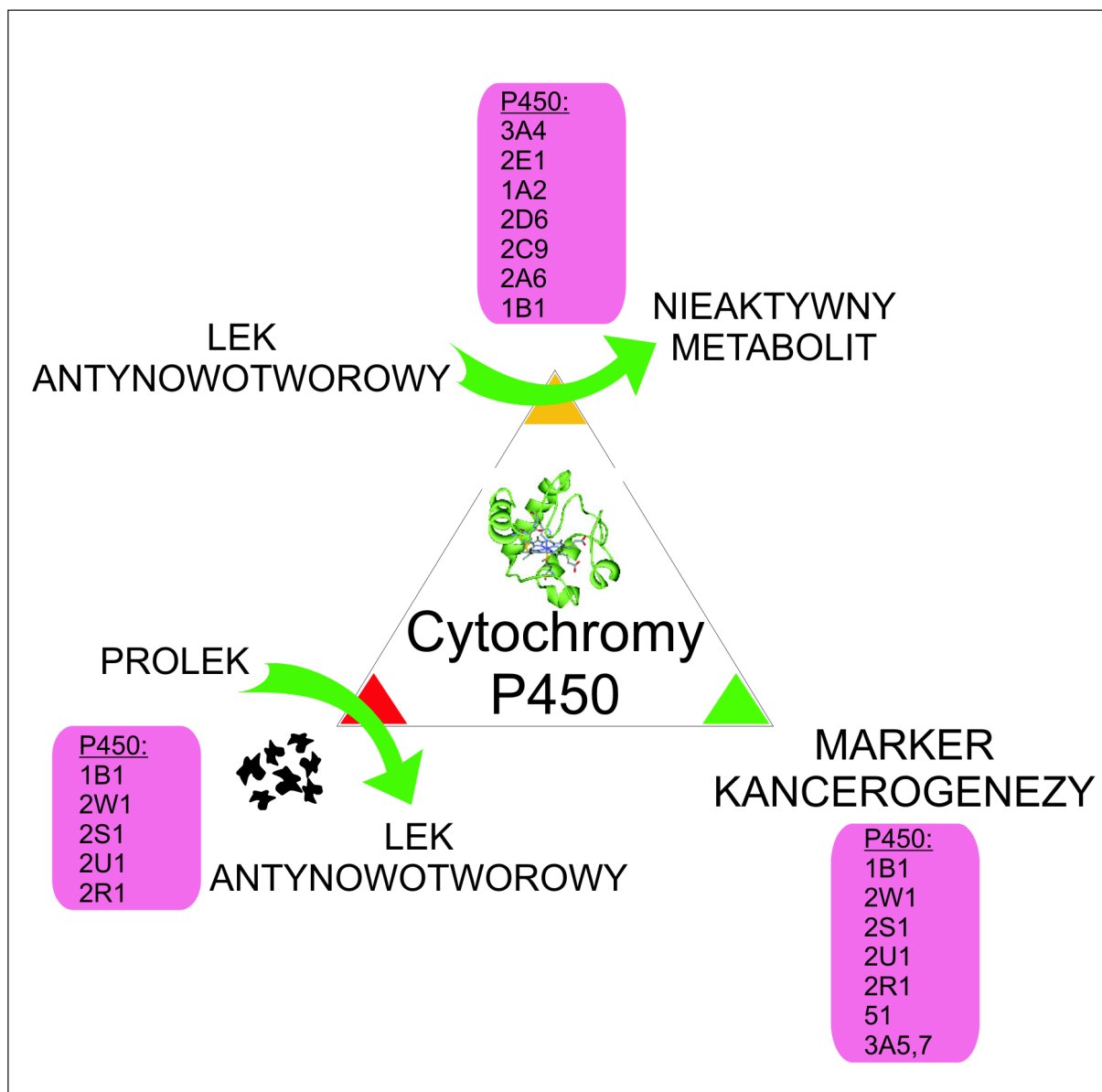
P450 2U1 różni się w swojej pierwszorzędowej strukturze w porównaniu do innych członków rodziny P450 2. Podobieństwo sekwencji aminokwasowej P450 2U1 jest najbliższe do P450 2R1 i 2D6, a także do P450 2C5 królika i wykazuje około 50 dodatkowych aminokwasów w N-końcowej części, w porównaniu do innych enzymów P450 z rodziny 2. Jeden region ma około 20 aminokwasów i jest zlokalizowany przy samym końcu N, a za rejonem kotwiczącym w błonie jest umieszczona sekwencja dodatkowych 25 aminokwasów. Jest możliwe, że te dodatkowe sekwencje wpływają na związanie z błoną, wewnątrzkomórkową lokalizację lub samą strukturę enzymu P450 2U1 [25].

P450 2U1 ulega wysokiej ekspresji w mózgu i grasicy oraz w mniejszym stopniu w innych tkankach, takich jak nerki, płuca i serce. Wykazano, że izoenzym ten metabolizuje kwas arachidonowy i inne długołańcuchowe kwasy tłuszczowe. Białko P450 2U1 katalizuje zwłaszcza hydroksylację kwasu arachidonowego do dwóch metabolitów: 19- i 20-hidroksy, których fizjologiczne funkcje są bardzo ważne. Wykazano, że metabolit 20-hidroksy służy jako endogenne czynnik zwężający naczynia krwionośne w mózgu i nerkach. Chociaż fizjologiczna funkcja P450 2U1 pozostaje do wyjaśnienia, jego selektywna ekspresja i zdolność do metabolizowania kwasu arachidonowego, może sugerować jego rolę w regulacji przepływu krwi w tych tkankach [14].

Dalszego wyjaśnienia wymaga rola tego enzymu w metabolizmie ksenobiotyków. P450 2U1 okazał się jednym z izoenzymów ulegających ekspresji w nowotworach różnych narządów. W przypadku nowotworu jajnika poziom P450 2U1, podobnie jak P450 2R1 był znacząco wyższy w stosunku do prawidłowej tkanki [15]. Podobną zależność wykazano dla nowotworu okrężnicy [26], a także w raku piersi [31]. Przedstawione dane wskazują na możliwość wykorzystania tego izoenzymu P450 jako celu strategii terapeutycznej.

PODSUMOWANIE

Rosnąca liczba zachorowań na choroby nowotworowe sprawia, że ciągle ważne jest poszukiwanie nowych biomarkerów procesu nowotworzenia. Jedną z grup takich biomarkerów mogą stanowić opisane nowe izoformy cytochromu P450, których ekspresja ulega zwiększeniu w poszczególnych rodzajach nowotworów. Ich charakterystykę, a także możliwe zastosowanie innych postaci cytochromu P450 przedstawia rycina 1. Izoformy te mogą być wykorzystywane nie tylko jako biomarkery procesu nowotworzenia, ale także jako aktywatory proleków w tkankach nowotworowych. Stwarza to możliwość opracowywania nowych terapii nowotworów, np. opisanej niedawno genowo ukierunkowanej terapii enzym-prolek (gene-directed enzyme prodrug therapy – GDEPT). Zakłada ona stosowanie substancji o niskiej aktywności, o charakterze proleku, która ulega aktywacji metabolicznej, katalizowanej przez odpowiednie izoformy cytochromu P450, najlepiej takie, które wy-



Ryc. 1. Potencjalne wykorzystanie poszczególnych izoform CYP, jako aktywatorów proleków, enzymów odpowiedzialnych za dezaktywację leków przeciwnowotworowych oraz markerów procesu nowotworowego

kazują zwiększoną aktywność w tkankach zmienionych nowotworowo.

Przykładem wykorzystania zdolności P450 do aktywacji proleków przeciwnowotworowych są badania z wykorzystaniem myszy z nadekspresją *P450 2B6* lub *2B1* oraz genem *CPR*. W terapii tych zwierząt, u których zastosowano cyklofosfamid i ifosfamid zaobserwowano zwiększenie działania antynowotworowego dzięki wprowadzeniu komórek z nadekspresją *CPR* [52]. Dodatkowe korzystne efekty takiej terapii zaobserwowano przy włączeniu substancji hamującej aktywność *CPR* w wątrobie, co zmniejszało aktywację metaboliczną

cyklofosfamidu w tym narządzie i działania ogólnoustrojowe [21]. Wydaje się, że w przypadku proleków będących substratami izoform opisanych w artykule, efekt terapeutyczny byłby jeszcze bardziej selektywny, a terapia miałaby mniej działań niepożądanych.

Przeprowadzone dotychczas badania pozwalają także mieć nadzieję, że modulacja opisanych nowych izoform cytochromu P450 przez naturalne składniki diety człowieka może być także wykorzystana w chemioprewencji nowotworów. Należy jednak również pamiętać, że niektóre postaci P450, w tym opisane w artykule metabolizują także leki przeciwnowotworowe, przyczyniając się do obniżenia ich skuteczności.

PIŚMIENNICTWO

- [1] Aung P.P., Oue N., Mitani Y., Nakayama H., Yoshida K., Noguchi T., Bosserhoff A.K., Yasui W.: Systematic search for gastric cancer-specific genes based on SAGE data: melanoma inhibitory activity and matrix metalloproteinase-10 are novel prognostic factors in patients with gastric cancer. *Oncogene*, 2006; 25: 2546-2557
- [2] Baer-Dubowska W., Majchrzak-Celińska A., Cichocki M.: Pharmacogenetics: a new approach to predicting individual drug responses and targeting new drugs. *Pharmacol. Rep.*, 2011; 63: 293-304
- [3] Bailey L.R., Roodi N., Dupont W.D., Parl F.F.: Association of cytochrome P450 1B1 (CYP1B1) polymorphism with steroid receptor status in breast cancer. *Cancer Res.*, 1998; 58: 5038-5041
- [4] Brandi G., de Rosa F., Danesi R., Montini G.C., Biasco G.: Durable complete response to frontline docetaxel in an advanced prostate cancer patient with favourable CYP1B1 isoforms: suggestion for changing paradigms? *Eur. Urol.*, 2008; 54: 938-941
- [5] Bui P.H., Hankinson O.: Functional characterization of human cytochrome P450 2S1 using a synthetic gene-expressed protein in *Escherichia coli*. *Mol. Pharmacol.*, 2009; 76: 1031-1043
- [6] Chang T.K., Chen J., Lee W.B.: Differential inhibition and inactivation of human CYP1 enzymes by trans-resveratrol: evidence for mechanism-based inactivation of CYP1A2. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 2001; 299: 874-882
- [7] Chen T.C., Sakaki T., Yamamoto K., Kittaka A.: The roles of cytochrome P450 enzymes in prostate cancer development and treatment. *Anticancer Res.*, 2012; 32: 291-298
- [8] Chen Z.H., Hurh Y.J., Na H.K., Kim J.H., Chun Y.J., Kim D.H., Kang K.S., Cho M.H., Surh Y.J.: Resveratrol inhibits TCDD-induced expression of CYP1A1 and CYP1B1 and catechol estrogen-mediated oxidative DNA damage in cultured human mammary epithelial cells. *Carcinogenesis*, 2004; 25: 2005-2013
- [9] Cheng J.B., Levine M.A., Bell N.H., Mangelsdorf D.J., Russell D.W.: Genetic evidence that the human CYP2R1 enzyme is a key vitamin D 25-hydroxylase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2004; 101: 7711-7715
- [10] Cheng J.B., Motola D.L., Mangelsdorf D.J., Russell D.W.: De-orphanization of cytochrome P450 2R1: a microsomal vitamin D 25-hydroxylase. *J. Biol. Chem.*, 2003; 278: 38084-38093
- [11] Choudhary D., Jansson I., Stoilov I., Sarfarazi M., Schenkman J.B.: Expression patterns of mouse and human CYP orthologs (families 1-4) during development and in different adult tissues. *Arch. Biochem. Biophys.*, 2005; 436: 50-61
- [12] Chuang S.S., Helvig C., Taimi M., Ramshaw H.A., Collop A.H., Amad M., White J.A., Petkovich M., Jones G., Korczak B.: CYP2U1, a novel human thymus- and brain-specific cytochrome P450, catalyzes ω - and (ω -1)-hydroxylation of fatty acids. *J. Biol. Chem.*, 2004; 279: 6305-6314
- [13] Deb S., Bandiera S.M.: Characterization of a new cytochrome P450 enzyme, CYP2S1, in rats: Its regulation by aryl hydrocarbon receptor agonists. *Toxicology*, 2010; 267: 91-98
- [14] Devos A., Cardenas C.L., Glowacki F., Engels A., Lo-Guidice J.-M., Chevalier D., Allorge D., Broly F., Cauffiez C.: Genetic polymorphism of CYP2U1, a cytochrome P450 involved in fatty acids hydroxylation. *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids*, 2010; 83: 105-110
- [15] Downie D., McFadyen M.C., Rooney P.H., Cruickshank M.E., Parkin D.E., Miller I.D., Telfer C., Melvin W.T., Murray G.I.: Profiling cytochrome P450 expression in ovarian cancer: identification of prognostic markers. *Clin. Cancer Res.*, 2005; 11: 7369-7375
- [16] Gaudet M.M., Chanock S., Lissowska J., Berndt S.I., Yang X.R., Peplonska B., Brinton L.A., Welch R., Yeager M., Bardin-Mikolajczak A., Sherman M.E., Sutter T.R., Garcia-Closas M.: Genetic variation of cytochrome P450 1B1 (CYP1B1) and risk of breast cancer among Polish women. *Pharmacogenet. Genomics*, 2006; 16: 547-553
- [17] Gomez A., Nekvindova J., Travica S., Lee M.Y., Johansson I., Edler D., Mkrtchian S., Ingelman-Sundberg M.: Colorectal cancer-specific cytochrome P450 2W1: intracellular localization, glycosylation, and catalytic activity. *Mol. Pharmacol.*, 2010; 78: 1004-1011
- [18] Guengerich F.P., Cheng Q.: Orphans in the human cytochrome P450 superfamily: approaches to discovering functions and relevance in pharmacology. *Pharmacol. Rev.*, 2011; 63: 684-699
- [19] Guengerich F.P., Chun Y.J., Kim D., Gillam E.M., Shimada T.: Cytochrome P450 1B1: a target for inhibition in anticarcinogenesis strategies. *Mutat. Res.*, 2003; 523-524: 173-182
- [20] Hayes C.L., Spink D.C., Spink B.C., Cao J.Q., Walker N.J., Sutter T.R.: 17 β -estradiol hydroxylation catalyzed by human cytochrome P450 1B1. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1996; 93: 9776-9781
- [21] Huang Z., Raychowdhury M.K., Waxman D.J.: Impact of liver P450 reductase suppression on cyclophosphamide activation, pharmacokinetics and antitumor activity in a cytochrome P450-based cancer gene therapy model. *Cancer Gene Ther.*, 2000; 7: 1034-1042
- [22] Jiao H., Liu C., Guo W., Peng L., Chen Y., Martin F.L.: Association of CYP1B1 polymorphisms with breast cancer: A case-control study in the Han population in Ningxia Hui Autonomous Region, P. R. China. *Biomark. Insights.*, 2010; 12: 21-27
- [23] Karlgren M., Backlund M., Johansson I., Oscarson M., Ingelman-Sundberg M.: Characterization and tissue distribution of a novel human cytochrome P450-CYP2U1. *Arch. Biochem. Biophys.*, 2004; 315: 679-685
- [24] Karlgren M., Gomez A., Stark K., Svärd J., Rodriguez-Antona C., Oliu E., Bernal M.L., Ramón y Cajal S., Johansson I., Ingelman-Sundberg M.: Tumor-specific expression of the novel cytochrome P450 enzyme, CYP2W1. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2006; 341: 451-458
- [25] Karlgren M., Miura S., Ingelman-Sundberg M.: Novel extrahepatic cytochrome P450s. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 2005; 207 (2 Suppl): 57-61
- [26] Kumarakulasingham M., Rooney P.H., Dundas S.R., Telfer C., Melvin W.T., Curran S., Murray G.I.: Cytochrome P450 profile of colorectal cancer: identification of markers of prognosis. *Clin. Cancer Res.*, 2005; 11: 3758-3765
- [27] Löhr M., McFadyen M.C., Murray G.I., Melvin W.T.: Cytochrome P450 enzymes and tumor therapy. *Mol. Cancer Ther.*, 2004; 3: 1503-1504
- [28] McFadyen M.C., Breeman S., Payne S., Stirk C., Miller I.D., Melvin W.T., Murray G.I.: Immunohistochemical localization of cytochrome P450 CYP1B1 in breast cancer with monoclonal antibodies specific for CYP1B1. *J. Histochem. Cytochem.*, 1999; 47: 1457-1464
- [29] McFadyen M.C., McLeod H.L., Jackson F.C., Melvin W.T., Doehmer J., Murray G.I.: Cytochrome P450 CYP1B1 protein expression: a novel mechanism of anticancer drug resistance. *Biochem Pharmacol.*, 2001; 62: 207-212
- [30] Mollerup S., Ovrebø S., Haugen A.: Lung carcinogenesis: resveratrol modulates the expression of genes involved in the metabolism of PAH in human bronchial epithelial cells. *Int. J. Cancer*, 2001; 92: 18-25
- [31] Murray G.I., Patimalla S., Stewart K.N., Miller I.D., Heys S.D.: Profiling expression of cytochrome P450 in breast cancer. *Histopathology*, 2010; 57: 202-211
- [32] Murray G.I., Taylor M.C., McFadyen M.C., McKay J.A., Greenlee W.F., Burke M.D., Melvin W.T.: Tumor-specific expression of cytochrome P450 CYP1B1. *Cancer Res.*, 1997; 57: 3026-3031
- [33] Nelson D.R., Zeldin D.C., Hoffman S.M., Maltais L.J., Wain H.M., Nebert D.W.: Comparison of cytochrome P450 (CYP) genes from the mouse and human genomes, including nomenclature recommendations for genes, pseudogenes and alternative-splice variants. *Pharmacogenetics*, 2004; 14: 1-18

- [34] Nishida C.R., Lee M., de Montellano P.R.: Efficient hypoxic activation of the anticancer agent AQ4N by CYP2S1 and CYP2W1. *Mol. Pharmacol.*, 2010; 78: 497-502
- [35] Pavez Lorié E., Li H., Vahlquist A., Törmä H.: The involvement of cytochrome p540 (CYP)26 in the retinoic acid metabolism of human epidermal keratinocytes. *Biochim. Biophys. Acta*, 2009; 1791: 220-228
- [36] Rivera S.P., Saarikoski S.T., Hankinson O.: Identification of a novel dioxin-inducible cytochrome P450. *Mol. Pharmacol.*, 2002; 61: 255-259
- [37] Rivera S.P., Wang F., Saarikoski S.T., Taylor R.T., Chapman B., Zhang R., Hankinson O.: A novel promoter element containing multiple overlapping xenobiotic and hypoxia response elements mediates induction of cytochrome P4502S1 by both dioxin and hypoxia. *J. Biol. Chem.*, 2007; 282: 10881-10893
- [38] Rylander T., Neve E.P., Ingelman-Sundberg M., Oscarson M.: Identification and tissue distribution of the novel human cytochrome P450 2S1 (CYP2S1). *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2001; 281: 529-535
- [39] Saarikoski S.T., Rivera S.P., Hankinson O., Husgafvel-Pursiainen K.: CYP2S1: a short review. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 2005; 207 (2 Suppl): 62-69
- [40] Saini S., Hirata H., Majid S., Dahiya R.: Functional significance of cytochrome P450 1B1 in endometrial carcinogenesis. *Cancer Res.*, 2009; 69: 7038-7045
- [41] Schults M.A., Timmermans L., Godschalk R.W., Theys J., Wouters B.G., van Schooten F.J., Chiu R.K.: Diminished carcinogen detoxification is a novel mechanism for hypoxia-inducible factor 1-mediated genetic instability. *J. Biol. Chem.*, 2010; 285: 14558-14564
- [42] Sissung T.M., Danesi R., Price D.K., Steinberg S.M., de Wit R., Zahid M., Gaikwad N., Cavalieri E., Dahut W.L., Sackett D.L., Figg W.D., Sparreboom A.: Association of the CYP1B1*3 allele with survival in patients with prostate cancer receiving docetaxel. *Mol. Cancer Ther.*, 2008; 7: 19-26
- [43] Sissung T.M., Price D.K., Sparreboom A., Figg W.D.: Pharmacogenetics and regulation of human cytochrome P450 1B1: implications in hormone-mediated tumor metabolism and a novel target for therapeutic intervention. *Mol. Cancer Res.*, 2006; 4: 135-150
- [44] Smith G., Wolf C.R., Deeni Y.Y., Dawe R.S., Evans A.T., Comrie M.M., Ferguson J., Ibbotson S.H.: Cutaneous expression of cytochrome P450 CYP2S1: individuality in regulation by therapeutic agents for psoriasis and other skin diseases. *Lancet*, 2003; 361: 1336-1343
- [45] Szaefer H., Krajka-Kuźniak V., Baer-Dubowska W.: The effect of initiating doses of benzo[a]pyrene and 7,12-dimethylbenz[a]anthracene on the expression of PAH activating enzymes and its modulation by plant phenols. *Toxicology*, 2008; 251: 28-34
- [46] Szaefer H., Licznarska B., Krajka-Kuźniak V., Bartoszek A., Baer-Dubowska W.: Modulation of CYP1A1, CYP1A2 and CYP1B1 expression by cabbage juices and indoles in human breast cell lines. *Nutr. Cancer*, 2012; 64: 879-888
- [47] Tan B.S., Tiong K.H., Muruhadas A., Randhawa N., Choo H.L., Bradshaw T.D., Stevens M.F., Leong C.O.: CYP2S1 and CYP2W1 mediate 2-(3,4-dimethoxyphenyl)-5-fluorobenzothiazole (GW-610, NSC 721648) sensitivity in breast and colorectal cancer cells. *Mol. Cancer Ther.*, 2011; 10: 1982-1992
- [48] Tang Y.M., Wo Y.Y., Stewart J., Hawkins A.L., Griffin C.A., Sutter T.R., Greenlee W.F.: Isolation and characterization of the human cytochrome P450 CYP1B1 gene. *J. Biol. Chem.*, 1996; 271: 28324-28330
- [49] Thum T., Erpenbeck V.J., Moeller J., Hohlfeld J.M., Krug N., Borlak J.: Expression of xenobiotic metabolizing enzymes in different lung compartments of smokers and nonsmokers. *Environ. Health Perspect.*, 2006; 114: 1655-1661
- [50] Ware W.R.: Nutrition and the prevention and treatment of cancer: association of cytochrome P450 CYP1B1 with the role of fruit and fruit extracts. *Integr. Cancer Ther.*, 2009; 8: 22-28
- [51] Watanabe J., Shimada T., Gillam E.M., Ikuta T., Suemasu K., Higashi Y., Gotoh O., Kawajiri K.: Association of CYP1B1 genetic polymorphism with incidence to breast and lung cancer. *Pharmacogenetics*, 2000; 10: 25-33
- [52] Waxman D.J., Chen L., Hecht J.E., Jounaidi Y.: Cytochrome P450-based cancer gene therapy: recent advances and future prospects. *Drug Metab. Rev.*, 1999; 31: 503-522
- [53] Wen W., Cai Q., Shu X.O., Cheng J.R., Parl F., Pierce L., Gao Y.T., Zheng W.: Cytochrome P450 1B1 and catechol-O-methyltransferase genetic polymorphisms and breast cancer risk in Chinese women: results from the Shanghai breast cancer study and a meta-analysis. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, 2005; 14: 329-335
- [54] Wiśniewska A., Mazerska Z.: Cytochrome P450 isoenzymes in metabolism of endo- and exogenic compounds. *Postępy Biochem.*, 2009; 55: 259-271
- [55] Wu Z.L., Sohl C.D., Shimada T., Guengerich F.P.: Recombinant enzymes overexpressed in bacteria show broad catalytic specificity of human cytochrome P450 2W1 and limited activity of human cytochrome P450 2S1. *Mol. Pharmacol.*, 2006; 69: 2007-2014
- [56] Yoshioka H., Kasai N., Ikushiro S., Shinkyo R., Kamakura M., Ohta M., Inouye K., Sakaki T.: Enzymatic properties of human CYP2W1 expressed in *Escherichia coli*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2006; 345: 169-174

Autorzy deklaruja brak potencjalnych konfliktów interesów.