

Received: 2016.07.12
Accepted: 2017.04.11
Published: 2017.06.19

Transferazy glutationowe klasy Pi i Mi i ich znaczenie w onkologii*

Glutathione S - transferases class Pi and Mi and their significance in oncology

Zofia Marchewka¹, Agnieszka Piwowar², Sylwia Ruzik², Anna Długosz²

¹ Pracownia Markerów Nefrotoksyczności Środowiskowej Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

² Katedra i Zakład Toksykologii Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

Streszczenie

Na podstawie przeglądu najnowszych badań doświadczalnych i klinicznych przedstawiono dane wskazujące, że transferazy glutationowe (GST) klasy Pi i Mi są obiecującymi biomarkerami nie tylko w ostrych i przewlekłych procesach zapalnych, lecz również w dziedzinie onkologii. W artykule przedstawiono ich charakterystykę, funkcje oraz udział (bezpośredni - GST Pi, pośredni - GST Mi) w regulacji szlaków sygnałowych kinaz JNK zaangażowanych w różnicowanie komórek. Nadmierna ekspresja transferaz glutationowych klasy Pi i Mi w wielu komórkach rakowych odgrywa kluczową rolę w leczeniu onkologicznym, czyniąc je opornymi na leki. Ponieważ izoenzymy GST biorą udział w metabolizmie nie tylko różnego rodzaju ksenobiotyków, ale także endogennych substratów stąd ich zmieniona ekspresja w określonych tkankach nowotworowych, a także w surowicy i moczu może być ważnym potencjalnym markerem procesu nowotworowego oraz wskaźnikiem stresu oksydacyjnego. Omówiono udział transferaz glutationowych w homeostazie redox komórek nowotworowych oraz w mechanizmie oporności na leki przeciwnowotworowe.

Słowa kluczowe: GST Pi i Mi • nowotwory

Summary

In this article the current data, which shows that glutathione S-transferases (GST) class Pi and Mi are interesting and promising biomarkers in acute and chronic inflammatory processes as well as in the oncology, were presented based on the review of the latest experimental and clinical studies. The article shows their characteristics, functions and participation (direct - GST Pi, indirect - GST Mi) in the regulation of signaling pathways of JNK kinases, which are involved in cell differentiation. Overexpression of glutathione S-transferases class Pi and Mi in many cancer cells plays a key role in cancer treatment, making them resistant to chemotherapy. GST isoenzymes are involved in the metabolism of various types of xenobiotics and endogenous substrates, so their altered expression in cancer tissues as well as in serum and urine could be an important potential marker of the cancer and an indicator of oxidative stress. The study shows the role of glutathione S-transferases in redox homeostasis of tumor cells and in the mechanism of resistance to anticancer drugs.

Keywords: isoenzymes GST Pi and Mi • cancer

*Praca powstała w ramach działalności statutowej ST-957.

Full-text PDF:	http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=1240688
DOI:	10.5604/01.3001.0010.3835
Word count:	5168
Tables:	1
Figures:	2
References:	57

Adres autorki: prof. dr hab. Agnieszka Piwowar Katedra i Zakład Toksykologii, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu, ul. Borowska 211, 50-556 Wrocław; e-mail: agnieszka.piwowar@umed.wroc.pl

ROLA I BUDOWA TRANSFERAZ GLUTATIONOWYCH

Transferazy glutationowe (GST) są enzymami szeroko rozpowszechnionymi w przyrodzie. Ludzkie GST dzieli się na dwie odrębne nadrodziny: dimeryczną frakcję cytosolową oraz trimeryczną frakcję mikrosomalną. Ze względu na immunogenność i strukturę pierwszorzędową, we frakcji cytosolowej wyróżnia się 8 klas enzymów: alfa (α), mi (μ), sigma (σ), omega (ω), pi (π), theta (θ), zeta (ξ) oraz kappa (κ). Wszystkie cytoplazmatyczne GST są zbudowane z dwóch podjednostek białkowych o masie 25-30 kDa, dzielących się na dwie domeny: N-kończową - tioredoksynopodobną, zawierającą katalitycznie istotną resztę tyrozyny, seryny lub cysteiny oraz C-kończową, scalającą ze sobą krótki łącznik o strukturze α -helisy. W budowie obu domen wyróżnia się: stały hydrofilny obszar G, odpowiadający za wiązanie fizjologicznego substratu - glutationu oraz wykazujący dużą zmienność obszar H o charakterze hydrofobowym, warunkujący zróżnicowaną swoistość substratową [4,17,27].

Transferazy glutationowe katalizują sprzęganie glutationu z różnymi ksenobiotykami, głównie zmniejszając ich reaktywność oraz zwiększając rozpuszczalność w wodzie, co sprzyja ich eliminacji z organizmu. Odpowiadają przede wszystkim za metabolizm związków egzogennych, zwłaszcza kancerogenów, zanieczyszczeń środowiskowych, a także detoksykację potencjalnie szkodliwych substancji endogennych. Część z nich jest również zaangażowana w syntezę i inaktywację prostaglandyn [42,51]. Podstawową jednak rolę transferaz glutationowych jest detoksykacja związków cytotoksycznych i genotoksycznych przez udział w reakcjach II fazy metabolizmu jako katalizator sprzęgania zredukowanej postaci glutationu (GSH) z elektrofilowymi czynnikami endo- i egzogennymi. Produkt tej reakcji jest dalej metabolizowany przez odszczepienie reszty glutaminowej i glicynowej, a następnie przez acetylację wolnej grupy aminowej reszty cysteinowej, ostatecznie doprowadzając do powstania kwasu merkapturowego wydalanego z organizmu przez nerki. Nie wszystkie reakcje sprzęgania z GSH katalizowane przez GST powodują powstanie związków o zmniejszonej toksyczności. Krótkołańcuchowe halogenki alkilowe w wyniku enzymatycznego połączenia z GSH ulegają aktywacji i tworzą

addukty z DNA, zaburzając proces przekazywania informacji genetycznej [42,45].

Transferaza glutationowa odgrywa również ważną rolę w degradacji nadtlenków lipidowych generowanych podczas peroksydacji lipidów. Peroksydazowa aktywność GST nie zależy od selenu, ale wymaga obecności GSH, a reakcja przebiega w dwóch etapach. Pierwszy z nich obejmuje enzymatyczną redukcję nadtlenku do alkoholu, gdzie ubocznym produktem jest hydroksylowany glutation (GSOH). Następnym krokiem jest spontaniczna reakcja GSOH z cząsteczką GSH z wydzieleniem wody oraz utlenionego glutationu (GSSG) [4,42].

GST pełnią dodatkowo ważną funkcję w reakcjach izomeryzacji *cis-trans* wiązań podwójnych, redukcji dehydroaskorbinianów oraz addycji Michaela [25]. Enzymom z rodziny GST jest przypisywana również niekatalityczna aktywność ligandowa, polegająca na wiązaniu i transporcie lipofilowych związków, m.in. steroidów, hormonów tarczycy, kwasów żółciowych, bilirubiny, wolnych kwasów tłuszczowych oraz niektórych leków metabolizowanych przez wątrobę. Odgrywają również pośrednią rolę w komórkowych szlakach sygnalizacyjnych. Ponadto aktywność GST uznano za jeden z czynników odpowiedzialnych za zjawisko lekooporności cytostatyków bądź leków przeciwnowotworowych [42]. Klasą enzymatyczną, której nadmierna ekspresja występuje w rakach jest Pi GST (GST- π) i Mi GST (GST- μ) [32,45,46].

Transferazy glutationowe Pi i Mi

Transferazy glutationowe występują we wszystkich narządach ludzkiego organizmu, jednak większość ma charakterystyczny profil ekspresji GST. Transferaza glutationowa klasy Mi osiąga najwyższy poziom ekspresji w tkance płucnej oraz mózgu. Ponad 80% transferaz glutationowych występujących w hepatocytach to klasa GST alfa, podczas gdy GST Pi występuje we wszystkich tkankach, z wyjątkiem wątroby. Transferaza glutationowa Pi tworzy główną klasę transferaz występujących w komórkach pęcherza moczowego, a także w tkance płuc [5,46]. Uważa się, że ekspresja genu GST P1 kodującego GST Pi jest wyższa w komórkach o wysokim potencjale proliferacyjnym niż w tych, które są dobrze zróżnicowane, co potwierdziła obserwacja linii

ludzkich komórek erytroblastycznych (K562). Komórki te wykazywały wysoką ekspresję GST P1 w okresie intensywnych podziałów komórkowych, natomiast w fazie cytodyferencjacji ekspresja ulegała zmniejszeniu [46].

Wyniki badań prowadzonych zarówno *in vivo*, jak i *in vitro* wykazały, iż w komórkach wielu typów nowotworów dochodzi do nadekspresji transferaz glutationowych, co zazwyczaj jest zjawiskiem niekorzystnym, warunkującym oporność na stosowane chemioterapeutyki, niepowodzenie terapii i mniejsze szanse chorego na wyleczenie. Zwiększoną ekspresję GST klasy Pi zaobserwowano m.in. w komórkach nowotworowych raka jajnika, piersi, trzustki, jelita grubego czy płuc. Podobnie w badaniach z udziałem osób chorych na raka pęcherza moczowego wykryto podwyższoną ekspresję genu transferazy glutationowej Pi [5,16,32]. W badaniach Pljesa-Ercegovac i wsp. [32] wykazano zwiększoną ekspresję genu GST P1 w komórkach guza 84 pacjentów ze zdiagnozowanym rakiem przejściowokomórkowym (TCC – transitional cell carcinoma) pęcherza moczowego. Ponadto aktywność GST Pi wzrastała wraz ze stopniem złośliwości, a także zaawansowaniem klinicznym i patomorfologicznym nowotworu. Ważne są także zmiany wewnątrzkomórkowej lokalizacji enzymu w komórkach nowotworowych. Choć GST Pi jest zaliczana do frakcji cytosolowej, to w nowotworach o wyższym stadium zaawansowania obserwuje się zmniejszenie stężenia GST Pi w cytoplazmie z jednoczesną nadekspresją genu GST P1 w jądrze komórkowym [5,34].

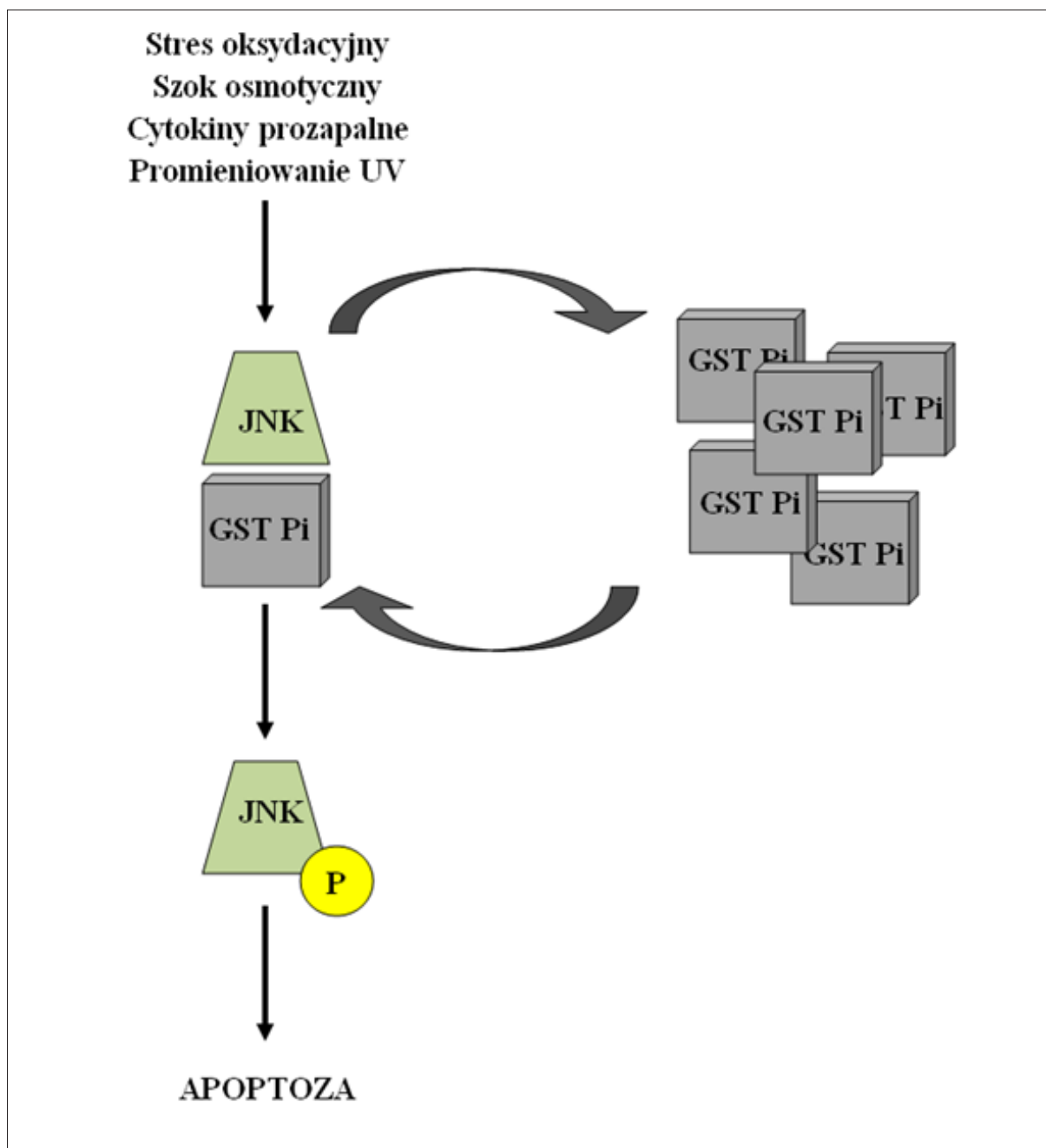
Simic i wsp. [43] u osób z różnym stadium rozwoju nowotworu pęcherza moczowego oznaczali izoenzymy GST w tkankach nowotworowych oraz w wycinkach niezmiennego nabłonka urotelialnego wykorzystując ich swoistość substratów. Stwierdzili dwukrotny wzrost ekspresji genu GST P1 w wycinkach uroepitelium chorych. Matic i wsp. [24] badali profil aktywności transferaz glutationowych w komórkach nowotworowych górnych dróg moczowych. U 20 pacjentów ze zdiagnozowanym nowotworem moczowodu lub miedniczki nerkowej, wykazali dwukrotnie większą aktywność GST Pi w porównaniu do niezmiennego nowotworowo nabłonka dróg moczowych. Ekspresja GST Mi była stwierdzona tylko w 42% badanych biopsatów tkanki nowotworowej i jedynie nieznacznie podwyższona w porównaniu do prawidłowego uroepitelium. Ekspresja transferazy glutationowej klasy Mi wykazuje duże zróżnicowanie międzyosobnicze z powodu tego, iż połowa populacji ludzkiej jest nosicielem genotypu GSTM*0, który oznacza całkowity brak aktywności enzymatycznej GST Mi. Następstwem jest m.in. wzrost ryzyka rozwoju raka płuc, żołądka, jelita grubego [46,47]. Natomiast nadekspresja GST Mi przez komórki nowotworowe, podobnie jak GST Pi, może mieć wpływ na rozwój ich lekooporności, przez co zmniejsza szanse na powodzenie terapii przeciwnowotworowej. Zjawisko to jest związane z ich udziałem w regulacji kinaz zaangażowanych w regulację cyklu komórkowego [23,37].

Udział transferaz glutationowych klasy Pi oraz Mi w regulacji szlaków sygnałowych

Wyniki wielu badań wskazują, iż transferazy glutationowe klasy Pi oraz Mi odgrywają istotną rolę w regulacji cyklu komórkowego ze względu na możliwość oddziaływania z wewnątrzkomórkowymi białkami zaangażowanymi w proces zaprogramowanej śmierci komórki (apoptozy). Pod wpływem bodźców stresowych, takich jak wolne rodniki tlenowe, promieniowanie UV, szok osmotyczny czy zwiększone stężenie cytokin prozapalnych, dochodzi do aktywacji kinazy białkowej JNK (c-Jun N-terminal kinase). Aktywacja odbywa się za pośrednictwem takich związków sygnałowych jak kinaza ASK1 (apoptosis signal - regulating kinase-1), białko cdc42 czy kinaza MKK7 (human mitogen-activated protein kinase kinase 7). Następnie kinaza JNK fosforyluje odpowiednie czynniki transkrypcyjne, uruchamiając tym samym mechanizmy naprawcze komórki lub – w razie znacznych uszkodzeń materiału genetycznego – indukuje w komórce proces apoptozy. Obecnie uważa się, że transferazy glutationowe klasy Pi oraz Mi osłabiają kaskadę szlaków sygnałowych związanych z kinazą JNK. Transferaza glutationowa Pi wpływa na JNK w sposób bezpośredni, natomiast Mi pośrednio. W prawidłowych komórkach jej mała aktywność jest utrzymywana dzięki zdolności GST Pi do tworzenia nieczynnych dimerów GST Pi-JNK. W chwili zadziałania bodźców stresowych dochodzi do oddysocjowania transferazy glutationowej Pi z kompleksu GST Pi-JNK, co skutkuje aktywacją uwolnionej kinazy [17,37,38,42,45,56]. Na ryc. 1 schematycznie przedstawiono oddziaływanie GST Pi z kinazą JNK.

Natomiast transferaza glutationowa klasy Mi oddziałuje na kinazę JNK pośrednio przez wpływ na kinazę ASK1. GST Mi wiąże ASK1 w heterodimeryczne kompleksy, przez co hamuje jej fosforylację zmniejszając aktywność katalityczną. Ufosforylowana kinaza ASK1 uczestniczy natomiast w aktywacji innych białek zaangażowanych w kontrolę cyklu komórkowego, takich jak kinaza JNK oraz białko p38. Ostatecznie następuje zmiana aktywności genów pro- i antyapoptotycznych i zaczyna się proces apoptozy komórki [4,23]. Mechanizm oddziaływania transferazy glutationowej Mi z kinazą ASK1 przedstawiono schematycznie na ryc. 2.

Opisana regulacja szlaków sygnałowych przez transferazy glutationowe klasy Pi oraz Mi wyjaśnia nadekspresję tych izoenzymów w tkankach nowotworowych jako sposób komórek rakowych na ograniczenie apoptozy. Mechanizm taki jest szczególnie wykazywany w rozwoju nowotworu pęcherza moczowego [4,23,37,38,42]. Komórki nowotworowe mogą w ten sposób chronić się przed stresogennymi czynnikami, zarówno pochodzenia wewnątrzkomórkowego, jak i powodowanymi przez leki przeciwnowotworowe, a szczególnie ważnym aspektem jest rola stresu oksydacyjnego. Powoduje to rozwój lekooporności komórek nowotworowych nawet wówczas, gdy stosowane chemioterapeutyki nie są substratami w katalizowanej przez transferazy reakcji sprzęgania z glutationem [32,50,56].

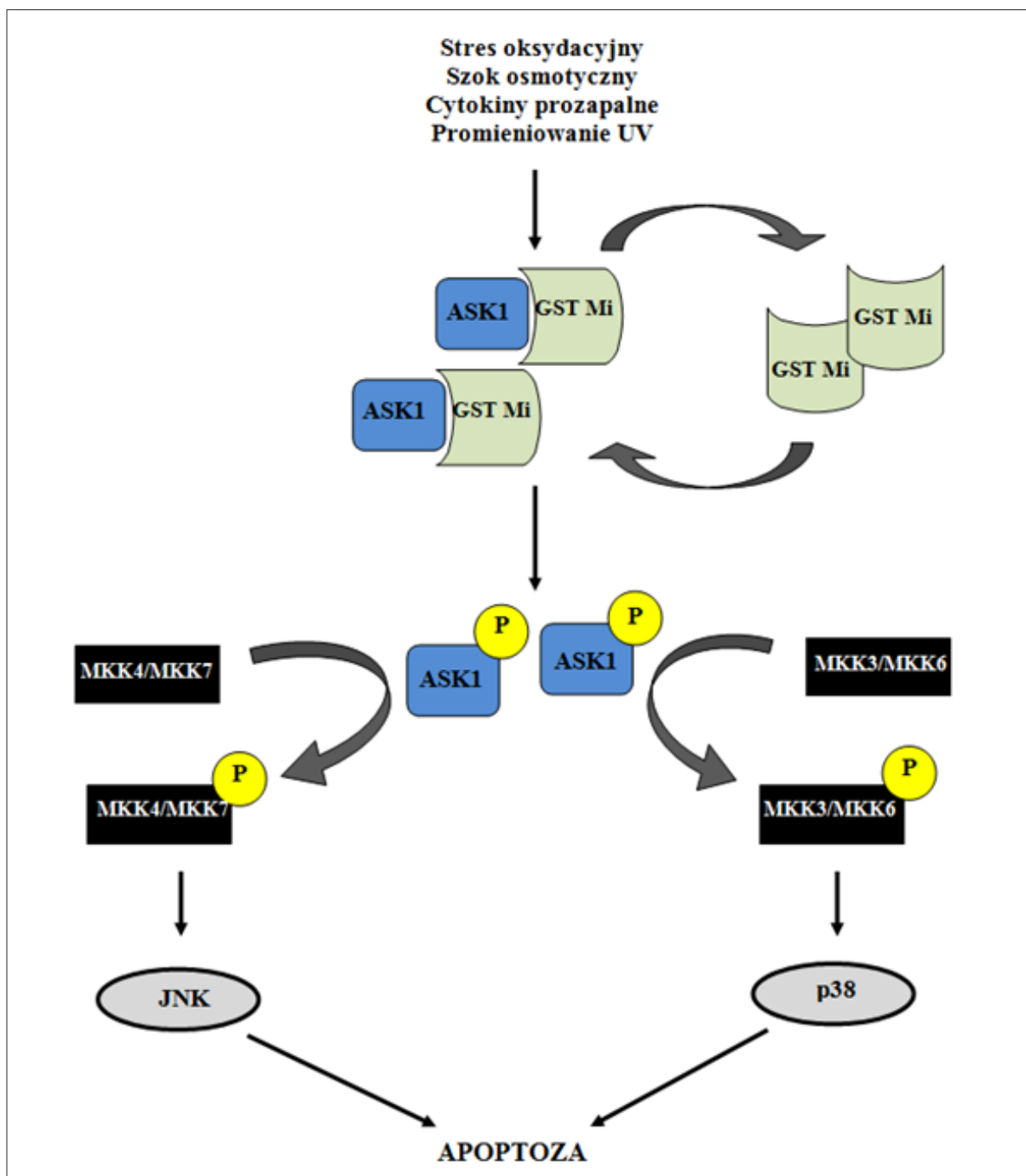


Ryc. 1. Schemat interakcji GST Pi z kinazą JNK

TRANSFERAZY GLUTATIONOWE KLASY Pi ORAZ Mi A OPORNOŚĆ NA CHEMIOTERAPEUTYKI

Jedną z zasadniczych przyczyn niepowodzenia terapii przeciwnowotworowej jest lekooporność komórek nowotworowych uwarunkowana m.in. ich zdolnością do unikania apoptozy, nadekspresją białek oporności wielolekowej, a także wpływem na metabolizm chemioterapeutyków. Wyniki wielu badań wskazują na istnienie zależności między zwiększoną ekspresją GST Pi w jądrze komórek nowotworowych i ich niewrażliwością na chemioterapeutyki [13,57].

Badania *in vitro* Ramosa i wsp. [33] wykazały, że komórki limfocytowe o zwiększonej ekspresji GST Pi były mniej podatne na uszkodzenia genotoksyczne indukowane dokсорubicyną w porównaniu do komórek o genotypie dzikim. Przypuszcza się, że GST Pi chroni materiał genetyczny tych komórek przed uszkodzeniami spowodowanymi przez anionorodniki nadtlennkowe, które są generowane antracyklinami przez zmniejszenie wrażliwości komórek nowotworowych na bodźce proapoptotyczne [46,48,50]. Ponadto, sugerowane jest znaczenie peroksydazowej aktywności enzymu w usuwaniu produktów utleniania makro-



Ryc. 2. Schemat interakcji GST Mi z kinazą ASK1

cząsteczek komórkowych [33]. Wykazano natomiast udział GST Mi w rozwoju lekooporności na chemioterapeutyki. Komórki linii czerniaka ludzkiego CAL1 z nadekspresją genu GSTM1 wykazywały 3-4-krotny wzrost oporności na leki przeciwnowotworowe (winkrystyna, chlorambucil), natomiast synergistyczne działanie GST Mi z białkiem oporności wielolekowej 1 (multi drug resistance protein 1; MRP-1) może chronić komórki przed toksycznym działaniem winkrystyny [8].

Transferazy glutationowe są rodziną enzymów II fazy metabolizmu, odpowiedzialnych za sprzęganie z glutationem większości leków przeciwnowotworowych. Koniugat leku-GSH jest zwykle lepiej rozpuszczalny w wodzie, co ułatwia jego wydalanie z moczem. Ponadto tioeterowe produkty reakcji sprzęgania cechują się zazwyczaj mniejszą toksycznością, a więc jednocześnie obniżoną skutecznością terapeutyczną [23,26,37]. Zjawisko to odpowiada m.in. za nieskuteczność terapeutyczną czynników alkilujących, takich jak iperyt azotowy czy

chlorambucil u niektórych pacjentów cierpiących na przewlekłą białaczkę limfatyczną czy raka jajnika [57]. Działanie tych leków wynika ze zdolności do tworzenia wiązań chemicznych z grupami funkcyjnymi białek, RNA czy DNA, istotnych dla prawidłowego funkcjonowania komórki nowotworowej, co uwarunkowane jest wysoką elektrofilnością cząsteczki leku. Jednocześnie jej dodatni ładunek determinuje powinowactwo do zredukowanego glutationu, co prowadzi do utworzenia związku elektrycznie obojętnego, pozbawionego aktywności przeciwnowotworowej [30,57].

Nadekspresja GST Pi w komórkach nowotworowych odpowiada także za ich oporność względem pochodnych cisplatyny, stosowanych m.in. w raku płuc i jajników [28,31]. Powstające koniugaty cisplatyna-GSH cechują się nie tylko mniejszą aktywnością przeciwnowotworową, ale wykazują również większą toksyczność względem kanalików nerkowych niż cisplatyna [52].

W tabeli 1 przedstawiono leki przeciwnowotworowe, na które może się rozwinąć oporność komórek nowotworowych w wyniku zwiększonej ekspresji genu kodującego transferazę glutationową Pi. Oporność na te chemioterapeutyki może być konsekwencją zarówno aktywności katalitycznej GST Pi, jak i jej oddziaływań na szlaki sygnałowe komórek nowotworowych.

Udział transferaz glutationowych w homeostazie redox komórek nowotworowych

Komórki nowotworowe są narażone na znacznie większy stres oksydacyjny niż komórki prawidłowe. Mechanizm zwiększonego wytwarzania reaktywnych form tlenu (RFT) w tych komórkach nie jest jednak wyjaśniony. Przypuszcza się, że odpowiedzialne są za to zaburzenia sygnalizacji szlaków onkogennych i mechanizmy reakcji zapalnej oraz związana z nimi podwyższona aktywność cytokin prozapalnych, większa intensywność metabolizmu wynikająca z ciągłej proliferacji czy mutacje w mitochondrialnym DNA. Zwiększona zawartość wolnych rodników w komórkach nowotworowych stymuluje podziały komórkowe, powstawanie mutacji i wynikającą z tego niestabilność

genomu, a także zmienia wrażliwość na leki przeciwnowotworowe [20,40]. Jednocześnie wzrost stężenia RFT pociąga za sobą zmiany w homeostazie redox komórki, z przesunięciem stanu równowagi w kierunku wzrostu zredukowanej postaci GSH [36]. Towarzyszy temu także zwiększenie stężenia i aktywności enzymów GSH-zależnych, w tym GST. Stanowi to mechanizm kompensacyjny komórek nowotworowych chroniący je przed toksycznym działaniem wolnych rodników ze względu na niezależną od selenu aktywność peroksydazową transferaz glutationowych [9,45]. Ponadto GST Pi bierze udział w odwracalnej S-glutationylacji białek, m.in. czynników transkrypcyjnych, kinaz i fosfataz zaangażowanych w cykl komórkowy, dzięki czemu chroni grupy sulfhydrylowe (-SH) reszt cysteinowych przed nieodwracalnym utlenieniem do kwasów sulfinowych i sulfonowych, a tym samym pozwala na zachowanie ich biologicznej aktywności w warunkach stresu oksydacyjnego [7,17,20,53].

POLIMORFIZMY GENETYCZNE TRANSFERAZ GLUTATIONOWYCH KLASY Pi ORAZ Mi

Zróznicowanie osobniczej aktywności transferazy glutationowej wynika z różnic molekularnych w obrębie genów kodujących to białko [3]. Najczęściej dotyczą zmiany pojedynczego nukleotydu (SNP), zarówno w regionie kodującym, jak i niekodującym. Nieco rzadziej przyczyną niejednorodności genetycznej w poszczególnych klasach transferaz są delecje lub duplikacje w obrębie danego genu [4,23]. Konsekwencją tych zmian może być zarówno całkowita utrata aktywności enzymatycznej białka, uniemożliwiająca skuteczną detoksykację ksenobiotyków, jak również występowanie w populacji aktywnych, ale różniących się funkcjonalnie i strukturalnie izoform enzymu [17,29]. Polimorfizm genetyczny transferaz glutationowych warunkuje międzyosobnicze różnice w podatności na działanie ksenobiotyków, w tym także związków nowotworowych. Występowanie różnych genotypów transferaz może się wiązać z odmienną predyspozycją do rozwoju nowotworu w warunkach jednakowej ekspozycji na kancerogeny. Ponadto różnice w aktywności enzymatycznej tych białek warunkujące odmienny stopień oraz szybkość metabolizmu chemioterapeutyków mogą mieć wpływ na powodzenie leczenia przeciwnowotworowego i szanse pacjenta na wyleczenie [14,22,24,42]. Polimorfizm genetyczny wykazano dla genów GST M1, GST P1 oraz GST T1, a ich rola, zwłaszcza tych dwóch pierwszych, w rozwoju procesu nowotworowego została dowiedziona. Wykazano np. związek polimorfizmu wymienionych klas GST ze zwiększoną zachorowalnością na ostrą białaczkę limfoblastyczną u dzieci czy na nowotwory tarczycy w populacji ogólnej oraz udowodniono związek ze wzrostem ryzyka rozwoju raka pęcherza moczowego [14,15,22,55].

Polimorfizm genetyczny GST Pi

GST Pi jest enzymem kodowanym przez pojedynczy gen GST P1, umiejscowiony na chromosomie 11q13 [4,23]. Polimorfizm genu GST P1 wynika ze zmiany

Tabela 1. Leki, na które może rozwinąć się oporność komórek nowotworowych związana ze zwiększoną ekspresją genu GST Pi

Leki będące substratami dla GST Pi	Leki niebędące substratami dla GST Pi
Karboplatyna	Adriamycyna
Chlorambucil	Etopozyd
Cisplatyna	Mitomycyna C
Kwas etakrynowy	Alkaloidy Vinca
Melfalan	Inhibitory topoisomerazy I oraz II
Iperyt azotowy	Antymetabolity
Cyklofosamid	
Karmustyna	
Kortykosteroidy	

adeniny na guaninę w nukleotydzie kodonu 105 skutkującej kodowaniem aminokwasu waliny zamiast izoleucyny. W związku z opisanymi mutacjami genu GST P1 wyróżnia się cztery allele: GST P1 - 1A (Ile¹⁰⁵/Ala¹¹⁴) - typ dziki; GST P1 - 1B (Val¹⁰⁵/Ala¹¹⁴); GST P1 - 1C (Val¹⁰⁵/Val¹¹⁴); GST P1 - 1D (Ile¹⁰⁵/Val¹¹⁴). Konsekwencją występowania polimorfizmu genu GST P1 są zmiany steryczne w miejscu wiązania substratu, a to znacząco modyfikuje aktywność enzymatyczną [15,17,44,56]. W obrębie genu kodującego GST Pi wykryto mutację powodującą występowanie fenotypu wolnego sprzęgania w wyniku zmniejszenia swoistej aktywności enzymu oraz zmniejszenia powinowactwa do jego elektrofiliwnych substratów [55].

Izoenzym Val¹⁰⁵ wykazuje siedmiokrotnie większe powinowactwo do epoksydów wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych, ale trzykrotnie mniejszą efektywność względem 1-chloro-2,4-dinitrobenzenu w porównaniu do GST P1 Ile¹⁰⁵ [17]. Ze względu na to, iż nabłonek pęcherza moczowego jest narażony na działanie związków kancerogennych wydalanych z moczem, obniżenie aktywności enzymatycznej GST Pi osłabia jej protekcyjne właściwości detoksykacyjne. To natomiast jest czynnikiem predysponującym do rozwoju raka pęcherza moczowego [36]. Badania przeprowadzone z udziałem 166 mężczyzn chorych na raka pęcherza moczowego i 332 osób stanowiących grupę kontrolną wykazały, że genotyp GST P1 Ile/Val lub Val/Val wiąże się ze znacznie wyższym ryzykiem rozwoju raka pęcherza moczowego [36]. Wykazano ponadto zależność między genotypem GST P1 Val/Val a stopniem zaawansowania nowotworu [36,43,45].

Djukic i wsp. [9] dowodzą, że pacjenci chorzy na raka pęcherza moczowego z genotypem Val¹⁰⁵ (GST P1 -1B, GST P1-1C) mają większe szanse przeżycia niż nosiciele co najmniej jednego allele Ile¹⁰⁵. Zależność była widoczna w całej grupie chorych, także u pacjentów niepoddanych chemioterapii, co może sugerować, że allele Ile¹⁰⁵ warunkuje większą aktywność antyoksydacyjną stwarzającą korzystne warunki do progresji guza. Co więcej, obecność wersji genu Val¹⁰⁵ chroni przed toksycznością wynikającą z zastosowanej terapii (np: uszkodzenie słuchu indukowane cisplatyną) [23].

Zmiana konformacji centrum aktywnego enzymu powoduje różnice w zdolności poszczególnych izoform GST Pi do metabolizowania leków chemioterapeutycznych [23,26,56]. Komórki nowotworowe pacjentów z genotypem GST P1 - 1A wykazują oporność wobec pochodnych platyny ze względu na zwiększoną aktywność detoksykacyjną enzymu i sprzęganie leku z GSH [26,50,56]. U pacjentów o genotypie GST P1 - 1B komórki raka pozostają wrażliwe na zastosowane leczenie, co wynika z ich obniżonej zdolności do neutralizacji stresu oksydacyjnego indukowanego cisplatyną [26,39,50].

Transferaza glutationowa Pi wykazuje również działanie protekcyjne przeciwko urotoksyczności indukowanej

wanej cyklofosfamidem przez udział w metabolizmie akroleiny w pęcherzu moczowym. Zatem u ludzi z różną aktywnością GST Pi można się spodziewać innej podatności na rozwój krwotocznego zapalenia pęcherza moczowego, a także raka pęcherza moczowego. Identyfikacja genotypu GST P1 u pacjentów poddawanych chemioterapii cyklofosfamidem pozwoliłaby zatem na wprowadzenie bardziej spersonalizowanej terapii, a tym samym na ograniczenie niektórych działań niepożądanych leku [6].

Polimorfizm genetyczny GST Mi

Geny kodujące transferazy glutationowe klasy Mi (GST M1-M5) są umiejscowione na chromosomie 1p13 [23]. Wykazano, że gen GST M1 występuje w czterech allelach - GST M1*A-B, GST M1*0 oraz GST M1*1x2, co stwarza możliwość pojawienia się różnic w aktywności enzymatycznej czy powinowactwie do substratu izoform GST Mi. Izoenzymy GST M1*A oraz GST M1*B wykazują podobną aktywność, różnią się jedynie jednym aminokwasem w kodonie 173: GST M1*A zawiera lizynę, natomiast GST M1*B - asparaginę [8,27,43]. Dowiedziono, że u osób o genotypie GST M1*A jest mniejsze ryzyko rozwoju raka pęcherza moczowego [26]. Wariant GST M1*1x2, często obserwowany u ludności Arabii Saudyjskiej, charakteryzuje się obecnością dwóch funkcjonalnych genów GST M1. Zwiększa to aktywność katalityczną i szybszą detoksykację niektórych związków kancerogennych [4,17,23,26]. Homozygotyczna delecja genu GST M1, obserwowana prawie u 50% ludzi rasy kaukaskiej, skutkuje brakiem aktywności enzymatycznej (genotyp GST M1*0 lub GST M1 null), uniemożliwiającym efektywny metabolizm ksenobiotyków, w tym związków kancerogennych. Mocz osób z homozygotyczną delecją genu GST M1 zawiera kilkakrotnie większe stężenie tych substancji, które oddziałując na komórki nabłonka pęcherza moczowego, powodują w nich nieodwracalne uszkodzenia materiału genetycznego inicjujące proces kancerogenezy. Zatem genotyp GST M1*0 jest czynnikiem zwiększonego ryzyka rozwoju nowotworu, zwłaszcza pęcherza moczowego [11,12,24,35,45]. Potwierdzają to wyniki badań kliniczno-kontrolnych Aktas i wsp. [2], które wskazują na znacznie wyższą częstość występowania wariantu GST M1*0 wśród pacjentów ze zdiagnozowanym rakiem pęcherza moczowego stanowiącym jego ścianę (64,3%) niż u osób zdrowych nacierających grupę kontrolną (34,7%). Co więcej, analiza genotypu GST M1 pacjentów z inwazyjną postacią raka pęcherza moczowego oraz osób z początkowymi zmianami powierzchniowymi nabłonka pęcherza sugeruje istnienie związku między brakiem aktywności enzymu GST Mi, a stopniem złośliwości nowotworu. Jednak niektórzy autorzy podkreślają, iż brak funkcjonalnego enzymu GST M1 zwiększa ryzyko raka pęcherza moczowego tylko wśród osób narażonych na działanie kancerogenów dymu tytoniowego bądź związanych z ekspozycją zawodową [1,19,35]. Badania wykazały, że osoby z genotypem GST M1*0 narażone zawodowo na działanie chlorow-

cowęglowodorów mają ponad sześciokrotnie wyższe ryzyko zachorowania na raka pęcherza moczowego w porównaniu do pracowników z genotypem dzikim [25]. Stwierdzono istotny wzrost stężenia heksachlorocykloheksanu oraz p,p-dichlorodifenylotrichloroetanu (p,p-DDT) we krwi osób chorych na raka pęcherza moczowego z genotypem GST M1*0 w porównaniu do grupy kontrolnej. Świadczy to o upośledzonej detoksykacji tych związków oraz genetycznej wrażliwości tych osób na wybrane pestycydy [18,41]. Ponadto wykazano związek palenia i genotypu nie tylko na wzrost ryzyka zachorowania na raka pęcherza moczowego, ale także na progresję zmiany nowotworowej u takich chorych [21].

Analizowano również wpływ jednoczesnego występowania dwóch czynników związanych z rozwojem raka pęcherza moczowego - delecji genu GST M1 oraz obecności genotypu GST P1 Ile/Val lub Val/Val. Wykazano trzy- lub czterokrotny wzrost ryzyka wystąpienia tego nowotworu w porównaniu do genotypu dzikiego, co wskazuje na synergistyczne działanie GST M1*0 i GST P1 Val/Val lub Ile/Val w etiologii raka pęcherza moczowego [36,49]. Badania 85 pacjentów z płaskonabłonkowym rakiem płuc wykazały, że GST M1*0 może także zwiększać ekspresję genu enzymu cytochromu P-450 CYP1A1 [39]. Większość kancerogenów dymu papierosowego tworzy kowalencyjne addukty z DNA komórki dopiero po oksydacyjnej aktywacji, zachodzącej głównie z udziałem izoenzymu CYP1A1. Analiza uszkodzeń DNA w komórkach mięszu płuc palaczy wskazuje na proporcjonalną zależność między liczbą adduktów DNA z wielopierścieniowymi węglowodorami aromatycznymi a aktywnością izoformy CYP1A1 [54]. Podobna zależność może wystąpić również w raku pęcherza moczowego, dlatego, iż ryzyko jego wystąpienia jest silnie związane z ekspozycją na wielopierścieniowe węglowodory

aromatyczne dymu tytoniowego, podobnie jak w raku płuc. Jednocześnie genotyp GST M1*0 wiąże się z lepszą odpowiedzią na leczenie chemioterapeutyczne ze względu na upośledzoną zdolność do inaktywacji leków przeciwnowotworowych [17,23,26]. Zaobserwowano, że wśród pacjentów chorych na ostrą białaczkę szpikową, osoby bez funkcjonalnego genu GST M1 wykazywały lepszą odpowiedź terapeutyczną po podaniu cyklofosfamid i adriamycyny niż chorzy o genotypie GST M1*A lub GST M1*B [10,23,26].

Gen GST M2 nie wykazuje polimorfizmu genetycznego, natomiast locus genu GST M3 obejmuje dwa allele, GST M3*A oraz GST M3*B, różniące się między sobą delecją trzech nukleotydów w intronie 6. Jest to izoforma GST syntetyzowana głównie w mózgu [23,26]. W przeciwieństwie do GST M1-2, GST M3 charakteryzuje się znaczną aktywnością enzymatyczną wobec pochodnych nitromocznika o działaniu przeciwnowotworowym, co wskazuje na udział tego enzymu w oporności glejaków wobec tych leków [23].

PODSUMOWANIE

Przedstawione dane na podstawie aktualnego piśmiennictwa wskazują na złożoną i zróżnicowaną rolę transferaz glutationowych, zwłaszcza GST Pi i Mi, w chorobach nowotworowych. Indukcja enzymów metabolizujących ksenobiotyki odgrywa ważną rolę w procesie inicjacji chemicznej kancerogenezy. Opisywane postaci izoenzymów GST mogą mieć duże znaczenie w onkogenezie, szczególnie istotny jest ich udział w powstawaniu lekooporności. Znajomość mechanizmów tego zjawiska może usprawnić terapię nowotworów i zapobiec wznowie. Dlatego konieczne jest kontynuowanie badań nad niewątpliwie ważną rolą transferaz glutationowych w patogenezie i progresji różnych chorób nowotworowych.

PIŚMIENICTWO

- [1] Abid A., Ajaz S., Khan A.R., Zehra F., Hasan A.S., Sultan G., Mohsin R., Hashmi A., Niamatullah N., Rizvi S.A., Mehdi S.Q., Khaliq S.: Analysis of the glutathione S-transferase genes polymorphisms in the risk and prognosis of renal cell carcinomas. Case-control and meta-analysis. *Urol. Oncol.*, 2016; 34: 419.e1-419.e12
- [2] Aktas D., Ozen H., Atsu N., Tekin A., Sozen S., Tuncbilek E.: Glutathione S-transferase M1 gene polymorphism in bladder cancer patients: a marker for invasive bladder cancer? *Cancer Genet. Cytogenet.*, 2001; 125: 1-4
- [3] Bhattacharjee P., Paul S., Banerjee M., Patra D., Banerjee P., Ghoshal N., Bandyopadhyay A., Giri A.K.: Functional compensation of glutathione S-transferase M1 (GSTM1) null by another GST superfamily member, GSTM2. *Sci. Rep.*, 2013; 3: 2704
- [4] Board P.G., Menon D.: Glutathione transferases, regulators of cellular metabolism and physiology. *Biochim. Biophys. Acta*, 2013; 1830: 3267-3288
- [5] Budzik M.P., Badowska-Kozakiewicz A.M.: Oporność wielolekowa związana z glutationem. *Prz. Menopauz.*, 2013; 5: 399-403
- [6] Conklin D.J., Haberzettl P., Lesgards J.F., Prough R.A., Srivastava S., Bhatnagar A.: Increased sensitivity of glutathione S-transferase P-null mice to cyclophosphamide-induced urinary bladder toxicity. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 2009; 331: 456-469
- [7] Dalle-Donne I., Rossi R., Giustarini D., Colombo R., Milzani A.: S-glutathionylation in protein redox regulation. *Free Radic. Biol. Med.*, 2007; 43: 883-898
- [8] Depeille P., Cuq P., Mary S., Passagne I., Evrard A., Cupissol D., Vian L.: Glutathione S-transferase M1 and multidrug resistance protein 1 act in synergy to protect melanoma cells from vincristine effects. *Mol. Pharmacol.*, 2004; 65: 897-905
- [9] Djukic T.I., Savic-Radojevic A.R., Pekmezovic T.D., Matic M.G., Pljesa-Ercegovac M.S., Coric V.M., Radic T.M., Suvakov S.R., Krivic B.N., Dragicevic D.P., Simic T.P.: Glutathione S-transferase T1, O1 and O2 polymorphisms are associated with survival in muscle invasive bladder cancer patients. *PLoS One*, 2013; 8: e74724
- [10] Drozd E., Krzysztoń-Russjan J., Marczevska J., Drozd J., Bubko I., Bielak M., Lubelska K., Wiktorska K., Chilmoneczyk Z., Anuszevska E., Gruber-Bzura B.: Up-regulation of glutathione-related genes, enzy-

me activities and transport proteins in human cervical cancer cells treated with doxorubicin. *Biomed. Pharmacother.*, 2016; 83: 397-406

[11] Gartia-Closas M., Malats N., Silverman D., Dosemeci M., Kogevinas M., Hein D.W., Tardón A., Serra C., Carrato A., Garda-Closas R., Lloreta J., Castano-Vinyals G., Yeager M., Welch R., Chanock S. i wsp.: NAT2 slow acetylation and GSTM1 null genotype, and risk of bladder cancer: results from the Spanish Bladder Cancer Study and meta-analyses. *Lancet*, 2005; 366: 649-659

[12] Giannakopoulos X., Charalabopoulos K., Baltogiannis D., Chatzikiriakidou A., Alamanos Y., Georgiou I., Evangelou A., Agnantis N., Sofikitis N.: The role of N-acetyltransferase-2 and glutathione S-transferase on the risk and aggressiveness of bladder cancer. *Anticancer Res.*, 2002; 22: 3801-3804

[13] Goto S., Ihara Y., Urata Y., Izumi S., Abe K., Koji T., Kondo T.: Doxorubicin-induced DNA intercalation and scavenging by nuclear glutathione S-transferase π . *FASEB J.*, 2001; 15: 2702-2714

[14] Guven M., Unal S., Erhan D., Ozdemir N., Baris S., Celkan T., Bostanci M., Batar B.: Role of glutathione S-transferase M1, T1 and P1 gene polymorphisms in childhood acute lymphoblastic leukemia susceptibility in a Turkish population. *Meta Gene*, 2015; 5: 115-119

[15] Hung R.J., Boffetta P., Brennan P., Malaveille C., Hautefeuille A., Donato F., Gelatti U., Spaliviero M., Placidi D., Carta A., Scotto Di Carlo A., Porru S.: GST, NAT, SULT1A1, CYP1B1 genetic polymorphisms, interactions with environmental exposures and bladder cancer risk in a high-risk population. *Int. J. Cancer*, 2004; 110: 598-604

[16] Jardim B.V., Moschetta M.G., Gelaleti G.B., Leonel C., Regiani V.R., de Santi Neto D., Bordin-Junior N.A., Perea S.A., Zuccari D.A.: Glutathione transferase pi (GSTpi) expression in breast cancer: an immunohistochemical and molecular study. *Acta Histochem.*, 2012; 114: 510-517

[17] Josephy P.D.: Genetic variations in human glutathione transferase enzymes: significance for pharmacology and toxicology. *Hum. Genomics Proteomics*, 2010; 2010: 876940

[18] Kang H., Song P.H., Ha Y.S., Kim W.T., Kim Y.J., Yun S.J., Lee S.C., Choi Y.H., Moon S.K., Kim W.J.: Glutathione S-transferase M1 and T1 polymorphisms: susceptibility and outcomes in muscle invasive bladder cancer patients. *Eur. J. Cancer*, 2013; 49: 3010-3019

[19] Karagas M.R., Park S., Warren A., Hamilton J., Nelson H.H., Mott L.A., Kelsey K.T.: Gender, smoking, glutathione S-transferase variants and bladder cancer incidence: a population-based study. *Cancer Lett.*, 2005; 219: 63-69

[20] Karwicka E.: Rola glutationu w oporności wielolekowej nowotworów. *Post. Biol. Kom.*, 2010; 37: 323-341

[21] Khedhiri S., Stambouli N., Ouerhani S., Roussi K., Marrakchi R., Gaaied A.B., Slama M.B.: The impact of smoking and polymorphic enzymes of xenobiotic metabolism on the stage of bladder tumors: a generalized ordered logistic regression analysis. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.*, 2010; 136: 1111-1116

[22] Li J., Long J., Hu Y., Tan A., Guo X., Zhang S.: Glutathione S-transferase M1, T1 and P1 polymorphisms and thyroid cancer risk: A meta-analysis. *Cancer Epidemiol.*, 2012; 36: e333-e340

[23] Lo H.W., Ali-Osman F.: Genetic polymorphism and function of glutathione S-transferases in tumor drug resistance. *Curr. Opin. Pharmacol.*, 2007; 7: 367-374

[24] Matic M., Simic T., Dragicevic D., Mimic-Oka J., Pljesa-Ercegovac M., Savic-Radojevic A.: Isoenzyme profile of glutathione transferases in transitional cell carcinoma of upper urinary tract. *Transl. Res.*, 2010; 155: 256-262

[25] Matic M.G., Coric V.M., Savic-Radojevic A. R., Bulat P.V., Pljesa-Ercegovac M.S., Dragicevic D.P., Djukic T.I., Simic T.P., Pekmezovic T.D.: Does occupational exposure to solvents and pesticides in association with glutathione S-transferase A1, M1, P1 and T1 polymorphisms increase the risk of bladder cancer? The Belgrade Case-Control Study. *PLoS One*, 2014; 9: e99448

[26] McIlwain C.C., Townsend D.M., Tew K.D.: Glutathione S transferase polymorphisms: cancer incidence and therapy. *Oncogene*, 2006; 25: 1639-1648

[27] Oakley A.: Glutathione transferases: a structural perspective. *Drug Metab. Rev.*, 2011; 43: 138-151

[28] Oguri T., Fujiwara Y., Katoh O., Daga H., Ishikawa N., Fujitaka K., Yamasaki M., Yokozaki M., Isobe T., Ishioka S., Yamakido M.: Glutathione S-transferase- π gene expression and platinum drug exposure in human lung cancer. *Cancer Lett.*, 2000; 156: 93-99

[29] Pandith A.A., Lateef A., Shah Nawaz S., Hussain A., Malla T.M., Azad N., Shehjar F., Salim M., Shah Z.A.: GSTP1 gene Ile105Val polymorphism causes an elevated risk for bladder carcinogenesis in smokers. *Asian Pac. J. Cancer Prev.*, 2013; 14: 6375-6378

[30] Parker L.J., Ciccone S., Italiano L.C., Primavera A., Oakley A.J., Morton C.J., Hancock N.C., Bello M.L., Parker M.W.: The anti-cancer drug chlorambucil as a substrate for the human polymorphic enzyme glutathione transferase P1-1: kinetic properties and crystallographic characterisation of allelic variants. *J. Mol. Biol.*, 2008; 380: 131-144

[31] Peklak-Scott C., Smitherman P.K., Townsend A.J., Morrow C.S.: The role of glutathione S-transferase P1-1 (GSTP1-1) in the cellular detoxification of cisplatin. *Mol. Cancer Ther.*, 2008; 7: 3247-3255

[32] Pljesa-Ercegovac M., Savic-Radojevic A., Dragicevic D., Mimic-Oka J., Matic M., Sasic T., Pekmezovic T., Vuksanovic A., Simic T.: Enhanced GSTP1 expression in transitional cell carcinoma of urinary bladder is associated with altered apoptotic pathways. *Urol. Oncol.*, 2011; 29: 70-77

[33] Ramos D. L., Gaspar J.F., Pingarilho M., Gil O.M., Fernandes A.S., Rueff J., Oliveira N.G.: Genotoxic effects of doxorubicin in cultured human lymphocytes with different glutathione S-transferase genotypes. *Mutat. Res.*, 2011; 724: 28-34

[34] Raza H.: Dual localization of glutathione S-transferase in the cytosol and mitochondria: implications in oxidative stress, toxicity and disease. *FEBS J.*, 2011; 278: 4243-4251

[35] Rouissi K., Ouerhani S., Marrakchi R., Ben Slama M.R., Sfaxi M., Ayed M., Chebil M., El Gaaied A.B.: Combined effect of smoking and inherited polymorphisms in arylamine N-acetyltransferase 2, glutathione S-transferases M1 and T1 on bladder cancer in a Tunisian population. *Cancer Genet. Cytogenet.*, 2009; 190: 101-107

[36] Safarinejad M.R., Safarinejad S., Shafiei N., Safarinejad S.: Association of genetic polymorphism of glutathione S-transferase (GSTM1, GSTT1, GSTP1) with bladder cancer susceptibility. *Urol. Oncol.*, 2013; 31: 1193-1203

[37] Sau A., Pellizzari-Tregno F., Valentino F., Federici G., Caccuri A.M.: Glutathione transferases and development of new principles to overcome drug resistance. *Arch. Biochem. Biophys.*, 2010; 500: 116-122

[38] Savic-Radojevic A., Mimic-Oka J., Pljesa-Ercegovac M., Opacic M., Dragicevic D., Kravic T., Djokic M., Mimic S., Simic T.: Glutathione S-transferase P1 expression correlates with increased antioxidant capacity in transitional cell carcinoma of the urinary bladder. *Eur. Urol.*, 2007; 52: 470-477

[39] Schnakenburger M., Karius T., Diederich M.: Regulation of epigenetic traits of the glutathione S-transferase P1 gene: from detoxification toward cancer prevention and diagnosis. *Front. Pharmacol.*, 2014; 5: 170

[40] Scibior-Bentkowska D., Czczot H.: Komórki nowotworowe a stres oksydacyjny. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2009; 63: 58-72

[41] Sharma T., Jain S., Verma A., Sharma N., Gupta S., Arora V.K., Dev Banerjee B.: Gene environment interaction in urinary bladder cancer with special reference to organochlorine pesticide: a case control study. *Cancer Biomark.*, 2013; 13: 243-251

- [42] Sherratt P.J., Hayes J.D.: Glutathione S-transferases. W: *Enzyme systems that metabolise drugs and other xenobiotics*, red.: C. Joannides, John Wiley & Sons Ltd, Chichester UK, 2001, 319-352
- [43] Simic T., Mimic-Oka J., Savic-Radojevic A., Opacic M., Pljesa M., Dragicevic D., Djokic M., Radosavljevic R.: Glutathione S-transferase T1-1 activity upregulated in transitional cell carcinoma of urinary bladder. *Urology*, 2005; 65: 1035-1040
- [44] Simic T., Savic-Radojevic A., Pljesa-Ercegovac M., Matic M., Mimic-Oka J.: Glutathione S-transferases in kidney and urinary bladder tumors. *Nat. Rev. Urol.*, 2009; 6: 281-289
- [45] Simic T., Savic-Radojevic A., Pljesa-Ercegovac M., Matic M., Sasic T., Dragicevic D., Mimic-Oka J.: The role of glutathione S-transferases in urinary tract tumors. *JMB*, 2008; 27: 360-366
- [46] Singh S.: Cytoprotective and regulatory functions of glutathione S-transferases in cancer cell proliferation and cell death. *Cancer Chemother. Pharmacol.*, 2015; 75: 1-15
- [47] Sohail A., Kanwal N., Ali M., Sadia S., Masood A.I., Ali F., Iqbal F., Crickmore N., Shaikh R.S., Sayyed A.H.: Effects of glutathione-S-transferase polymorphisms on the risk of breast cancer: a population-based case-control study in Pakistan. *Environ. Toxicol. Pharmacol.*, 2013; 35: 143-153
- [48] Soudy R., Chen C., Kaur K.: Novel peptide-doxorubicin conjugates for targeting breast cancer cells including the multidrug resistant cells. *J. Med. Chem.*, 2013; 56: 7564-7573
- [49] Srivastava D.S., Mishra D.K., Mandhani A., Mittal B., Kumar A., Mittal R.D.: Association of genetic polymorphism of glutathione S-transferase M1, T1, P1 and susceptibility to bladder cancer. *Eur. Urol.*, 2005; 48: 339-344
- [50] Tew K.D.: Redox in redux: emergent roles for glutathione S-transferase P (GSTP) in regulation of cell signaling and S-glutathionylation. *Biochem. Pharmacol.*, 2007; 73: 1257-1269
- [51] Tew K.D., Manevich Y., Grek C., Xiong Y., Uys J., Townsend D.M.: The role of glutathione S-transferase P in signaling pathways and S-glutathionylation in cancer. *Free Radic. Biol. Med.*, 2011; 51: 299-313
- [52] Townsend D.M., Tew K.D., He L., King J.B., Hanigan M.H.: Role of glutathione S-transferase Pi in cisplatin-induced nephrotoxicity. *Biomed. Pharmacother.*, 2009; 63: 79-85
- [53] Włodek L., Iciek M.: S-tiolacja białek jako mechanizm antyoksydacyjny i regulacyjny. *Postępy Biochem.*, 2003; 49: 77-84
- [54] Wojas-Krawczyk K., Krawczyk P., Chocholska S., Góra A., Mac-kiewicz B., Ciesielka M., Koziol P., Milanowski J.: CYP1A1, GSTT1, and GSTM1 polymorphisms and lung cancer in Eastern Poland. *Adv. Clin. Exp. Med.*, 2009; 18: 461-471
- [55] Yuan J.M., Chan K.K., Coetzee G.A., Castela J.E., Watson M.A., Bell D.A., Wang R., Yu M.C.: Genetic determinants in the metabolism of bladder carcinogens in relation to risk of bladder cancer. *Carcinogenesis*, 2008; 29: 1386-1393
- [56] Zhang J., Grek C., Ye Z.W., Manevich Y., Tew K.D., Townsend D.M.: Pleiotropic functions of glutathione S-transferase P. *Adv. Cancer Res.*, 2014; 122: 143-175
- [57] Zhang J., Ye Z., Lou Y.: Metabolism of chlorambucil by rat liver microsomal glutathione S-transferase. *Chem. Biol. Interact.*, 2004; 149: 61-67

Autorki deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.