

Estrogeny uważa się za jeden z czynników etiologicznych nowotworów piersi, macicy oraz jajników. Hormony te stymulują wzrost komórek, który poprzedzony replikacją DNA daje możliwość utrwalenia potencjalnie karcinogennych zmian w genomie, zarówno spontanicznych, jak i wywołanych czynnikami środowiskowymi. Do niedawna estrogeny uważane były za czynniki nie wpływające na mutagenezę i karcinogenezę. Fakt ten wynikał głównie z niedoskonałości metod detekcji kowalencyjnych wiązań estrogenów z zasadami azotowymi w DNA oraz niedostatecznie poznanych przemian metabolicznych tych hormonów. Postęp w biologii molekularnej oraz doskonalsze metody detekcji pozwoliły na poznanie mechanizmów przemian metabolicznych estrogenów oraz ich wpływu na procesy nowotworzenia. Bezpośredni wpływ estrogenów na komórki docelowe jest rezultatem wiązania kompleksu steroid-receptor z DNA w jądrze komórkowym. Regulują one w ten sposób ekspresję genów oraz mogą powodować przemianę protoonkogenów w onkogeny. Nasilając syntezę DNA w tkankach podścieliski i tkance gruczołowej, stymulują proliferację komórek.

Różnorodność uszkodzeń chromosomów i DNA indukowanych estrogenami pozwala stwierdzić, że estrogeny są czynnikami powodującymi mutacje genowe.

Słowa kluczowe: estrogeny, karcinogeneza, nowotwory.

Rola estrogenów w procesie karcinogenezy

The role of oestrogenes in carcinogenesis

Marek Foksiński¹, Krzysztof Piekutowski², Krzysztof Roszkowski¹, Ryszard Oliński¹

ROLA ESTROGENÓW W PROCESIE KARCINOGENEZY

Jednym z głównych czynników regulujących pracę poszczególnych narządów naszego organizmu są hormony. W wielu przypadkach hormony działając przeciwnie powodują cykliczność regulowanych przez siebie procesów. Hormony płciowe, estrogeny uważane są za jeden z czynników etiologicznych indukujących nowotwory piersi, macicy oraz jajników [1, 2]. Jest to istotne ze względu na fakt, że wymienione nowotwory znajdują się wśród 5 najczęściej występujących nowotworów u kobiet. Od dawna wiadomo, że estrogeny są stymulatorami proliferacji komórek. Wzrost komórek poprzedzany replikacją DNA daje możliwość utrwalenia potencjalnie karcinogennych zmian w genomie – mutacji, zarówno spontanicznych, jak i wywoływanych szeregiem czynników zewnętrznych, środowiskowych. Paradoksalnie więc, estrogeny mają właściwości kompletnych karcinogenów, ponieważ stymulują proliferację komórek i uszkadzają DNA.

Do niedawna estrogeny uważane były za czynniki nie wpływające na mutagenezę i karcinogenezę. Fakt ten wynikał głównie z niedoskonałości metod detekcji kowalencyjnych wiązań estrogenów z zasadami azotowymi w DNA oraz niedostatecznie poznanych przemian metabolicznych tych hormonów. Postęp w biologii molekularnej oraz powstanie doskonalszych technik detekcji rzuciły nowe światło na ten problem. Obecnie estrogeny oraz ich metabolity uważane są za związki wpływające na proces nowotworzenia w tkankach estrogenozależnych [3]. Z danych literaturowych wynika, że podawanie pacjentkom estrogenów zwiększa ryzyko powstawania raka endometrium ok. 4-krotnie [4, 5, 6]. W zależności od ilości receptorów dla tych hormonów, okres procesu karcinogenezy, począwszy od ogniskowej hiperplazji do pełnoobjawowego raka szacowany jest na ok. 10–20 lat [5].

Podobnych obserwacji dokonano co do endo- i egzogennych estrogenów i ich wpływu na powstanie raka piersi [7, 8, 9, 10, 11, 12, 13]. Cztero-, pięciokrotnie zwiększona zachorowalność na ten nowo-

twór koreluje z przedziałem czasowym stosowania hormonalnej terapii zastępczej [7, 9, 10, 11, 14].

Bezpośredni wpływ estrogenów na komórki docelowe jest rezultatem wiązania kompleksu steroid-receptor z DNA w jądrze komórkowym [15]. Regulują one w ten sposób ekspresję genów oraz mogą powodować przemianę protoonkogenów w onkogeny [16]. Nasilając syntezę DNA w tkankach podścieliska i tkance gruczołowej, stymulują proliferację komórek [17].

Metabolizm estrogenów prowadzi do powstania szeregu metabolitów [2-hydroksiestronów (2-HE), 4-hydroksyestronów (4-HE), 16- α -hydroksyestronów (16 α -HE)], które przekształcane w semichinony i chinony generują reaktywne formy tlenu oraz bezpośrednio uszkadzają DNA [2, 18].

USZKODZENIA DNA INDUKOWANE ESTROGENAMI

Addukty DNA-estrogen

Endogenne estrogeny (estrone, estradiol) nie tworzą połączeń z DNA. Zupełnie inaczej zachowują się metabolity tych hormonów oraz estrogeny syntetyczne (dietylo-stilbestrol – DES). Jako pierwsi wiążanie DES z jądrowym DNA izolowanym z nerek chomików obserwowali Liehr i Roy [19] oraz Gladek i Liehr [20]. Podobne addukty DNA-estrogen tworzą się w wątrobie, nerkach i macicy chomików po podaniu DES w jednorazowych, dużych dawkach. Są one identyczne z adduktami generowanymi podczas inkubacji oczyszczonego DNA lub deoksyguanozy-nomonofosforanu z DES chinonem (metabolitem DES) [20]. DES tworzy addukty również z mitochondrialnym DNA (mtDNA), a ilość tych połączeń jest większa niż w DNA jądrowym [21]. Po iniekcji DES ciężarnym chomikom obserwowano pojawienie się adduktów w wątrobach i nerkach płodów [20].

Katecholoestrogeny, jedne z ważniejszych metabolitów estrogenów, często tworzą kowalencyjne wiązania z DNA [3]. 2- i 4-hydroksiestradol, generowany po aktywacji enzymów mikrosomalnych, daje

¹ Katedra i Zakład Biochemii Klinicznej, Akademia Medyczna w Bydgoszczy

² Oddział Ginekologii Onkologicznej, Regionalne Centrum Onkologii w Bydgoszczy

Both oestrogens and their metabolites are believed to be etiological factors in breast, uterine and ovarian carcinomas. Those hormones stimulate the proliferation of cells, which proceeded by DNA replication, offers the opportunity of fixing potentially carcinogenic mutations, both spontaneous and those caused by a number of external environmental agents. Four- or fivefold increase of incidence of this carcinoma correlates with the period of employed substitution hormonotherapy.

The direct influence of oestrogens on target cells results from combining the steroid – receptor complex with DNA in the cell nucleus. This is the way they regulate the expression of genes and may result in transformation of protooncogens into oncogens. Metabolism of oestrogenes gives rise to a number of metabolites (2-hydroxyoestrone (2-HE), 4-hydroxyoestrone (4HE) 16 α -hydroxyoestrones (16 α -HE), which converted into semiquinones and quinines generate reactive oxygen species (ROS) and directly impair DNA. A frequent effect of the interaction of oestrogen derivatives with DNA is a generator apurinic sites in DNA that result from labilization of N-glycoside bonds. ROS maybe generated during catabolism of oestrogens catalyzed by cytochrome P450 reductase and other electrons-transporting enzymes. This increased production of ROS may result in oxidative stress. The interaction of ROS, especially highly reactive hydroxyl radical with cell components may damage DNA, which in turn may cause the cancer development. The most important of those DNA lesions are modifications of nucleobases, some of which may be responsible for neoplastic transformations. Practically all oestrogen metabolites may be substrates of such reactions.

ROS are produced in redox cycles of oestrogens by microsomal, mitochondrial and nuclear enzymatic systems as well as non-enzymatically in reactions with copper (Cu^{+}) and iron (Fe^{2+}) ions. A production of ROS in the process of oestrogen catabolism may also trigger lipid peroxidation. Products of lipid peroxidation (e.g. malondialdehyde) may react with DNA and produce potentially mutagenic DNA-aldehyde adducts and/or DNA strand brakes.

Thus, a generation of oxygen free radicals and different DNA adducts may cause structural changes of the

analogiczne addukty z DNA co syntetyczny 2- i 4-estradiol chinon [22, 23, 24]. Często addukty metabolitów estrogenów z DNA są mało stabilne i ich detekcja jest trudna. Obserwacje dotyczyły głównie efektów oddziaływań pochodnych estrogenów z DNA. Bardzo często prowadzi to do powstania miejsc apurynowych lub destabilizacji wiązań glikozydowych [23, 24].

Endogenne addukty DNA-estrogen stwierdzono u ssaków w takich tkankach, jak wątroba, nerki, macica, mózg, płuca, jajniki i gruczoły piersiowe. Przy podawaniu przez dłuższy okres estrogenów, ilość adduktów wzrasta w tkankach objętych procesem nowotworzenia [25, 26]. Obserwuje się również zależność ilości tych adduktów od wieku zwierząt doświadczalnych [27].

Metabolizm estrogenów

Generowanie wolnych rodników tlenowych w wyniku przemian metabolicznych estrogenów

Estron i 17 β -estradiol biochemicznie są związkiem zamiennym, które pod wpływem dehydrogenazy 17 β -estradiolu mogą przeходить w siebie i dają te same metabolity.

Aromatyczna hydroksylacja estronu i 17 β -estradiolu jest dominującym procesem metabolizmu tych hormonów i prowadzi do powstania katecholowych pochodnych [28, 29]. Hydroksylacja zachodzi z udziałem cytochromu P450 i może dotyczyć pozycji 2 lub 4 [30, 31].

Z badań eksperymentalnych wynika, że 4-hydroksyestron może uszkadzać DNA, czego nie stwierdzono w przypadku 2-hydroksyestronu [32]. W tkankach podatnych na estrogenozależną karcynogenezę (nerki, macica, przysadka) przeważa hydroksylacja w pozycji 4, natomiast w tkankach opornych na tego typu zmiany (np. wątroba) przeważa hydroksylacja w pozycji 2 [33].

Dalszym etapem metabolizmu estrogenów, który odbywa się z udziałem oksydantów chemicznych lub enzymów oksydacyjnych jest powstanie pochodnych chinoowych [34, 35]. Rola cytochromu P450 w tym procesie nie do końca jest wyjaśniona. Charakterystyczną właściwością tych pochodnych jest duża elektrofilowość [18].

Inną drogą przemian metabolicznych estrogenów jest hydroksylacja w pozycji 16 α . Wykazano, że 16 α -hydroksyestron alkiluje reszty aminokwasowe białek [36]. Duże stężenie tej pochodnej obserwowano w raku sutka, gdzie 16 α -hydroksyestron uważany jest za czynnik promujący proliferację komórek nowotworowych [37, 38, 39].

Podczas przemian metabolicznych estrogenów, w wyniku reakcji katalizowanych przez reduktazę cytochromu P450 i inne enzymy przenoszące elektrony dochodzi do powstawania anionorodnika ponadtlenkowego (O_2^-), który w procesie dysmutacji z udziałem dysmutazy ponadtlenkowej (SOD) przekształcany jest w nadtlenek wodoru (H_2O_2). Z nadtlenku wodoru, w wyniku reakcji z jo-

nami metalii grup przejściowych (reakcja Fentona), może powstawać wysoko reaktywny rodnik hydroksylowy ($^{\bullet}OH$) [40]. Substratami tych reakcji mogą być praktycznie wszystkie metabolity estrogenów [41].

Drugim typem reakcji, w których powstaje anionorodnik ponadtlenkowy (O_2^-) jest dwuelektronowa redukcja pochodnych katecholowych estrogenów z udziałem NADPH, katalizowana przez DT-diaforazę [42].

Generalnie, wolne rodniki tlenowe (WRT) są wytwarzane w cyklach oksydoredukcyjnych estrogenów przez mikrosomalne, mitochondrialne i jądrowe systemy enzymatyczne oraz nieenzymatyczne w reakcji z jonami miedzi (Cu^{+}) i żelaza (Fe^{2+}) [3, 43, 44, 45, 46].

Addukty lipidu-DNA

Pośrednim wskaźnikiem oksydacyjnych uszkodzeń DNA przez estrogeny są addukty DNA – aldehydy (głównie dialdehyd malonowy), które powstają w wyniku peroksydacji lipidów, jako efekt generowania rodników tlenowych przez estrogeny. Addukty te obserwowano u chomików, którym podawano DES [47, 48] i estradiol [49].

Pęknięcie nici DNA

Produkty reakcji wolnych rodników tlenowych z lipidami mogą reagować z DNA, powodując zmiany w strukturze tej biomolekuły, uwidaczniające się jako pęknięcia nici. Zmiany te obserwowano w doświadczeniach prowadzonych *in vivo*, jak i *in vitro* po ekspozycji na estrogeny. Pojedyncze pęknięcia nici DNA stwierdzono w nerkach chomików eksponowanych na estradiol lub 4-hydroksyestradoli [50]. Podobne obserwacje dotyczyły prostaty szczurów traktowanych estradiolem [51].

Uszkodzenia chromosomalne

Analiza chromosomów sugeruje, że estrogeny indukują na tym poziomie 2 typy zmian genetycznych:

- liczbowe zmiany chromosomalne bez/i z widocznymi uszkodzeniami DNA,
- strukturalne aberracje chromosomalne indukowane bezpośrednio przez katecholowe metabolity estrogenów lub przez powstające w cyklu oksydoredukcyjnym wolne rodniki [3].

Aberracje chromosomalne obserwowane były po ekspozycji na DES, jak i na naturalne estrogeny w przypadku modeli zwierzęcych [52, 53] oraz w liniach komórkowych [54, 55]. Strukturalne uszkodzenia chromosomów powstałe pod wpływem syntetycznych i naturalnych estrogenów stwierdzono u szczurów w tkankach objętych procesem nowotworzenia inicjowanym estrogenami [52]. Traktowanie chomików DES lub estradiolem powodowało powstawanie aberracji chromosomalnych obejmujących delekcje, inwersje i translokacje w komórkach nerrek [56]. Formowanie wolnych rodników przez estrogeny oraz tworzenie adduktów z DNA powoduje zmiany strukturalne chro-

chromosomes that are observed after exposure of the cells to oestrogens. Also the changes in the number of chromosomes are thought to be induced by catechol metabolites of oestrogens or by oxygen free radicals formed during their metabolism. Although genotoxicity of oestrogens has not been confirmed by bacteriological tests, they are considered to be agents that contribute to cancer promotion and progression.

Key words: oestrogens, carcinogenesis, carcinoma.

mosomów obserwowane jako odpowiedź na ekspozycję estrogenami [52, 56].

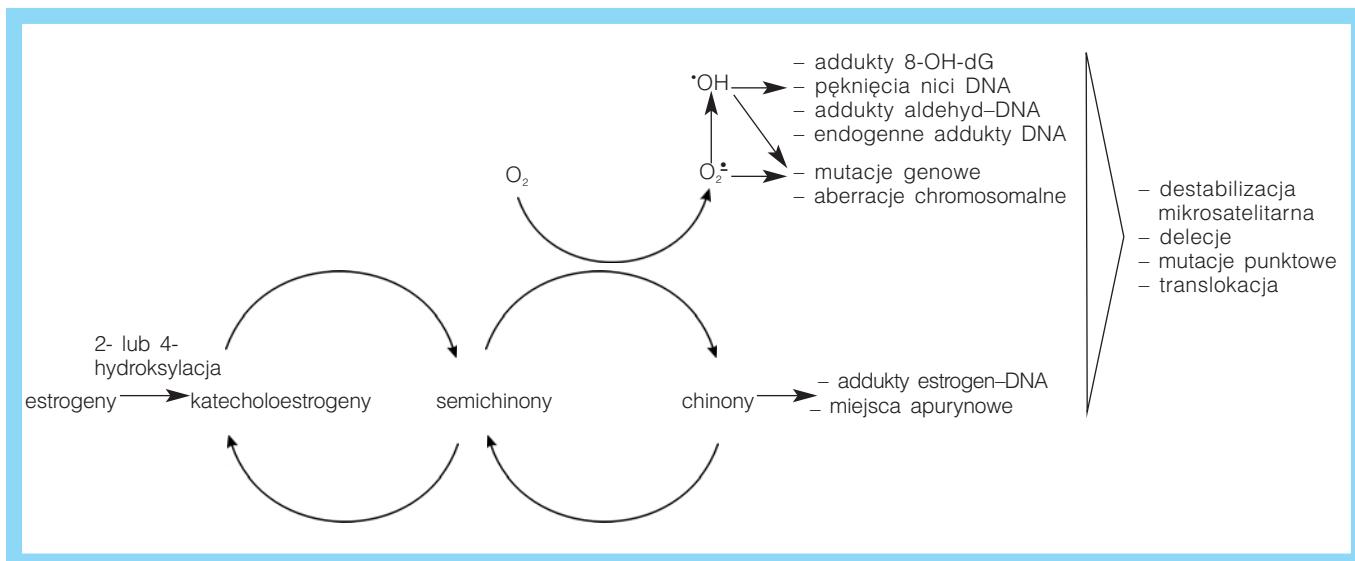
Mutacje genowe

Wprawdzie genotoksyczność estrogenów nie została potwierdzona testami bakteriologicznymi, to jednak biorąc pod uwagę reaktywne metabolity estrogenów i ich addukty z DNA oraz uszkodzenia DNA indukowane generowaniem wolnych rodników przez te hormony, konsekwencją oddziaływanego estrogenów na komórkę powinny być mutacje. W wielu laboratoriach indukowano różnego typu mutacje estrogenami. Reaktywny metabolit DES, DES chinon, zwiększa homologiczne rekombinacje u *E. coli* [57]. Niskie dawki estradiolu indukują mutacje w locus *grtp* w linii komórkowej V79 [58]. W indukowanym estrogenami guzie nerek u chomików zmienia się sekwencja powtórzeń w mikrosatelitarnym DNA [59]. Niestabilne mikrosatelitarne sekwencje DNA występują we wszystkich przypadkach guzów dróg płciowych u córek kobiet leczonych DES [60]. Ponadto obserwowało się mutację genu p53 w kodonie 274 i 140 w raku wątroby w skojarzeniu z zażywaniem dousznych środków antykoncepcyjnych [61].

Różnorodność uszkodzeń chromosomów i DNA indukowanych estrogenami pozwala stwierdzić, że estrogeny są czynnikami powodującymi mutacje genowe [3].

PIŚMIENIĘCTWO

1. Malins DC, Polissar NL, Gunselman SJ. *Models of DNA structure achieve almost perfect discrimination between normal prostate, benign prostatic hyperplasia (BPH), and adenocarcinoma and have a high potential for predicting BPH and prostate cancer.* Proc Natl Acad Sci USA, 1997; 94: 259-64.
2. Service RF. *New role for estrogen in cancer?* [news] [see comments] [published erratum appears in Science 1998 Jun 26; 280 (5372): 2033]. Science 1998; 279: 1631-3.
3. Roy D, Liehr JG. *Estrogen, DNA damage and mutations.* Mutation Research–Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis 1999; 424: 107-15.
4. Brinton L, Hoover R, et al. *Estrogen replacement therapy and endometrial cancer risk: unresolved issues.* Obstet Gynecol 1993; 81: 265.
5. Grady D, Gebretsadik T, Kerlikowske K, et al. *Hormone replacement therapy and endometrial cancer risk: a meta-analysis.* Obstet Gynecol 1995; 85: 304.
6. McGonigle K, Karlan B, Barbuto D, et al. *Development of endometrial cancer in women on estrogen and progestin-hormone replacement therapy.* Gynecol Oncol 1994; 44: 126.
7. Schairer C, Byrne C, Keyl P, et al. *Menopausal estrogen and estrogen-progestin replacement therapy and risk breast cancer.* Cancer Causes and Control 1994; suppl. 5: 491.
8. Schneider H. *Endocrine management of breast cancer.* Int J Fertil 1994; suppl. 2, 39, 115.
9. Sitruk-Ware R. *Estrogens, progestins and breast cancer risk in post-menopausal women: state of the ongoing controversy in 1992.* Maturitas 1992; 15: 129.
10. Standford J, Weiss N, Voigt L, et al. *Combined estrogen and progestin hormone replacement therapy in relation to risk of breast cancer in middle-aged women.* JAMA 1995; 274: 274.
11. Steinberg K, Smith S, Thacker S, et al. *Breast cancer risk and duration of estrogen use: the role of study design, in meta-analysis.* Epidemiology 1994; 5: 415.
12. Van Leeuwen F. *Epidemiologic aspects of exogenous progestogens in relation to their role in pathogenesis of human breast cancer.* Acta Endocrin 1991; 125: 1.
13. Kurman RJ (Ed). *Blaustein's Pathology of Female Genital Tract.* (Fourth Edition), Springer Verlag, New York 1994.
14. Voit L, Weiss N, Chu J, et al. *Progestogen supplementation of exogenous osteoestrogens and risk of endometrial cancer.* Lancet 1991; 274: 338.
15. Spelsberg TC, Rories C, Rejman JJ, Goldberger A, Fink K, Lau CK, Colvard DS, Wiseman G. *Steroid action on gene expression: possible roles of regulatory genes and nuclear acceptor sites.* Biol Reprod 1989; 40: 54-69.
16. Halliwell B, Gutteridge JM. *Free Radicals in Biology and Medicine.* New York: Oxford University Press Inc, 1999. Ed. Third.
17. Whitehead MI, Fraser D. *The effects of estrogens and progestogens on the endometrium. Modern approach to treatment.* Obstet Gynecol Clin North Am 1987; 14: 299-320.
18. Bolton JL, Pisha E, Zhang F, Qiu S. *Role of quinoids in estrogen carcinogenesis.* Chem Res Toxicol 1998; 11: 1113-27.
19. Liehr JG, Roy D. *Free radical generation by redox cycling of estrogens.* Free Radic Biol Med 1990; 8: 415-23.
20. Gladek A, Liehr JG. *Transplacental genotoxicity of diethylstilbestrol.* Carcinogenesis 1991; 12: 773-6.
21. Thomas RD, Roy D. *Mitochondrial enzyme-catalyzed oxidation and reduction reactions of stilbene estrogen.* Carcinogenesis 1995; 16: 891-5.
22. Ashburn SP, Han X, Liehr JG. *Microsomal hydroxylation of 2- and 4-fluoroestradiol to catechol metabolites and their conversion to methyl ethers: catechol estrogens as possible mediators of hormonal carcinogenesis.* Mol Pharmacol 1993; 43: 534-41.
23. Stack DE, Byun J, Gross ML, Rogan EG, Cavalieri EL. *Molecular characteristics of catechol estrogen quinones in reactions with deoxyribonucleosides.* Chem Res Toxicol 1996; 9: 851-9.
24. Cavalieri EL, Stack DE, Devanesan PD, Todorovic R, Dwivedy I, Higginbotham S, Johansson SL, Patil KD, Gross ML, Gooden JK, Ramathan R, Cerny RL, Rogan EG. *Molecular origin of cancer: catechol estrogen-3,4-quinones as endogenous tumor initiators.* Proc Natl Acad Sci USA 1997; 94: 10937-42.
25. Liehr JG, Avitts T, A, Randerath E, Randerath K. *Estrogen-induced endogenous DNA adduction: possible mechanism of hormonal cancer.* Proc Natl Acad Sci USA 1986; 83: 5301-5.
26. Liehr JG, Hall ER, Avitts TA, Randerath E, Randerath K. *Localization of estrogen-induced DNA adducts and cytochrome P-450 activity at the site of renal carcinogenesis in the hamster kidney.* Cancer Res 1987; 47: 2156-9.
27. Randerath K, Liehr JG, Gladek A, Randerath E. *Age-dependent covalent DNA alterations (I-compounds) in rodent tissues: species, tissue and sex specificities.* Mutat Res 1989; 219: 121-33.
28. MacLusky NJ, Naftolin F, Krey LC, Franks S. *The catechol estrogens.* J Steroid Biochem 1981; 15: 111-24.



Ryc. Uszkodzenia DNA indukowane estrogenami

29. Fishman J. *Aromatic hydroxylation of estrogens*. Annu Rev Physiol 1983; 45: 61-72.
30. Suchar LA, Chang RL, Thomas PE, Rosen RT, Lech J, Conney AH. *Effects of phenobarbital, dexamethasone, and 3-methylcholanthrene administration on the metabolism of 17 beta-estradiol by liver microsomes from female rats*. Endocrinology 1996; 137: 663-76.
31. Martucci CP, Fishman J. *P450 enzymes of estrogen metabolism*. Pharmacol Ther 1993; 57: 237-57.
32. Liehr JG. *Hormone-associated cancer: mechanistic similarities between human breast cancer and estrogen-induced kidney carcinogenesis in hamsters*. Environ Health Perspect 1997; 105 Suppl 3: 565-9.
33. Liehr JG, Ricci MJ. *4-Hydroxylation of estrogens as marker of human mammary tumors*. Proc Natl Acad Sci USA 1996; 93: 3294-6.
34. Sugumaran M. *Molecular mechanisms for mammalian melanogenesis. Comparison with insect cuticular sclerotization*. [corrected and republished article originally printed in FEBS Lett 1991; Nov 18; 293 (1-2): 4-10]. FEBS Lett. 1991; 295: 233-9.
35. O'Brien PJ. *Molecular mechanisms of quinone cytotoxicity* [published erratum appears in Chem Biol Interact 1992 Jan; 81 (1-2): 219]. Chem Biol Interact 1991; 80: 1-41.
36. Neberth DW. *Elevated estrogen 16 alpha-hydroxylase activity: is this a genotoxic or nongenotoxic biomarker in human breast cancer risk? [editorial; comment]*. J Natl Cancer Inst 1993; 85: 1888-91.
37. Swaneck GE, Fishman J. *Covalent binding of the endogenous estrogen 16 alpha-hydroxyestrone to estradiol receptor in human breast cancer cells: characterization and intranuclear localization*. Proc Natl Acad Sci USA 1988; 85: 7831-5.
38. Davis DL, Bradlow HL, Wolff M, Woodruff T, Holzel DG, Anton CH. *Medical hypothesis: xenoestrogens as preventable causes of breast cancer*. Environ Health Perspect. 1993; 101: 372-7.
39. Newfield L, Bradlow HL, Sepkovic DW, Auburn K. *Estrogen metabolism and the malignant potential of human papillomavirus immortalized keratinocytes*. Proc Soc Exp Biol Med 1998; 217: 322-6.
40. Bartosz G. *Druga twarz tlenu*. Warszawa, Wydawnictwo Naukowe PWN, 1995.
41. Monks TJ, Hanzlik RP, Cohen GM, Ross D, Graham DG. *Quinone chemistry and toxicity*. Toxicol Appl Pharmacol 1992; 112: 2-16.
42. Brunmark A, Cadena E. *Redox and addition chemistry of quinoid compounds and its biological implications*. Free Radic Biol Med 1989; 7: 435-77.
43. Wyllie S, Liehr JG. *Release of iron from ferritin storage by redox cycling of stilbene and steroid estrogen metabolites: a mechanism of induction of free radical damage by estrogen*. Arch Biochem Biophys 1997; 346: 180-6.
44. Kodama M, Inoue F, Kaneko M, Oda T, Sato Y. *Formation of free radicals and active oxygen species from diethylstilbestrol and its derivatives*. Anticancer Res 1993; 13: 1209-13.
45. Nutter LM, Wu YY, Ngo EO, Sierra EE, Gutierrez PL, Abul HY. *An o-quinone form of estrogen produces free radicals in human breast cancer cells: correlation with DNA damage*. Chem Res Toxicol 1994; 7: 23-8.
46. Seacat AM, Kuppusamy P, Zweier JL, Yager JD. *ESR identification of free radicals formed from the oxidation of catechol estrogens by Cu²⁺*. Arch Biochem Biophys 1997; 347: 45-52.
47. Roy D, Liehr JG. *Target organ-specific inactivation of drug metabolizing enzymes in kidney of hamsters treated with estradiol*. Mol Cell Biochem 1992; 110: 31-9.
48. Wang MY, Liehr JG. *Identification of fatty acid hydroperoxide cofactors in the cytochrome P450-mediated oxidation of estrogens to quinone metabolites. Role and balance of lipid peroxides during estrogen-induced carcinogenesis*. J Biol Chem 1994; 269: 284-91.
49. Wang MY, Liehr JG. *Induction by estrogens of lipid peroxidation and lipid peroxide-derived malonaldehyde-DNA adducts in male Syrian hamsters: role of lipid peroxidation in estrogen-induced kidney carcinogenesis*. Carcinogenesis 1995; 16: 1941-5.
50. Han X, Liehr JG. *DNA single-strand breaks in kidneys of Syrian hamsters treated with steroid estrogens: hormone-induced free radical damage preceding renal malignancy*. Carcinogenesis 1994b; 15: 997-1000.
51. Ho SM, Roy D. *Sex hormone-induced nuclear DNA damage and lipid peroxidation in the dorso-lateral prostates of Noble rats*. Cancer Lett 1994; 84: 155-62.
52. Jones LA, Hajek RA. *Effects of estrogenic chemicals on development*. Environ Health Perspect 1995; 103 Suppl 7: 63-7.
53. Paquette B. *Enhancement of genomic instability by 17beta-estradiol in minisatellite sequences of X-ray-transformed mouse 10T1/2 cells*. Carcinogenesis 1996; 17: 1221-5.
54. Metzler M, Pfeiffer E. *Effects of estrogens on microtubule polymerization in vitro: correlation with estrogenicity*. Environ Health Perspect 1995; 103 Suppl 7: 21-2.
55. Endo S, Kodama S, Newbold R, McLachlan J, Barrett JC. *Cytogenetic analysis of murine cell lines from diethylstilbestrol-induced uterine endometrial adenocarcinomas*. Cancer Genet Cytogenet 1994; 74: 99-103.
56. Banerjee SK, Banerjee S, Li SA, Li JJ. *Induction of chromosome aberrations in Syrian hamster renal cortical cells by various estrogens*. Mutat Res 1994; 311: 191-7.
57. Korah RM, Humayun MZ. *Mutagenic and recombinagenic effects of diethylstilbestrol quinone*. Mutat Res 1993; 289: 205-14.
58. Rajah TT, Pento JT. *The mutagenic potential of antiestrogens at the HPRT locus in V79 cells*. Res Commun Mol Pathol Pharmacol 1995; 89: 85-92.
59. Hodgson AV, Ayala TS, Thompson EB, Liehr JG. *Estrogen-induced microsatellite DNA alterations are associated with Syrian hamster kidney tumorigenesis*. Carcinogenesis 1998; 19: 2169-72.
60. Boyd J, Takahashi H, Waggoner SE, Jones LA, Hajek RA, Wharton JT, Liu FS, Fujino T, Barrett JC, McLachlan JA. *Molecular genetic analysis of clear cell adenocarcinomas of the vagina and cervix associated and unassociated with diethylstilbestrol exposure in utero*. Cancer 1996; 77: 507-13.
61. De BV, Welsh JA, Yu MC, Bennett WP. *p53 mutations in hepatocellular carcinoma related to oral contraceptive use*. Carcinogenesis 1996; 17: 145-9.

ADRES DO KORESPONDENCJI

dr med. Marek Foksiński

Katedra i Zakład Biochemii Klinicznej

Akademia Medyczna w Bydgoszczy

ul. Karłowicza 24

85-092 Bydgoszcz

tel. (052) 585 37 51

fax (052) 585 37 71

e-mail: marekf@amb.bydgoszcz.pl