

Estrogeni kot kancerogeni dejavniki pri raku dojk

Breast cancer: estrogens as carcinogens

Jasmina-Živa Černe,¹ Srdjan Novaković,² Ksenija Geršak¹

¹ Ginekološka klinika, Univerzitetni klinični center Ljubljana, Štajmerjeva 3, 1000 Ljubljana, Slovenija

² Oddelek za molekularno diagnostiko, Onkološki inštitut Ljubljana, Zaloška 2, 1000 Ljubljana, Slovenija

Korespondenca/ Correspondence:

prof. dr. Ksenija Geršak, dr. med., Ginekološka klinika, Univerzitetni klinični center Ljubljana, Štajmerjeva 3, 1000 Ljubljana, tel: +386 1 5225181, fax: +386 1 5222221, email: ksenija.gersak@mf.uni-lj.si

Ključne besede:

estrogen, hormonsko nadomestno zdravljenje, dejavnik tveganja, rak dojk, epidemiologija

Key words:

estrogen, hormone replacement therapy, risk factor, breast cancer, epidemiology

Citirajte kot/Cite as:

Zdrav Vestn 2013; 82: 41–6

Prispelo: 6. mar. 2012, Sprejeto: 23. jul. 2012

Izvleček

Pomemben dejavnik tveganja za raka dojk je daljša izpostavljenost estrogenom in njihovim reaktivnim presnovkom. Kancerogeno delovanje estrogenov se izraža na dveh ravneh; estrogeni preko svojih receptorjev uravnavajo izražanje genov za rastne dejavnike in tako stimulirajo proliferacijo epitelnega tkiva dojk, oksidativni metaboliti estrogenov pa povzročajo poškodbe na molekuli DNA. Aktivnost metabolnih poti estrogenov se med posamezniki razlikuje zaradi polimorfizmov v genih, ki pri tem sodelujejo. V populaciji žensk je tako čas izpostavljenosti estrogenom in njihovim presnovkom različen. Z ugotavljanjem genetskih razlik lahko opredelimo skupino žensk z večjim tveganjem za raka dojk pri dodatni izpostavljenosti estrogenom s hormonskim nadomestnim zdravljenjem.

Estrogeni kot dejavniki tveganja za rak dojk

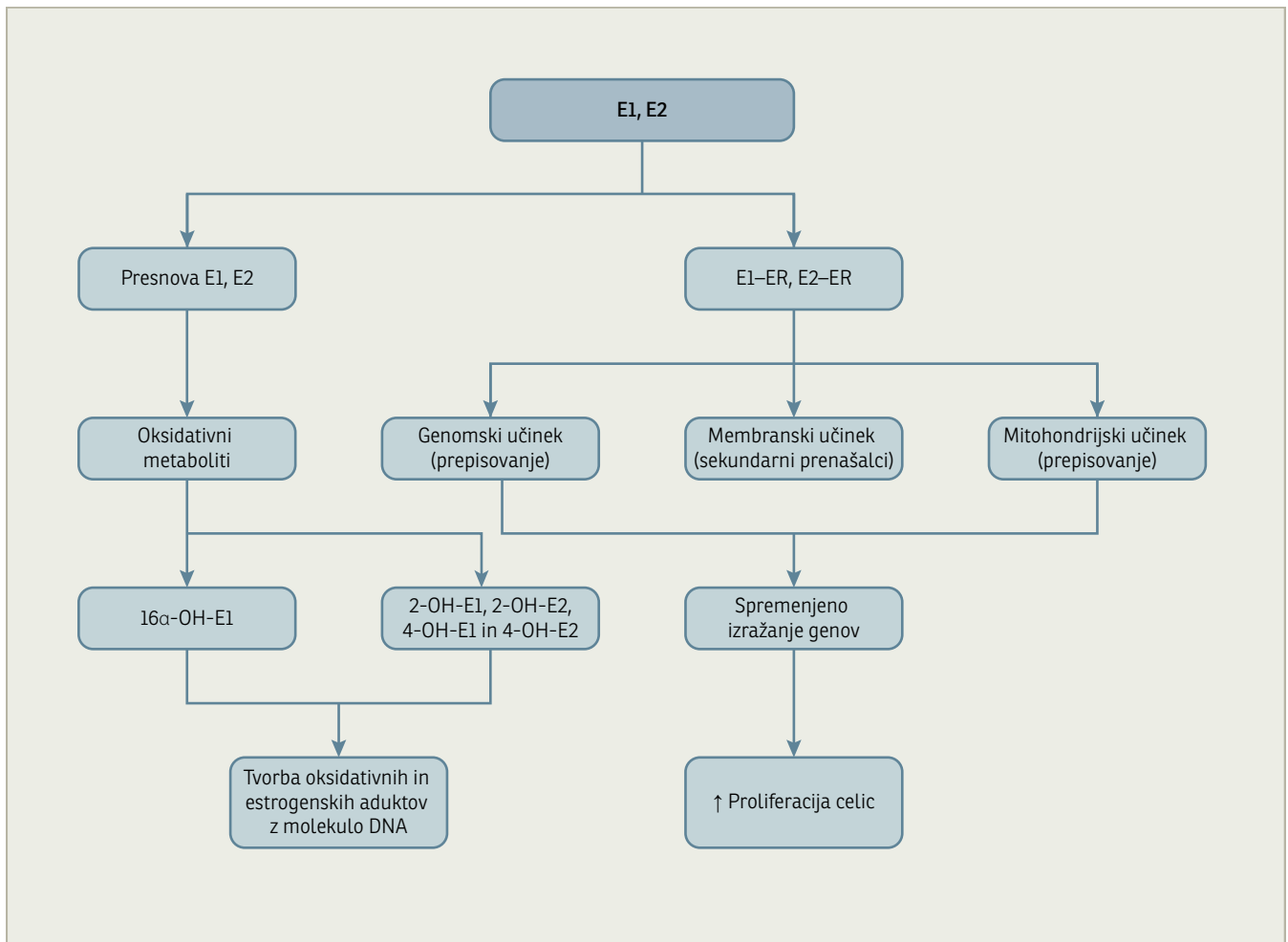
Rak dojk je v razvitem svetu najpogostejši rak pri ženskah. Poleg demografskih dejavnikov (spol, starost, zemljepisna lega), obremenilne družinske anamneze in življenjskega sloga (čezmerno uživanje alkohola) med pomembnejše dejavnike tveganja za nastanek raka dojk prištevamo reprodukcijske značilnosti, kot so zgodnja menarha, neplodnost in nerodnost, pozna prva nosečnost, opustitev dojenja, pozna menopavza

Abstract

The major known risk factors for breast cancer are associated with a prolonged exposure to increased levels of estrogens and their reactive metabolites. The mechanisms through which estrogens contribute to the carcinogenic process are complex. Evidence suggests the involvement of estrogen-receptor-mediated signalling which increases cell proliferation of mammary tissue. Furthermore, the metabolism of estrogens leads to the production of reactive metabolites, which exert genotoxic effects. Considerable inter-individual variability in the metabolic pathways of estrogens is attributed to polymorphisms in the genes encoding for enzymes involved in estrogen metabolism. These person-to-person differences define subpopulations of women with different lifetime exposure to estrogens and/or estrogen metabolites. Assessing these genetic differences is therefore relevant as it may help to identify postmenopausal women who are particularly susceptible to breast cancer if exposed to exogenous hormones by hormone replacement therapy.

ter debelost v pomenopavznem obdobju.¹⁻³ Skupna lastnost reprodukcijskih dejavnikov tveganja je, da zvišujejo raven spolnih hormonov v telesu.

Poleg epidemioloških dejstev tudi veliko število eksperimentalnih podatkov kaže na povezavo med ravniyo spolnih hormonov v telesu in tveganjem za raka dojk. Višje koncentracije estrogenov in androgenov (androstendiona in testosterona, ki jih encim aromataza neposredno spremeni v estron in estradiol) v krvi in urinu so bile povezane z večjim tveganjem za raka dojk.⁴⁻⁶



Slika 1: Mehanizmi kancerogenega delovanja estrogenov (prirejeno po Yager in sod., 2006).

Legenda:
 E1 – estron;
 E2 – estradiol;
 2-OH-E1(E2) – 2-hidroksiestron (estradiol);
 4-OH-E1(E2) – 4-hidroksiestron (estradiol);
 16α-OH-E1–16α-hidroksiestron;
 ER – estrogenski receptor.

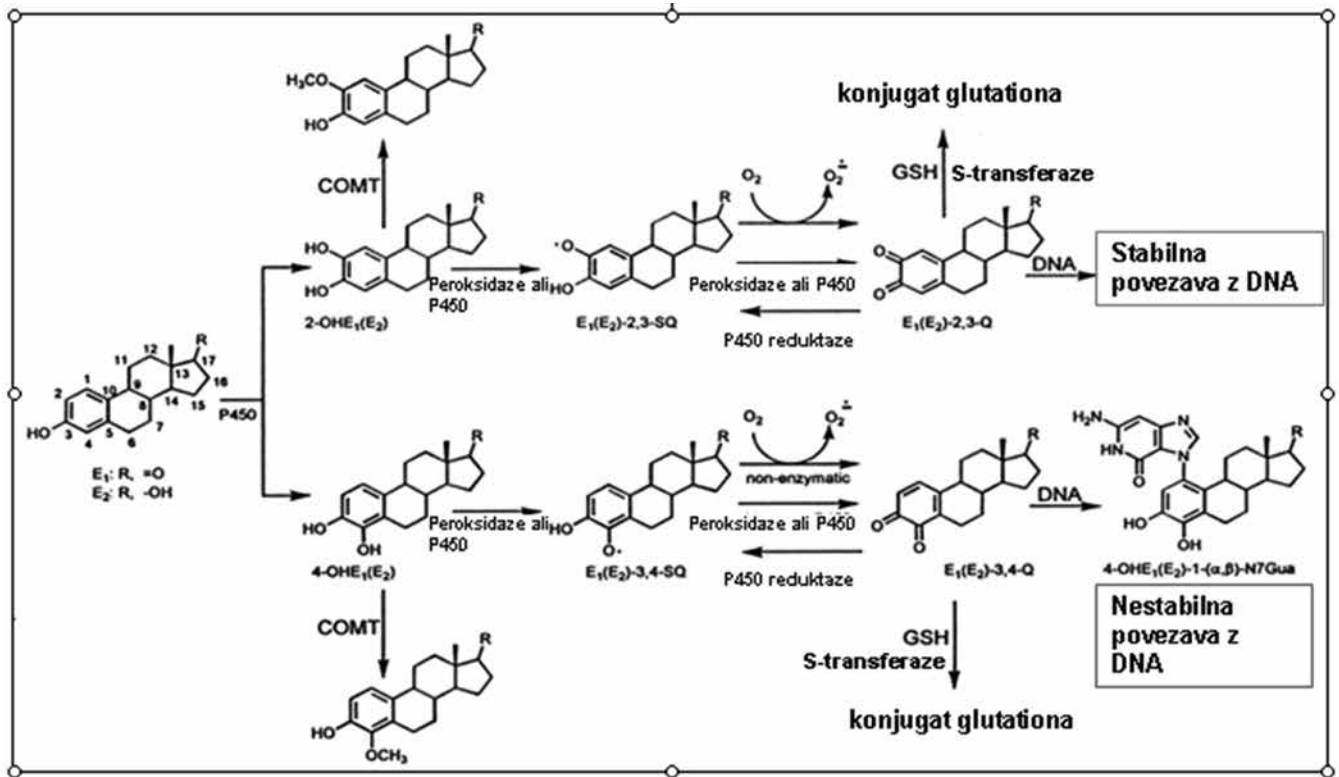
Dodatna izpostavljenost estrogenom s hormonskim nadomestnim zdravljenjem

Hormonsko nadomestno zdravljenje (HNZ) je najbolj učinkovita oblika preprečevanja klimakteričnih simptomov. Ker pa je povezava med HNZ in večjim tveganjem za raka dojk biološko verjetna, obstajajo nasprotujoča si mnenja o primernosti tovrstnega zdravljenja.

V zadnjih dvajsetih letih so bile narejene številne raziskave z namenom doseči končno stališče o varnosti HNZ. Obsežne randomizirane in s placebo kontrolirane klinične raziskave in opazovalne epidemiološke raziskave so ugotovile, da uporaba HNZ kaže zmerno ali malo večje tveganje za raka dojk.⁷⁻¹¹

Vpliv HNZ na tveganje za raka dojk je opredelila randomizirana in s placebo kontrolirane raziskave Women's Health Ini-

tiative.^{7,8} Prva skupina je vključevala 16.608 pomenopavznih žensk z maternico, ki so uporabljale konjugirani konjski estrogen in medroksiprogesteron acetat. Druga skupina je vključevala 10.739 histerektomiranih žensk, ki so uporabljale le konjugirani konjski estrogen. Rezultati raziskave so pokazali, da HNZ poveča incidenco raka dojk, vendar le pri uporabnicah kombiniranega (estrogen in progestin) HNZ (prva skupina: relativno tveganje 1.26, 95-odstotni interval zaupanja 1.00–1.59; druga skupina: relativno tveganje 0.77, 95-odstotni interval zaupanja 0.59–1.01). Med odmevne raziskave sodi tudi opazovalna epidemiološka raziskava Million Women Study, ki je vključevala 1.084.110 žensk.⁹ Ugotovitve so bile sledeče: tveganje za raka dojk je bilo večje pri trenutnih uporabnicah HNZ (relativno tveganje 1.66, 95-odstotni interval zaupanja 1.58–1.75) kot pri tistih, ki so kadar koli v preteklosti uporabljale HNZ (relativno tveganje 1.01, 95-odstotni interval zaupanja 0.94–1.09); tveganje



Slika 2: Metabolizem estrogena (prirejeno po Yager in sod., 2006).

Legenda:

- E₁ – estron;
- E₂ – estradiol;
- 2-OHE₁(E₂) – 2-hidroksiestron (estradiol);
- 4-OHE₁(E₂) – 4-hidroksiestron (estradiol);
- E₁(E₂)-2,3-SQ – estron (estradiol)-2,3-semikinon;
- E₁(E₂)-3,4-SQ – estron (estradiol)-3,4-semikinon;
- E₁(E₂)-2,3-Q – estron (estradiol)-2,3-kinon;
- E₁(E₂)-3,4-Q – estron (estradiol)-3,4-kinon.

za raka dojke je bilo večje pri uporabnicah kombiniranega HNZ (relativno tveganje 2.00, 95-odstotni interval zaupanja 1.88–2.12) kot pri uporabnicah samo estrogena (relativno tveganje 1.30, 95-odstotni interval zaupanja 1.21–1.40); pri uporabnicah HNZ je tveganje za rak dojke naraščalo sorazmerno z leti uporabe. V skladu s navedenim je v preteklih letih skupaj z upadom uporabe HNZ v številnih državah upadla tudi incidenca raka dojke.¹²

Mehanizmi kancerogenega delovanja estrogenov in oksidativnih presnovkov estrogenov

Mehanizmi kancerogenega delovanja estrogenov vključujejo povečano stimulacijo proliferacije epitelnega tkiva dojke ter nastanek poškodb na molekuli DNA, ki jih povzročajo oksidativni metaboliti estrogenov (Slika 1).

Vezava estrogena na svoj jedrni estrogeni receptor (ER) povzroči konformacijsko spremembo receptorja, ki se loči od inhibicijskega kompleksa šaperonov in dimerizira. V tej obliki se veže na značilna palindrom-

ska zaporedja na promotorskih regijah tarčnih genov. Na ta kompleks se vežejo še drugi regulacijski proteini, večinoma koaktivatorji, ki inducirajo izražanje genov. Estrogeni so poleg klasičnih regulatorjev izražanja genov preko svojih jedrnih receptorjev odgovorni tudi za prenos signala preko podtipa membransko vezanih ER, ki predstavljajo majhen delež vseh ER, in so lokaliziranih v kaveolah. Le-ti sodelujejo pri uravnavanju ionskih kanalov v celični membrani in pri aktiviranju z mitogeni aktivirane protein-kinazne (MAPK) in drugih signalnih poti.¹³ Od estrogena posredovano izražanje tarčnih genov za različne rastne dejavnike in aktivacija MAPK in drugih signalnih poti tako stimulira proliferacijo epitelnega tkiva dojke, poveča število celičnih delitev in s tem tudi možnost nastanka mutacij.¹⁴

Novejši dokazi podpirajo tudi vlogo oksidativnih presnovkov estrogenov kot iniciatorjev kancerogeneze.^{3,15} Za razliko od ostalih steroidnih hormonov imajo namreč estrogeni obroč A aromatski. Ta strukturna značilnost povzroči med presnovo tvorbo reaktivnih katehol estrogenov, estrogen semikinonov in kinonov, ki so odgovorni za nastanek oksidativnih in estrogenskih aduktov na molekuli DNA (Slika 2).

Metabolizem estradiola in estrona se začne s hidrosilacijo obroča A steroidnega jedra (2-hidroksilacija, 4-hidroksilacija) ali obroča D steroidnega jedra (16 α -hidroksilacija). Kancerogeni učinek povezujejo s 4-hidroksiliranimi derivati,¹⁶ saj je bilo v rakavem tkivu dojke razmerje koncentracij med 4-hidroksiestrogeni in 2-hidroksiestrogeni kar 4:1.¹⁷ Poleg tega tvorijo estrogen-3,4-kinoni (nastanejo z nadaljnjo oksidacijo iz 4-hidroksiestrogenov) nestabilne povezave s purini na molekuli DNA, kar vodi do nastanka visoko mutagenih apurinskih mest. V nasprotju z estrogen-3,4-kinoni, tvorijo estrogen-2,3-kinoni (nastanejo z nadaljnjo oksidacijo iz 2-hidroksiestrogenov) z molekulo DNA stabilne povezave, dokler jih DNA popravljalni mehanizmi ne odstranijo.¹⁸

Prva linija dokazov, ki podpira hipotezo o genotoksičnem delovanju metabolitov estrogenov, je vezana na njihovo prisotnost v tkivu dojke. V rakavem tkivu dojke so dokazali višjo raven reaktivnih 4-hidroksiestrogenov in nižjo raven zaščitnih metoksikatehol estrogenov. V nasprotju s tem je bila v normalnem tkivu dojke višja raven zaščitnih 2-hidroksiestrogenov in metoksikatehol estrogenov. Raven estrogen kinonov je bila trikrat višja pri bolnicah z rakom dojke kot pri zdravih kontrolah, kar pri bolnicah z rakom dojke kaže na večjo možnost nastanka napak na molekuli DNA.¹⁹

Druga linija dokazov prihaja iz asociacijskih raziskav, ki so ugotavljale vpliv polimorfizmov v genih, ki so vpleteni v presnovo estrogenov na tveganje za rak dojke. Estrogeni se v prvem koraku aktivirajo do katehol estrogenov s pomočjo citokromov P450 (CYP). Katehol estrogeni se inaktivirajo s katehol-O-metiltransferazami (COMT) ali nadalje tvorijo semikinone, ki s kinoni vstopajo v redoksne reakcije, pri čemer nastajajo še reaktivne kisikove spojine. Kinoni se konjugirajo z glutationom, reakcijo katalizirajo glutation-S-transferaze (GST), reaktivne kisikove spojine pa se inaktivirajo s pomočjo superoksidnih dizmutaz (SOD). Individualna aktivnost večine omenjenih encimov se razlikuje tudi za večkratni faktor.^{16,20} V populaciji žensk je tako čas izpostavljenosti estrogenom in njihovim presnovkom različen.

V številnih asociacijskih raziskavah pa je bilo le nekaj povezav med polimorfnimi aleli in rakom dojke tudi statistično potrjenih in dokazanih.²⁰⁻²⁶ To ni presenetljivo, če upoštevamo dejstva, da je patogeneza raka dojke multifaktorska in genetsko ozadje poligeno. Zato je zelo verjetno, da vsak posamezen polimorfizem prispeva le majhen delež h končnemu fenotipu. Neskladja teh raziskav so najverjetneje posledica napačno pozitivnih povezav, do katerih je prišlo naključno, nizke penetrance posameznih genov, premajhne statistične moči testov, ki tako niso uspeli odkriti povezav in dejanskih razlik v povezavah med različnimi populacijami.

Izsledki asociacijske raziskave na slovenski populaciji pomenopavznih žensk

V sodelovanju Ginekološke klinike, Univerzitetni klinični center Ljubljana in Onkološkega inštituta Ljubljana je v letih 2006–2011 potekala raziskava primerov s kontrolami na vzorcu 784 slovenskih bolnic z rakom dojke (študijska skupina) in 709 zdravih žensk (kontrolna skupina). Študijsko skupino za nadaljnjo genetsko analizo je sestavljalo 530 žensk, kontrolno skupino pa 270 žensk. To je bila prva asociacijska raziskava v zvezi z ugotavljanjem vpliva HNZ in genetskih dejavnikov na tveganje za nastanek raka dojke v slovenski populaciji pomenopavznih žensk. Naše ugotovitve so bile naslednje:²⁷⁻³⁰

- Zaradi celostne obravnave žensk brez predhodnih sprememb na dojkah HNZ ni bilo povezano z večjim tveganjem za raka dojke. Tveganje je bilo značilno manjše pri uporabnicah estrogenskega HNZ in se z daljšim časom uporabe ni bistveno spremenilo. Dejavniki, ki so bili povezani z večjim tveganjem za raka dojke, so debelost v pomenopavzi, kajenje ≥ 10 cigaret/dan in sorodnica/e v prvem kolenu z rakom dojke in/ali rakom jajčnikov.
- Nekateri dejavniki tveganja za raka dojke so se razlikovali glede na status hormonskih receptorjev. HNZ je bilo povezano

z manjšim tveganjem za hormonsko odvisen, ER⁺ in progesteronski receptor (PR)⁺, podtip raka dojk, na hormonsko neodvisne (ER⁻PR⁻) tumorje pa ni imelo značilnega vpliva.

- Posamezni polimorfizmi v genih, ki so vpleteni v metabolizem estrogenov (*CYP1B1* c. 1294C>G, *COMT* c. 472G>A, *GSTP1* c. 313A>G in *MnSOD* c. 47T>C), niso imeli vpliva na tveganje za raka dojk. Prav tako se njihov vpliv na raka dojk ni razlikoval glede na ER status tumorjev.
- Specifične kombinacije izbranih polimorfni alelov v genih, ki so vpleteni v metabolizem estrogenov (*CYP1B1* c. 1294C > G, *COMT* c. 472G > A, *GSTP1* c. 313A > G in *MnSOD* c. 47T > C), so bile povezane z večjim tveganjem za raka dojk.
- Tveganje za raka dojk je bilo pri dolgotrajnem HNZ (uporaba HNZ: ≥ 5 let) glede na kratkotrajno HNZ (uporaba HNZ: 1 < 5 let) večje pri posameznicah, ki nosijo vsaj en polimorfni alel *MnSOD* c. 47C.

Zaključek

Izsledki tovrstnih genetskih raziskav bi lahko igrali pomembno vlogo v vsakodnevni klinični praksi; z ugotavljanjem polimorfni alelov v genih, ki so vpleteni v metabolizem estrogenov, bi opredelili skupino žensk z večjim tveganjem za raka dojk pri dodatni izpostavljenosti estrogenom s HNZ. Ker pa gre za prve tovrstne ugotovitve v slovenski populaciji pomenopavznih žensk, je potrebno rezultate obravnavati previdno in poudariti pomen dodatnih raziskav, ki bodo prispevale k zanesljivejšemu odgovoru.

Literatura

- Travis RC, Key TJ. Oestrogen exposure and breast cancer risk. *Breast Cancer Res* 2003; 5: 239–47.
- Yager JD, Davidson NE. Estrogen Carcinogenesis in Breast Cancer. *N Engl J Med* 2006; 354: 270–82.
- Folkerd EJ, Martin LA, Kendall A, Dowsett M. The relationship between factors affecting endogenous oestradiol levels in postmenopausal women and breast cancer. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2006; 102: 250–5.
- Kendall A, Folkerd EJ, Dowsett M. Influences on circulating oestrogens in postmenopausal women: Relationship with breast cancer. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2007; 103: 99–109.
- Key T, Appleby PN, Barnes I, Reeves G, Endogenous Hormones and Breast Cancer Collaborative Group. Endogenous sex hormones and breast cancer in postmenopausal women: reanalysis of nine prospective studies. *J Natl Cancer Inst* 2002; 94: 606–16.
- Onland-Moret NC, Kaaks R, van Noord PA, Rinaldi S, Key T, Grobbee DE et al. Urinary endogenous sex hormone levels and the risk of postmenopausal breast cancer. *Br J Cancer* 2003; 88: 1394–9.
- Writing Group for the Women's Health Initiative Investigators. Risk and benefits of estrogen plus progestin in healthy postmenopausal women: principal results from the Women's Health Initiative randomized controlled trial. *JAMA* 2002; 288: 321–33.
- The Women's Health Initiative Steering Committee. Effects of Conjugated Equine Estrogen in Women's Health Initiative Randomized Controlled Trial Postmenopausal Women With Hysterectomy: The Women's Health Initiative Randomized Controlled Trial. *JAMA* 2004; 291: 1701–12.
- Million Women Study Collaborators. Breast Cancer and hormone-replacement therapy in the Million Women Study. *Lancet* 2003; 362: 419–27.
- Beral V, Reeves G, Bull D, Green J for the Million Women Study Collaborators. Breast Cancer Risk in Relation to the Interval Between Menopause and Starting Hormone Therapy. *J Natl Cancer Inst* 2011; 103: 296–305.
- Salagame U, Canfell K, Banks E. An epidemiological overview of the relationship between hormone replacement therapy and breast cancer. *Expert Rev Endocrinol Metab* 2011; 6: 397–409.
- Ravdin PM, Cronin KA, Howlander N, Berg CD, Chlebowski RT, Feuer EJ et al. The decrease in breast-cancer incidence in 2003 in the United States. *N Engl J Med* 2007; 356: 1670–4.
- Singh RR, Kumar R. Steroid hormone receptor signaling in tumorigenesis. *J Cell Biochem* 2005; 96: 490–505.
- Pike MC, Spicer DV, Dahmouh L, Press MF. Oestrogens, progestogens, normal breast cell proliferation, and breast cancer risk. *Epidemiol Rev* 1993; 15: 17–35.
- Yager JD. Endogenous oestrogens as carcinogens through metabolic activation. *J Natl Cancer Inst Monogr* 2000; 27: 67–73.
- Mitrunen K, Hirvonen A. Molecular epidemiology of sporadic breast cancer. The role of polymorphic genes involved in oestrogen biosynthesis and metabolism. *Mutation Research* 2003; 544: 9–41.
- Liehr JG. Is estradiol a genotoxic mutagenic carcinogen? *Endocr Rev* 2000; 21: 40–54.
- Cavalieri E, Frenkel K, Liehr JG, Rogan E, Roy D. Estrogens as Endogenous Genotoxic Agents – DNA Adducts and Mutation. *J Natl Cancer Inst Monogr* 2000; 27: 75–93.
- Rogan EG, Badawi AF, Devanesan PD, Meza JL, Edney JA, West WW et al. Relative imbalances in estrogen metabolism and conjugation in breast tissue of women with carcinoma: potential biomarkers of susceptibility to cancer. *Carcinogenesis* 2003; 24: 697–702.
- Dunning AM, Healey CS, Pharoah PD, Teare MD, Ponder BA, Easton DF. A systematic review of genetic polymorphisms and breast cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1999; 27: 843–54.
- Pharoah PD, Tyrer J, Dunning AM, Easton DF, Ponder BA. Association between Common Variation in 120 Candidate Genes and Breast Cancer Risk. *PLoS Genetics* 2007; 3: e42.
- Justenhoven C, Hamann U, Schubert F, Zapatka M, Pierl CB, Rabstein S et al. Breast cancer: a candidate gene approach across the estrogen metabolic pathway. *Breast Cancer Res Treat* 2008; 108: 137–49.
- Reding KW, Weiss NS, Chen C, Li CI, Carlson CS, Wilkerson HW et al. Genetic Polymorphisms in the Catechol Estrogen Metabolism Pathway and Breast Cancer Risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2009; 18: 1461–7.
- Marchand LL, Donlon T, Kolonel LN, Henderson BE, Wilkens LR. Estrogen Metabolism-Related Genes and Breast Cancer Risk: The Multiethnic Cohort Study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005; 14: 1998–2003.
- Wen W, Cai Q, Shu XO, Cheng JR, Parl F, Pierce L et al. 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: 329–35.
- Mavaddat N, Dunning AM, Ponder BAJ, Easton DF, Pharoah PD. Common Genetic Variation in Candidate Genes and Susceptibility to Subtypes of Breast Cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2009; 18: 255–9.
- Cerne JZ, Ferik P, Leskosek B, Gersak K. Hormone replacement therapy and some breast cancer risk factors among Slovenian postmenopausal women. *Climacteric* 2011; 14: 458–63.
- Cerne JZ, Ferik P, Frkovic-Grazio S, Leskosek B, Gersak K. Risk factors for HR and HER2 defined breast cancer in Slovenian postmenopausal women. *Climacteric* 2012; 15: 68–74.
- Cerne JZ, Pohar-Perme M, Novakovic S, Frkovic-Grazio S, Stegel V, Gersak K. Combined effect of CYP1B1, COMT, GSTP1 and MnSOD genotypes and risk of postmenopausal breast cancer. *J Gynecol Oncol* 2011; 22: 110–9.
- Cerne JZ, Novakovic S, Frkovic-Grazio S, Pohar-Perme M, Stegel V, Gersak K. Estrogen metabolism genotypes, use of long-term hormone replacement therapy and risk of postmenopausal breast cancer. *Oncol Rep* 2011; 26: 479–85.