

# Encimi iz naddružine kratkoverižnih dehidrogenaz/reduktaz kot nove farmakološke tarče

## Enzymes of the short-chain dehydrogenase/reductase superfamily as new pharmacological targets

Mojca Brunskole, Tea Lanišnik Rižner, Jure Stojan

**Povzetek:** Encimi iz naddružine kratkoverižnih dehidrogenaz/reduktaz (SDR) predstavljajo zelo veliko proteinsko družino. Čeprav jih povezujejo številne strukturne podobnosti, je njihova substratna specifičnost različna. Udeleženi so v metabolizmu steroidnih hormonov, maščobnih kislin, alkoholov, retinoidov, prostaglandinov in ksenobiotikov. V človeškem genomu je identificiranih okrog 70 SDR. Vpleteni so v številne (pato)fiziološke procese, zato so zanimivi s stališča zdravljenja genetskih, hormonsko odvisnih in metaboličnih bolezni, kot so: galaktozemija, fenilketonurija, rak dojke, endometrija, prostate in debelega črevesa, dislipidemija, debelost in arterijska hipertenzija.

**Ključne besede:** kratkoverižne dehidrogenaze/reduktaze (SDR), človeške SDR, metabolične bolezni, hormonsko odvisne bolezni, SDR kot farmakološke tarče

**Abstract:** Short-chain dehydrogenases/reductases (SDR) constitute a large protein family. Although they have several structural features in common, they act on a highly diverse set of substrates. They are involved in metabolism of steroid hormones, fatty acids, alcohols, retinoids, prostaglandins and xenobiotics. Around 70 SDR members are identified within the human genome. In human body they participate in numerous distinct (patho)physiological processes, thus they are very interesting therapeutic targets for the treatment of genetic, hormone dependent and metabolic diseases like galactosemia, phenylketonuria, breast cancer, endometrium, prostate and colon cancer, dyslipidemia, obesity and arterial hypertension.

**Key words:** short-chain dehydrogenases/reductases (SDR), human SDR, metabolic diseases, hormone dependent diseases, SDR as pharmacological targets

### 1 Uvod

Encimi iz naddružine kratkoverižnih dehidrogenaz/reduktaz (SDR) so postali predmet intenzivnih raziskav predvsem v zadnjem desetletju. Z leti je bilo odkritih vedno več predstavnikov te naddružine – trenutno je poznanih preko 3000 encimov SDR, od tega je okrog 70 človeških (1). Kljub številnim skupnim strukturnim značilnostim imajo ti encimi v živih organizmih zelo raznoliko vlogo. Zaradi njihove vpletenosti v različne patofiziološke procese so zanimivi s terapevtskega stališča kot tarče za nove zdravilne učinkovine pri zdravljenju različnih bolezni. V članku predstavljamo strukturo in delovanje encimov SDR, podrobnejši opis človeških encimov SDR in njihovo vpletenost v bolezenske procese.

### 2 Predstavitev encimov SDR

Encimi SDR tvorijo veliko, po delovanju zelo raznoliko skupino proteinov, s trenutno znanimi preko 3000 primarnimi strukturami (1, 2).

Najdemo jih pri bakterijah, glivah, rastlinah, žuželkah in vretenčarjih (3). Naddružino SDR so vpeljali po odkritju razlik med alkohol-dehidrogenazami žuželk in vretenčarjev (4). Alkohol-dehidrogenaza vinske mušice se je razlikovala od tedaj znanih jetrni in glivnih alkohol-dehidrogenaz po vezavnem mestu za koencim NAD<sup>+</sup>, ki se je nahajalo na N-terminalnem delu. Novo odkritim alkohol-dehidrogenazam so določili drugačen mehanizem delovanja ter visoko ohranjeno YxxxK zaporedje, ki je vključevalo aminokislino aktivnega mesta. Čeprav je prvotno prevladovalo mnenje, da je SDR naddružina sestavljena le iz prokariontskih dehidrogenaz in alkohol-dehidrogenaz žuželk, se je zanimanje zanjo povečalo z odkritjem sesalske 15-hidroksiprostaglandin-dehidrogenaze in 17 $\beta$ -hidroksisteroid-dehidrogenaze, ki sta tipična predstavnika naddružine SDR (5).

Osnovna struktura večine encimov SDR je sestavljena iz 250 do 350 aminokislinskih preostankov, pogosto imajo tudi N- oz. C-terminalne transmembranske domene, pripete signalne peptide ali pa so del

multiencimskih kompleksov (2). Čeprav imajo encimi SDR le 15–30 % identičnih aminokislinskih preostankov, imajo vsi podobno tridimenzionalno zgradbo – enodomenski vzorec zvitja, kjer se izmenjuje 7 ali 8  $\alpha$ -vijačnic s 7 ali 8  $\beta$ -ploskvami ( $\alpha/\beta$ -vzorec zvitja, znan kot Rossmannovo zvitje) (5, 6). Večina encimov SDR je v dimerni ali tetramerni obliki (5). Znani so le trije encimi SDR, ki so aktivni v monomerni obliki: prašičja testikularna karbonil-reduktaza ter človeški karbonil-reduktazi 1 in 3 (7, 8).

Za encime SDR je značilno, da imajo številne visoko ohranjene segmente (preglednica 1). Primerjave aminokislinskih zaporedij, kemijske modifikacije, točkovno usmerjene mutacije in kristalografske analize so pokazale, da večina teh segmentov sodeluje pri vezavi koencimov ali pa so del katalitičnega mesta encimov SDR (9). Visoko ohranjeno zaporedje TGxxxGxG na N-terminalnem delu in NNAG motiv vzdržujeta strukturo središčne  $\beta$ -ploskve in predstavljata del vezavnega mesta za koencim. Olajšata pravilno postavitve in vezavo koencima, čeprav se z njim ne povežeta direktno. S koencimom pa se lahko povežejo nekateri drugi aminokislinski preostanki – Asp, Ala, Thr ter Pro ali Gly iz PG motiva (preglednica 1). V aktivnem mestu se nahajajo katalitični aminokislinski preostanki Ser, Tyr in Lys, pri čemer je v celotni naddružini SDR najbolj ohranjen Tyr (2). Novejši podatki kažejo, da je za katalitično aktivnost pomemben tudi visoko ohranjen Asn, ki tako s Ser, Tyr in Lys pri večini SDR tvori katalitično tetrado (2, 10). Raziskave so pokazale, da Ser stabilizira lego substrata, hidroksilna skupina Tyr pa deluje kot katalitična baza. Pri znižanju pKa hidroksilne skupine Tyr sodeluje Lys, ki se poveže z nikotinamidno ribozo kofaktorja. Vsi trije tako tvorijo sistem za prenos naboja pri kislino-bazični katalizi (2). Asn s povezavo z Lys preko vmesne molekule vode stabilizira lego Lys, dodatno pa omogoča tudi prenos protona med koencimom, substratom, Tyr, 2'-OH riboze, Lys, vodo in Asn v aktivnem mestu (10).

Podobno zvitje encimov SDR in ohranjeno YxxxK zaporedje kaže na to, da imajo ti encimi tudi podoben reakcijski mehanizem. Encimske reakcije sledijo zaporednemu bi-bi mehanizmu, kjer se v aktivno mesto najprej veže koencim, nato substrat. Sledi encimska reakcija, aktivno mesto potem najprej zapusti produkt in šele nato spremenjen koencim.

**Preglednica 1:** Motivi zaporedij pri encimih SDR (oštevilčenje položajev se nanaša na oštevilčenje aminokislinskih preostankov pri 3 $\beta$ /17 $\beta$ -HSD (PDB koda 1HXH)) (2)

**Table 1:** Sequence motifs found in SDR enzymes (positions refer to residue numbering as in 3 $\beta$ /17 $\beta$ -HSD (PDB code 1HXH)) (2)

MOTIV	POLOŽAJ	VLOGA
TGxxxGxG	12 – 19	območje vezave koencima; vzdrževanje središčne $\beta$ -ploskve
D	60	stabilizacija žepa, kamor se veže adeninski obroč; šibka vezava s koencimom
NNAG	86 – 89	stabilizacija središčne $\beta$ -ploskve
N	111	aktivno mesto
S-Y-K	138, 151, 155	aktivno mesto
N	179	povezava med zanko, ki pokrije aktivno mesto in aktivnim mestom
PG	183 – 184	povezava s koencimom
T	188	vodikova vez s karboksamidnim delom nikotinamidnega obroča

Sproščanje koencima iz aktivnega mesta pri tem predstavlja hitrost omejujočo stopnjo celotne encimsko katalizirane reakcije (9).

Koencimsko specifičnost encimov SDR določajo aminokislinski ostanki v  $\beta\alpha\beta$ motivu na začetku Rossmannovega zvitja (11). Pomemben je elektrostatski naboj aminokislinskega ostanka v neposredni bližini 2'-hidroksi (oz. fosfatne) skupine adenoinske riboze koencimov. Kristalografsko določene tridimenzionalne strukture klasičnih encimov SDR so pokazale, da je pri od NAD(H)-odvisnih encimih SDR na koncu druge  $\beta$ -ploskve kislinski ostanek, pri od NADP(H)-odvisnih pa bazični (11, 12). Od NAD(H)-odvisne encime glede na položaj kislinkega preostanka za drugo  $\beta$ -ploskvijo razdelimo na poddružine cD1d, cD1e, cD2 in cD3. Glede na položaj bazičnega preostanka pa od NADP(H)-odvisne encime razdelimo v cP1, cP2 ali cP3 poddružino (11).

Encime SDR naddružine lahko razvrstimo v več EC (Enzyme Commission) razredov: oksidoreduktaze (EC 1), liaze (EC 4) in izomeraze (EC 5), pri čemer je med njimi večina oksidoreduktaz (2). Vpleteni so v metabolizem steroidov, prostaglandinov, alifatskih alkoholov in ksenobiotikov. Izničenje genov in genetske variacije so pokazale, da imajo SDR pomembno vlogo tudi pri razvoju in homeostazi pri ljudeh, žuželkah in rastlinah (2, 13).

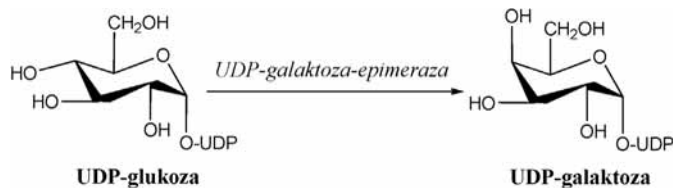
### 3 Encimi SDR pri ljudeh

Čeprav se v človeškem genomu nahaja okrog 70 genov, ki kodirajo za encime iz SDR naddružine, sta med njimi delno opisani le dve tretjini. Za nekatere je poznano izražanje v različnih tkivih in substratna specifičnost, vendar pa je večina človeških SDR slabo opisana – strukturne informacije na primer so na voljo za samo okrog 20 encimov (1). Glede na delovanje lahko človeške SDR razdelimo v tri glavne skupine:

- encimi intermediarnega metabolizma (kemijske reakcije pri presnavljanju molekul iz hrane v molekule celičnih in zunajceličnih struktur);
- encimi metabolizma hormonov, mediatorjev in ksenobiotikov;
- encimi z neznano vlogo, ki so bili identificirani kot odprti bralni okvirji (ORF) (14).

#### 3.1 Encimi intermediarnega metabolizma

Encimi intermediarnega metabolizma sodelujejo pri kemijskih reakcijah pretvorbe sladkorjev, sinteze aminokislilin,  $\beta$ -oksidacije maščobnih kislin, ketogeneze, idr. Med encime SDR iz te skupine uvrščamo: UDP-galaktoza-epimerazo, ki katalizira epimerizacijo UDP-glukoze (slika 1) in UDP-N-acetilglukozamina v UDP-galaktozo in UDP-N-acetilgalaktozamin; sepiapterin-reduktazo in dihidroksipteridin-



**Slika 1:** Epimerizacija UDP-glukoze v UDP-galaktozo z UDP-galaktoza-epimerazo

**Figure 1:** Epimerization of UDP-glucose to UDP-galactose by UDP-galactose epimerase

reduktazo, ki imata pomembno vlogo pri sintezi tetrahydrobiopterina; ter *R*-3-OH-butirat-dehidrogenazo, dienol-CoA-reduktazo ter *trans*-enoil-CoA-reduktazo, ki so vključene v  $\beta$ -oksidacijo maščobnih kislin in ketogenezo (14).

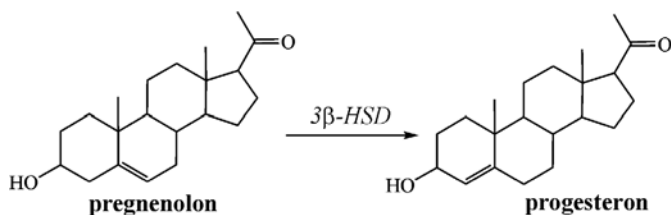
### 3.2 Encimi metabolizma hormonov, mediatorjev in ksenobiotikov

Encimi metabolizma hormonov, mediatorjev in ksenobiotikov predstavljajo največjo skupino človeških encimov SDR. Mednje so uvrščeni encimi s hidroksteroid-dehidrogenazo (HSD) in prostaglandin-dehidrogenazo aktivnostjo ter encimi, ki metabolizirajo retinoide:

- $3\beta$ -hidroksteroid-dehidrogenaze/  $\Delta^5$ - $\Delta^4$ -izomeraze;
- $11\beta$ -hidroksteroid-dehidrogenaze;
- $17\beta$ -hidroksteroid-dehidrogenaze;
- retinol/retinal-dehidrogenaze;
- karbonil-reduktaze/PGDH (14).

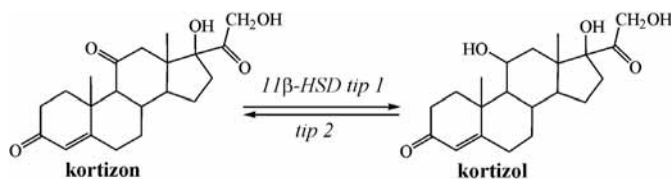
$3\beta$ -hidroksteroid-dehidrogenazi/  $\Delta^5$ - $\Delta^4$ -izomerazi ( $3\beta$ -HSD) izoencimi so odgovorni za oksidacijo in izomerizacijo  $\Delta^5$ - $3\beta$ -hidroksteroidnih prekurzorjev v  $\Delta^4$ -ketosteroide (slika 2) – katalizirajo torej nujno potreben korak sinteze vseh vrst steroidnih hormonov (glukokortikoidov, mineralokortikoidov, progesterona, estrogenov in androgenov). Pri človeku sta znani dve izoobliki  $3\beta$ -HSD: tip I, ki se nahaja v placenti in perifernih tkivih ter tip II, ki se v glavnem izraža v nadledvični žlezi, jajčnikih in testisih. V obeh primerih gre za bifunkcionalna encima, torej encima s  $3\beta$ -HSD in  $\Delta^5$ - $\Delta^4$  izomerazno aktivnostjo, pri čemer sta obe stopnji reakcije povezani s koencimom –  $NAD^+$  se s  $3\beta$ -HSD aktivnostjo reducira v  $NADH$ , le-ta pa potem aktivira izomerazno aktivnost istega encima (15).

$11\beta$ -hidroksteroid-dehidrogenazi ( $11\beta$ -HSD) tipa 1 in 2 uravnava delovanje glukokortikoidnega hormona kortizola (slika 3) – uravnava pretvorbo med ligandom, ki se veže na receptor, kortizolom in njegovim



Slika 2: Pretvorba pregnenolona v progesteron s  $3\beta$ -HSD

Figure 2: Conversion of progesterone to progesterone by  $3\beta$ -HSD



Slika 3: Pretvorba med kortizonom in kortizolom z  $11\beta$ -HSD tipoma 1 in 2

Figure 3: Interconversion between cortisone and cortisol by  $11\beta$ -HSD type 1 and 2

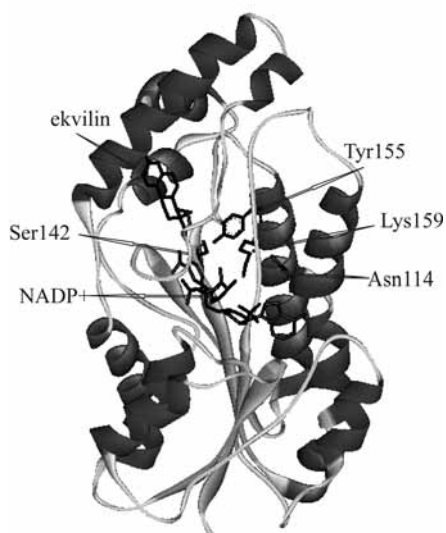
prekurzorjem kortizonom, ki se na receptor veže z manjšo afiniteto.  $11\beta$ -HSD1 reducira neaktivne glukokortikoide v aktivne in s tem omogoča njihovo vezavo na receptorje,  $11\beta$ -HSD2 pa deluje kot dehidrogenaza in tako zaščiti intrinzično neselektivne periferne mineralokortikoidne receptorje v ledvicah pred aktivacijo s kortizolom, namesto z aldosteronom (1).

$17\beta$ -hidroksteroid-dehidrogenaze ( $17\beta$ -HSD) so encimi, vključeni v zadnjo stopnjo biosinteze androgenov in estrogenov in katalizirajo oksidoredukcijske reakcije hidroksi oz. keto skupine na mestu 17 steroida (16). Pretvarjajo visoko aktivne 17-hidroksistereide v nizko oz. neaktivne 17-ketosteroide in obratno. Danes je poznanih že 14 tipov  $17\beta$ -HSD, vendar je med njimi le 11 takšnih, ki jih uvrščamo v naddružino SDR in jih najdemo tudi pri človeku: tip 1, 2, 3, 4, 7, 8, 10, 11, 12, 13, 14. Med seboj se razlikujejo po koencimski in substratni specifičnosti, znotrajcelični lokalizaciji in tkivno specifičnem izražanju (1).

$17\beta$ -HSD tip 1, 2 in 3 so ključni encimi pri homeostazi steroidnih hormonov (16).  $17\beta$ -HSD tip 1 (slika 4) je dimerni encim, ki katalizira redukcijo estrona v estradiol (1). V glavnem je izražen v jajčnikih, dojkah in placenti (1). Tudi  $17\beta$ -HSD tip 2 je vključen v metabolizem estrogenov, vendar je njegovo delovanje ravno obratno delovanju tipa 1 – katalizira oksidacijo estradiola v estron (testosterona v androstendion, ...) in s tem zmanjša izpostavljenost tkiv pred delovanjem estrogenov. Izražen je v številnih tkivih: dojkah, maternici, prostati, jetrih, ledvicah in različnih epitelijskih celicah (17).  $17\beta$ -HSD tip 3 je ključni encim sinteze testosterona – izražen je predvsem v testisih in katalizira redukcijo androstendiona v testosteron (slika 5) (16).

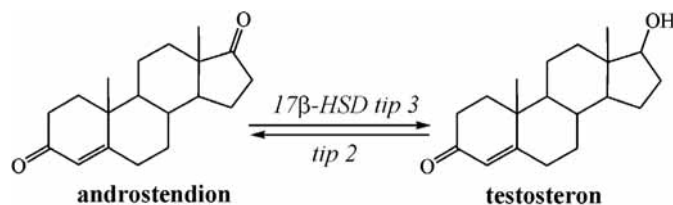
Ostali tipi  $17\beta$ -HSD imajo širšo substratno specifičnost.  $17\beta$ -HSD tip 4 je vpleten v metabolizem steroidov in  $\beta$ -oksidacijo maščobnih kislin: oksidira estradiol v estron, dolgoveržne in razvejane maščobne kisline, sodeluje pri sintezi žolčnih kislin. Encim je prisoten v številnih tkivih, vendar pa je v največji meri izražen v jetrih (16).  $17\beta$ -HSD tip 7 katalizira pretvorbo estrona v estradiol v rumenem telescu (močno je izražen v drugi polovici nosečnosti), ima pa tudi 3-keto reduktazno aktivnost, ki inaktivira dihidrotestosteron – katalizira torej aktivacijo estrogenov in inaktivacijo androgenov. Našli so ga v placenti, jajčnikih, dojkah, testisih, prostati in jetrih (18). Vloga  $17\beta$ -HSD tip 8 v človeškem telesu še ni popolnoma jasna. Nahaja se v jetrih, ledvicah, jajčnikih in testisih ter nekaterih drugih tkivih (16). Katalizira inaktivacijo estradiola, testosterona in dihidrotestosterona, domnevajo, da je vpleten tudi v metabolizem maščobnih kislin (18).  $17\beta$ -HSD tip 10 je homotetramerni mitohondrijski encim s široko substratno specifičnostjo: katalizira pretvorbo estradiola in dihidrotestosterona, ima  $3\alpha$ -HSD aktivnost, oksidira lahko  $20\beta$ - in  $21$ -hidroksilni skupini, katalizira metabolizem izolevcina ter oksidacijo razvejanih in nerazvejanih maščobnih kislin, sodeluje pa tudi pri metabolizmu žolčnih kislin (16, 19). V možganih naj bi bil odgovoren za metabolizem nevrosteroidov – katalizira oksidacijo alopregnanolona in alotetrahydrodeoksikortikosterona, ki sta pozitivna alosterična modulatorja  $GABA_A$  receptorja. Izražen je v prostati, jetrih, možganih in srcu (19).

$17\beta$ -HSD tipi od 11 do 14 so bili odkriti v zadnjih nekaj letih.  $17\beta$ -HSD tip 11 oksidira estrogene in androgene – najboljši substrat je  $5\alpha$ -androstan- $3\beta,17\beta$ -diol (16). Našli so ga v steroidogenih tkivih, trebušni slinavki, ledvicah, jetrih, pljučih, nadledvični žlezi in srcu (20).  $17\beta$ -HSD tip 12 selektivno katalizira pretvorbo estrona v estradiol in je visoko



**Slika 4:** Tridimenzionalna struktura 17β-HSD tip 1 s koencimom in ekvilinom (učinkovina, ki se uporablja pri estrogenski nadomestitveni terapiji) v aktivnem mestu (pdb koda 1EQU). Prikazane so tudi aminokisljine katalitične tetrade: Asn114, Ser142, Tyr155 in Lys159.

**Figure 4:** Three-dimensional structure of 17β-HSD type 1 complexed with coenzyme and equilin (used in estrogen replacement therapy) (pdb code 1EQU). Amino acids of the catalytic tetrad are also shown: Asn114, Ser142, Tyr155 and Lys159.

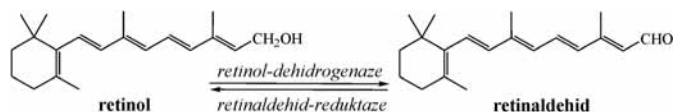


**Slika 5:** Pretvorba med androstendionom in testosteronom s 17β-HSD tipoma 3 in 2

**Figure 5:** Interconversion between androstenedione and testosterone by 17β-HSD type 3 and 2

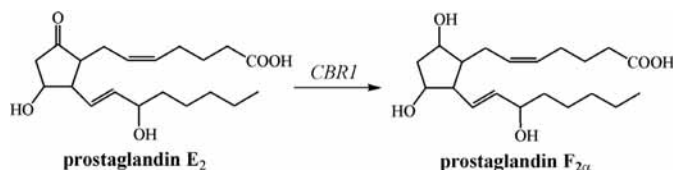
izražen v jajčnikih in dojkah. 17β-HSD tip 12 je s svojo ketoacil-koencim A (CoA) reduktazno aktivnostjo vključen tudi v podaljševanje maščobnih kislin (21). 17β-HSD tip 13 je specifično izražen v jetrih in je z lipidnimi kapljicami povezan protein. Njegovo N-terminalno zaporedje služi kot signal za usmerjanje v endoplazmatski retikulum in lipidne kapljice (22). 17β-HSD tip 14 oksidira in s tem inaktivira steroide (estradiol) v jetrih, možganih in placenti (23).

Številni encimi SDR so vključeni tudi v metabolizem retinoidov. Glede na koencimsko in substratno specifičnost jih razdelimo v dve poddružini: retinol-dehidrogenazam podobni SDR (RoDH-podobni SDR) in retinaldehid-reduktazi 1 podobni SDR (RalR1-podobni SDR). So od NAD<sup>+</sup> in NADP<sup>+</sup>-odvisne retinoid-oksidoreduktaze, pri čemer od NAD<sup>+</sup>-odvisni encimi katalizirajo oksidacijo retinola do retinaldehida, od NADP<sup>+</sup>-odvisni encimi pa katalizirajo redukcijo retinaldehida nazaj



**Slika 6:** Pretvorba med retinolom in retinaldehidom z retinol-dehidrogenazami in retinaldehid-reduktazami

**Figure 6:** Interconversion between retinol and retinaldehyde by retinol dehydrogenases and retinaldehyde reductases



**Slika 7:** Redukcija prostaglandina E2 s CBR1

**Figure 7:** Reduction of prostaglandin E2 by CBR1

v retinol (slika 6). Med človeške RoDH-podobne SDR uvrščamo 11-*cis*-retinol-dehidrogenazo, RoDH-4 in RoDH-podobno 3α-HSD – vsi imajo 3α-hidroksisteroid-dehidrogenazno in retinol-dehidrogenazno aktivnost. Retinaldehid-reduktazo 1 (RalR1) ali retinol-dehidrogenazo 11 (RDH11) ter RDH12, RDH13 in RDH14 pa uvrščamo med RalR1-podobne SDR. Obe poddružini encimov sta izraženi v jetrih, prostati, možganih, testisih, srcu in številnih drugih tkivih (24).

Karbonil-reduktaze (CBR), ki jih uvrščamo med SDR, so monomerni citosolni encimi z oksidoreduktazno aktivnostjo. Mednje uvrščamo človeške CBR1, CBR3, CBR4 in 15-hidroksi-prostaglandin-dehidrogenazo. CBR1 je zastopana v številnih tkivih (jetra, epidermis, možgani, tanko črevo, centralni živčni sistem ...) in reducira (slika 7) številne biološko in farmakološko aktivne karbonilne spojine – kinone, ketoaldehide, aromatske aldehide in biogene aldehide, ima pa tudi od NADP<sup>+</sup>-odvisno 9-keto-prostaglandin-reduktazno in 15-hidroksi-prostaglandin-dehidrogenazno aktivnost (25). O fiziološki vlogi človeških CBR3 in CBR4 ni podatkov. CBR3 je izražen v jajčnikih, trebušni slinavki in črevesju, CBR4 pa v želodcu, hipofizi in maternici (25, 26). Od NAD<sup>+</sup>-odvisna 15-hidroksi-prostaglandin-dehidrogenaza inaktivira prostaglandine in je izražena v številnih organih pri sesalcih (25).

### 3.3 SDR identificirani kot odprti bralni okvirji (ORF)

Vloga nekaterih SDR, ki so bili identificirani kot odprti bralni okvirji, ni pojasnjena, medtem ko naj bi bili drugi povezani z malignimi obolenji – hepatokarcinogenezo, folikularnim limfomom, rakom dojke, idr. (14). V teku so različne molekularne in biokemijske raziskave, ki poskušajo opredeliti vlogo SDR iz te skupine pri boleznih pri človeku.

## 4 SDR kot farmakološke tarče

Ker imajo SDR zelo pomembno fiziološko vlogo v človeškem organizmu, so zanimivi tudi kot farmakološke tarče. Za nekatere med njimi je bilo dokazano, da so povezani z genetskimi in metaboličnimi motnjami. Raziskave in razvoj inhibitorjev številnih hidroksisteroid-



**Preglednica 2:** Človeške SDR in bolezni s katerimi so lahko povezane (HSD – hidroksteroid-dehidrogenaza; RDH – retinol-dehidrogenaza; CBR – karbonil-reduktaza)

**Table 2:** Human SDR forms and associated diseases (HSD – hydroxysteroid-dehydrogenase; RDH – retinol dehydrogenase; CBR – carbonyl reductase)

ENCIM	BOLEZEN
<b>ENCIMI INTERMEDIARNEGA METABOLIZMA</b>	
UDP-galaktoza-epimeraza	galaktozemija tip III
dihidropteridin-reduktaza	fenilketonurija tip II
<b>ENCIMI METABOLIZMA HORMONOV, MEDIATORJEV IN KSENOBIOTIKOV</b>	
3β-HSD tip 1	kongenitalna adrenalna hiperplazija
11β-HSD tip 1	odpornost na inzulin, dislipidemija, debelost, arterijska hipertenzija
17β-HSD tip 1	rak dojk, jajčnikov in endometrija, endometrioza
17β-HSD tip 2	rak dojk, endometrija, črevesja in prostate, endometrioza
17β-HSD tip 3	psevdohermafroditizem
17β-HSD tip 4	rak endometrija, endometrioza, Zellwegerjev sindrom
17β-HSD tip 7	rak endometrija, endometrioza
17β-HSD tip 8	policistične ledvice
17β-HSD tip 10	duševna zaostalost, nevrodegeneracija, Alzheimerjeva bolezen
11- <i>cis</i> -RDH	zakasnjena adaptacija na svetlobo, <i>fundus albipunctatus</i>
RDH12	avtosomalna recesivna retinalna distrofija
CBR1	metastaziranje rakavih celic, rast tumorjev, angiogeneza

dehidrogenaz in drugih encimov iz SDR naddružine so v teku in predstavljajo zelo obetavno področje za nove farmakološke pristope.

Variante alelov gena za UDP-galaktoza-epimerazo so vzrok za pomanjkanje UDP-galaktoze in s tem za galaktozemijo tipa III (preglednica 2), variante alelov dihidropteridin-reduktaznega gena pa lahko povzročijo fenilketonurijo tipa II – znano je, da je biopterin pomemben kofaktor pri hidrosilaciji tirozina (14). Pomanjkanje 3β-HSD tip 1 je vzrok za nastanek redke oblike kongenitalne adrenalne hiperplazije, ki vodi do različnih stopenj izgubljanja soli pri ljudeh obeh spolov ter nepopolnega razvoja genitalij pri novorojenčkih (15). 11β-HSD tip 1 je povezana z nastankom metaboličnega sindroma (odpornost na inzulin, dislipidemija, debelost in arterijska hipertenzija), zato je razvoj inhibitorjev tkivno specifične aktivacije glukokortikoidov zanimiv s stališča zdravljenja metaboličnih in kardiovaskularnih bolezni (27). 11β-HSD tip 1 je induciran ob vnetju, zato lahko pride pri motnjah v njegovem delovanju do nepopolnega protivnetnega odziva (28).

Tudi 17β-HSD so zanimive tarče za razvoj novih zdravilnih učinkovin, saj so udeležene v številnih fizioloških in patofizioloških procesih. Primarna vloga 17β-HSD tip 1 in 2 je uravnavanje delovanja estrogenov v človeškem tkivu. Čeprav sta v tkivu dojk izraženi obe izoobliki, v zdravem tkivu prevladuje oksidativna aktivnost (torej tip 2), medtem ko v malignem tkivu prevladuje tip 1 – inhibitorji 17β-HSD tipa 1 so zato zanimivi s stališča zdravljenja od estrogenov odvisnih vrst raka dojke (17). Za reduktivne 17β-HSD (tip 1, 3, 7), ki aktivirajo steroidne hormone, je značilno, da so lahko vpletene v razvoj hormonsko odvisnih oblik raka (npr. rak dojke, jajčnikov in prostate) (1, 17). Zmanjšano izražanje 17β-HSD tip 2 pa lahko vodi do raka na črevesju, prostati in dojkah (29). Številni 17β-HSD izoencimi so povezani tudi z rakom endometrija in endometrioza – predvsem gre za zmanjšano izražanje tipov 2 in 4 ter povečano izražanje tipov 1 in 7 (30, 31). Mutacije gena za 17β-HSD tip 3 preprečijo pretvorbo androstendiona v testosteron, kar lahko povzroči psevdohermafroditizem pri moških

(18). Neaktivnost 17β-HSD tip 4 vodi do nastanka Zellwegerjevega sindroma – oboleli običajno umrejo v prvem letu življenja (16). Nizko izražanje gena za 17β-HSD tip 8 naj bi bilo povezano z nastankom policističnih ledvic (14). Mutacije gena za 17β-HSD tip 10 povezujejo s številnimi kliničnimi stanji – od blage duševne zaostalosti do progresivne nevrodegeneracije pri otrocih. Encim je zanimiv s stališča zdravljenja Alzheimerjeve bolezni, saj ima veliko afiniteto do β-amiloidnih peptidov in bi bil lahko povezan z mitohondrijsko disfunkcijo pri Alzheimerjevi bolezni. Ugotovili so, da številne maligne epitelne celice prostate vsebujejo visoke koncentracije tega izoencima, zato bi lahko imeli njegovi inhibitorji tudi protirakavo delovanje. Zaradi vloge 17β-HSD tip 10 pri oksidaciji pozitivnih alosteričnih modulatorjev GABA<sub>A</sub> receptorja je pospešena vazava GABA na receptor, kar ima za posledico antikonvulzivni in anksiolitični učinek (19).

Da imajo SDR pomembno fiziološko vlogo v metabolizmu retinoidov dokazujejo mutacije človeškega gena, ki kodira za 11-*cis*-RoDH, saj so le-te povezane z zakasnjeno adaptacijo na temo in *fundus albipunctatusom*. Mutacije gena, ki kodira za RDH12, naj bi bile povezane z resno avtosomalno recesivno retinalno distrofijo (24). Človeška CBR1 ima zaradi zniževanja koncentracije PGE<sub>2</sub> pomembno vlogo tudi pri preprečevanju metastaziranja rakavih celic, rasti tumorjev in njihovi angiogenezi (32, 33).

## 5 Sklep

Čeprav številni encimi SDR še niso popolnoma opisani, o njihovem pomenu v človeškem telesu priča njihova številčna zastopanost ter raznolika fiziološka vloga. Zaradi vpletenosti v različne patofiziološke procese so predvsem v zadnjem desetletju predmet številnih raziskav. Zanimivi so s stališča novih terapevtskih pristopov k zdravljenju različnih genetskih, hormonsko odvisnih, metaboličnih ter drugih bolezni. Zaradi velike strukturne sorodnosti encimov SDR in njihove

zastopanosti v različnih tkivih predstavlja raziskovalcem še poseben izziv odkritje učinkovin s selektivnim in tkivno specifičnim delovanjem.

## 6 Literatura

1. Wu X, Lukacik P, Kavanagh KV, Oppermann U. SDR-type human hydroxysteroid dehydrogenases involved in steroid hormone activation. *Mol Cell Endocrinol* 2007, 265-266: 71-76.
2. Opperman U, Filling C, Hult M et al. Short-chain dehydrogenases/reductases (SDR): the 2002 update. *Chem Biol Interact* 2003, 143-144: 247-253.
3. Keller B, Volkman A, Wilckens T et al. Bioinformatic identification and characterisation of new members of short-chain dehydrogenase/reductase superfamily. *Mol Cell Endocrinol* 2006, 248: 56-60.
4. Jörnvall H, Persson M, Jeffery J. Alcohol and polyol dehydrogenases are both divided into two protein types, and structural properties cross-relate the different enzyme activities within each type. *Proc Natl Acad Sci USA* 1981, 78 (7): 4226-4230.
5. Jörnvall H, Persson B, Krook M et al. Short-chain dehydrogenases/reductases (SDR). *Am Chem Soc* 1995, 34 (18): 6003-6013.
6. Rossmann MG, Liljas A, Bränden C-I, Banaszak LJ. In: Boyer PD. *The Enzymes*, 3rd Edition, Academic Press, New York, 1975, 11: 61-102.
7. Ghosh D, Sawicki M, Pletnev V et al. Porcine carbonyl reductase. *J Biol Chem* 2001, 276: 18457-18463.
8. Miura T, Nishinaka T, Terada T. Different functions between human monomeric carbonyl reductase 3 and carbonyl reductase 1. *Mol Cell Biochem* 2008, 315(1-2): 113-121.
9. Oppermann U, Persson B, Filling C, Jörnvall H. Structure-function relationship of SDR hydroxysteroid dehydrogenases. In: Weiner et al. *Enzymology and Molecular Biology of Carbonyl Metabolism 6*, Plenum Press, New York, 1996: 403-415.
10. Filling C, Berndt KD, Benach J et al. Critical residues for structure and catalysis in short-chain dehydrogenases/reductases. *J Biol Chem* 2002, 277 (28): 25677-25684.
11. Persson B, Kallberg Y, Oppermann U, Jörnvall H. Coenzyme-based functional assignments of short-chain dehydrogenases/reductases (SDRs). *Chem Biol Interact* 2003, 143-144: 271-278.
12. Tanaka N, Nonaka N, Nakanishi M. Crystal structure of the ternary complex of mouse lung carbonyl reductase at 1.8 Å resolution: the structural origin of coenzyme specificity in the short-chain dehydrogenase/reductase family. *Structure* 1996, 4 (1): 33-45.
13. Kallberg Y, Oppermann U, Jörnvall H, Persson B. Short-chain dehydrogenase/reductase (SDR) relationships: A large family with eight clusters common to human, animal and plant genomes. *Prot Sci* 2002, 11: 636-641.
14. Oppermann U, Filling C, Jörnvall H. Form and functions of human SDR enzymes. *Chem Biol Interact* 2001, 130-132: 699-705.
15. Simard J, Ricketts ML, Gingras S et al. Molecular biology of the 3 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase/ <sup>$\Delta^5$ , $\Delta^4$</sup>  isomerase gene family. *Endocrin Rev* 2005, 26 (4): 525-582.
16. Moeller G, Adamski J. Multifunctionality of human 17 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenases. *Mol Cell Endocrinol* 2006, 248: 47-55.
17. Viiko P, Isomaa V, Ghosh D. Structure and function of 17 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 and type 2. *Mol Cell Endocrinol* 2001, 171: 71-76.
18. Luu-The V. Analysis and characteristics of multiple types of human 17 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2001, 76: 143-151.
19. Yang SY, He XY, Schulz H. Multiple functions of type 10 17 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase. *Trends Endocrinol Metab* 2005, 16 (4): 167-175.
20. Chai Z, Brereton P, Suzuki T et al. 17 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase type XI localizes to human steroidogenic cells. *Endocrinology* 2003, 144 (5): 2084-2091.
21. Luu-The V, Tremblay P, Labrie F. Characterisation of type 12 17 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase, an isoform of type 3 17 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase responsible for estradiol formation in women. *Mol Endocrinol* 2006, 20 (2): 437-443.
22. Horiguchi Y, Araki M, Motojima K. 17 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase type 13 is a liver-specific lipid droplet-associated protein. *Biochem Biophys Res Commun* 2008, 370 (2): 235-238.
23. Lukacik P, Keller B, Bunkoczi G et al. Structural and biochemical characterisation of human orphan DHRS10 reveals a novel cytosolic enzyme with steroid dehydrogenase activity. *Biochem J* 2007, 402: 419-427.
24. Kedishvili, NY. Retinoid-active short-chain dehydrogenases/reductases. In: Weiner H, Maser E, Lindahl R, Plapp B. *Enzymology and molecular biology of carbonyl metabolism – 13; Carbonyl reductases*. Purdue University Press, 2007: 217-223.
25. Maser E, Hoffmann F. Multifunctional carbonyl reductases of the short-chain dehydrogenase/reductase (SDR) superfamily in mammalian species. In: Weiner H, Maser E, Lindahl R, Plapp B. *Enzymology and molecular biology of carbonyl metabolism – 13; Carbonyl reductases*. Purdue University Press, 2007: 169-183.
26. Meier M, Haller F, Spielhauer C, Adamski J. Characterisation of human carbonyl reductase CBR4. In: Workshop on pre-receptor steroid metabolism as target for pharmacological treatment. Abstract book, Eibsee Hotel, Germany, May 26-28, 2008.
27. Opperman U. Type 1 11 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase as universal drug target in metabolic disease? *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets* 2006, 6 (3): 259-269.
28. Chapman KE, Secki JR. 11 $\beta$ -HSD1, inflammation, metabolic disease and age-related cognitive (dys)function. *Neurochem Res* 2008, 33 (4): 624-636.
29. Viiko P, Härkönen P, Soronen P et al. 17 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenases – their role in pathophysiology. *Mol Cell Endocrinol* 2004, 215: 83-88.
30. Dassen H, Punyadeera C, Kamps R et al. Estrogen metabolizing enzymes in endometrium and endometriosis. *Hum Reprod* 2007, 22 (12): 3148-3158.
31. Šmuc T, Pucelj MR, Šinkovec J et al. Expression analysis of the genes involved in estradiol and progesterone action in human ovarian endometriosis. *Gynecol Endocrinol* 2007, 23 (2): 105-111.
32. Ismail E, Al-Mulla F, Tsuchida S et al. Carbonyl reductase: a novel metastasis-modulating function. *Cancer Res*. 2000, 60 (5): 1173-1176.
33. Takenaka K, Ogawa E, Oyanagi H et al. Carbonyl reductase expression and its clinical significance in non-small-cell lung cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005, 14 (8): 1972-1975.