

Nederlandse Samenvatting

1 Inleiding

1.1 Oestrogenen en borstkanker

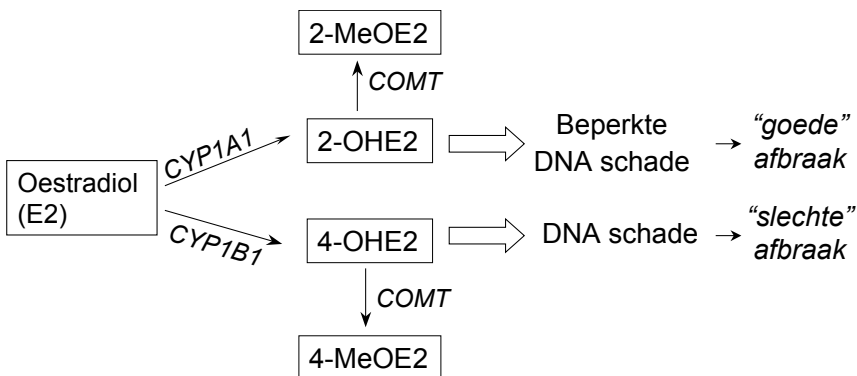
Over de afgelopen jaren is er een toename te zien in het aantal gevallen van borstkanker in de westerse wereld. Tegenwoordig krijgt gemiddeld 1 op de 8 vrouwen borstkanker. In Nederland komt dit neer op ongeveer 10 000 vrouwen per jaar, van wie er ongeveer 3 500 sterven aan de gevolgen ervan. Er zijn verschillende genetische risicofactoren bekend, zoals het borstkankergenen BRCA, maar in het overgrote deel van de borstkanker gevallen is de oorzaak niet zo duidelijk aan te wijzen. Er is wel een aantal factoren die het risico op borstkanker kunnen vergroten. Dit zijn bijvoorbeeld op jonge leeftijd de eerste menstruatie krijgen, op late leeftijd in de menopauze komen, geen kinderen krijgen of op late leeftijd een eerste kind krijgen, al eerder borstkanker hebben gehad en ook verschillende levensstijlfactoren kunnen een rol spelen. Al deze factoren hebben invloed op de hoeveelheid oestrogenen waar een vrouw gedurende haar leven aan wordt blootgesteld. Oestrogenen, de vrouwelijke hormonen, spelen een belangrijke rol tijdens maandelijks voorbereiding van het lichaam op een mogelijke zwangerschap, tijdens een zwangerschap, en bij de ontwikkeling van de vrouwelijke secundaire geslachtskenmerken (borstontwikkeling, verdere ontwikkeling van baarmoeder en vagina, verbreding van het bekken, groei van schaamhaar, toename van vetweefsel). Ze spelen ook een rol bij onder andere beperking van calcium verlies uit de botten en stimulatie van bloedstolling. Er zijn drie oestrogenen: oeston, oestriol en oestradiol. Oestradiol is het voornaamste oestrogeen in niet-zwangere, premenopausale vrouwen.

Oestrogenen kunnen borstkanker veroorzaken. Al in 1896 ontdekte de Schotse chirurg George Beatson (1848 – 1933) dat het verwijderen van de eierstokken bij een vrouw met borstkanker er voor zorgde dat de tumor kleiner werd. Pas veel later werd wat meer duidelijk over de rol van oestrogenen in het ontstaan van borstkanker. Er zijn waarschijnlijk twee manieren waarop ze dat doen. Ten eerste stimuleren oestrogenen borstweefsel te delen. Hoe sneller borstweefsel gaat delen, hoe groter de kans wordt dat daarbij fouten gemaakt worden bij het kopiëren van het DNA. Als die fouten in het DNA zich opstapelen en niet meer gerepareerd kunnen worden, kan een cel zich gaan ontwikkelen tot tumorcel en uiteindelijk tot een tumor. Een andere manier waarop oestrogenen borstkanker kunnen veroorzaken is via de afbraakproducten. Naar deze laatste manier heb ik onderzoek gedaan.

1.2 Oestrogeenafbraak en de rol in het ontstaan van borstkanker

Oestrogeenconcentraties worden goed gecontroleerd en gereguleerd in het lichaam. Oestrogenen worden gemaakt van cholesterol. In premenopausale vrouwen worden oestrogenen voornamelijk gemaakt in de eierstokken en een beetje in andere weefsels, zoals het borstweefsel en vetweefsel. Na de menopauze vindt de voornaamste oestrogeenproductie niet meer plaats in de eierstokken, maar juist in die andere weefsels. Oestrogenen worden gemaakt, maar ook afgebroken in organen waar ze hun werk moeten doen. Afbraak van oestrogenen gebeurt in twee stappen. Eerst wordt oestradiol door de enzymen cytochroom P450 1A1 (CYP1A1) en cytochroom P450 1B1 (CYP1B1) omgezet in respectievelijk 2-hydroxyoestradiol (2-OHE2) en 4-hydroxyoestradiol (4-OHE2) (Figuur A). Daarna worden 2-OHE2 en 4-OHE2 gemethyleerd door catechol-O-methyltransferase (COMT) en kunnen ze worden uitgescheiden via de urine.

Als 2-OHE2 en 4-OHE2 niet allemaal door COMT worden omgezet, bijvoorbeeld omdat de concentraties te hoog zijn zodat COMT het niet aankan, kunnen ze verder omgezet worden in reactieve stoffen, zgn. quinonen. Deze quinonen kunnen binden aan bijvoorbeeld DNA. Quinonen van 2-OHE2 zijn niet zo schadelijk. Ze blijven gebonden aan het DNA totdat ze worden opgeruimd door de cel. Maar quinonen van 4-OHE2 kunnen na binding het DNA stuk maken. Zo ontstaat er een gat in het DNA wat niet door de cel gerepareerd kan worden en bestaat de kans dat de cel zich gaat ontwikkelen tot een tumorcel. Dit betekent dus dat de manier waarop oestrogenen worden afgebroken de kans bepaalt op (borst)tumorvorming.



Figuur A Schematisch overzicht van oestradiol afbraak in borstweefsel. 2-OHE2, 2-hydroxyoestradiol; 2-MeOE2, 2-methoxyoestradiol; 4-OHE2, 4-hydroxyoestradiol; 4-MeOE2, 4-methoxyoestradiol; CYP1A1, cytochroom P450 1A1; CYP1B1, cytochroom P450 1B1; COMT, catechol-O-methyltransferase (voor structuren zie Figuur 1.1 in hoofdstuk 1, General Introduction).

In borstweefsel worden oestrogenen voornamelijk omgezet door de enzymen CYP1A1, CYP1B1 en COMT. Als de activiteit van deze enzymen verandert, verandert ook de hoeveelheid en verhouding van de oestrogeenafbraakproducten. Lichaamsvreemde stoffen, zoals dioxinen maar ook stoffen uit planten, kunnen enzymactiviteiten veranderen als ze door het lichaam worden opgenomen. Ze doen dit bijvoorbeeld door een cel aan te zetten meer enzymen te maken of door op het enzym gaan zitten waardoor het niet meer kan werken. Er zijn ook genetische variaties (polymorfismen) bekend in enzymen die zorgen voor verschillende enzymactiviteiten in verschillende mensen.

2 Het gebruik van biomarkers bij risicoschattingen

Bij het maken van een risicoschatting wordt een inschatting gemaakt van de kans dat een bepaalde ziekte kan optreden als gevolg van blootstelling aan omgevingsfactoren. Deze omgevingsfactoren kunnen lichaamsvreemde stoffen zijn zoals milieuvreemde stoffen en natuurlijke (planten)stoffen, maar ook lichaamseigen stoffen, zoals oestrogenen.

Als je een risicoschatting maakt, is het handig om biomarkers te hebben. Een biomarker is een parameter (bijvoorbeeld een afbraakproduct of een enzymactiviteit) die je meet in het lichaam aan de hand waarvan je een voorspelling kan doen over de kans dat een ziekte optreedt. Er zijn drie soorten biomarkers. Biomarkers die een effect voorspellen, biomarkers die de gevoeligheid voorspellen en biomarkers die een maat geven van de blootstelling aan lichaamsvreemde stoffen. In dit proefschrift zijn deze drie biomarkers onderzocht en beschreven.

2.1 Biomarkers van effect

Effect biomarkers geven de mate van een biologische reactie weer na blootstelling aan omgevingsfactoren. Een voorbeeld van een effect biomarker is de verhouding tussen 4-OHE2 ("slechte" afbraakproducten) en 2-OHE2 ("goede" afbraakproducten) in borstweefsel. Uit enkele studies blijkt deze verhouding in borsttumoren 3 te zijn en in gezond weefsel 1. Sommige onderzoekers stellen daarom dat de verhouding 4-OHE2:2-OHE2 de aanwezigheid van een borsttumor aangeeft. Maar het is nog maar de vraag of de verhouding ook kan voorspellen wat de kans is om borstkanker te krijgen.

De enzymen die voor de vorming van 4-OHE2 en 2-OHE2 zorgen (CYP1B1 en CYP1A1) kunnen beïnvloed worden door dioxinen en dioxine-achtige stoffen (zie Box A). Borstweefselcellen die zijn blootgesteld aan dioxinen en dioxine-achtige stoffen, gaan meer CYP1A1 en CYP1B1 enzymen maken, al is het effect veel groter op CYP1A1. Dit

gebeurt zowel in normale borstweefselcellen als in borsttumorcellen. Als gevolg vindt er meer afbraak van oestrogenen plaats (er zijn immers meer enzymen) en verandert de verhouding 4-OHE2:2-OHE2 (er is immers veel meer CYP1A1 dan CYP1B1).

Wat precies schadelijker is, meer afbraakproducten of een andere verhouding van afbraakproducten, is moeilijk te zeggen. Blootstelling van borstweefselcellen aan 4-OHE2 en 2-OHE2 is op zich niet schadelijk, omdat ze normaal snel door COMT worden omgezet, zodat ze geen schade kunnen aanrichten. Pas als COMT geremd wordt, ontstaan er problemen. Zo kan COMT geremd worden door sommige fytochemicaliën (zie Box B) die zo erg lijken op 4-OHE2 en 2-OHE2, dat ze ook door COMT worden herkend en omgezet. Daardoor is er minder COMT beschikbaar om 4-OHE2 en 2-OHE2 om te zetten wat leidt tot DNA schade. Maar COMT speelt nog een belangrijke rol bij de bescherming van borstweefselcellen. 2-OHE2 wordt door COMT omgezet in 2-methoxyoestradiol (2-MeOE2). 2-MeOE2 heeft een aantal anti-kanker werkingen. Het remt groei van cellen, het zet cellen aan tot apoptose (geprogrammeerde celdood) en het beschermt cellen tegen DNA schade. Dus een lagere COMT activiteit betekent ook minder 2-MeOE2 vorming, dus minder anti-kanker stof. Alleen kijken naar de verhouding van 4-OHE2 en 2-OHE2 in borstweefsel lijkt in dus niet voldoende om een uitspraak te kunnen doen over een mogelijk borstkankerrisico.

2.2 Biomarkers van blootstelling

Blootstellings biomarkers worden gebruikt om blootstelling aan bepaalde omgevingsfactoren vast te stellen. Zo worden de enzymen CYP1A1 en CYP1B1 vaak gebruikt om de blootstelling aan dioxinen en dioxine-achtige stoffen te bepalen. CYP1A1 en CYP1B1 komen ook voor in bloedcellen en kunnen daarin makkelijk gemeten worden. Net als bij borstweefselcellen, gaan witte bloedcellen die worden blootgesteld aan dioxinen en dioxine-achtige stoffen in een laboratorium experiment, meer CYP1A1 en CYP1B1 enzymen maken. Hoe meer dioxine en dioxine-achtige stoffen je toevoegt, hoe meer enzymen een cel maakt. Het idee achter CYP1A1 en CYP1B1 als blootstellings biomarker is dat hoe meer iemand wordt blootgesteld aan dioxine en dioxine-achtige stoffen, hoe meer CYP1A1 en CYP1B1 enzymen in witte bloedcellen gemeten zullen worden.

Het probleem is alleen dat de hoeveelheid CYP1A1 en CYP1B1 die personen in witte bloedcellen hebben nogal kan verschillen. Verder zijn er vrij hoge concentraties dioxine en dioxine-achtige stoffen nodig om een goed waarneembaar effect op CYP1A1 en CYP1B1 te krijgen. Hele subtiele effecten van dioxine en dioxine-achtige stoffen op de

hoeveelheid CYP1A1 en CYP1B1 vallen daardoor niet op. Dat blijkt uit een kleine studie met gezonde vrouwen, waarbinnen weinig variatie was te verwachten in blootstelling aan dioxine en dioxine-achtige stoffen. Maar ook uit een grote EU-studie met twee groepen mensen uit Slowakije. Eén groep mensen is jarenlang blootgesteld aan hoge concentraties PCBs, doordat die daar werden geproduceerd. De andere groep mensen was niet blootgesteld aan zulke hoge concentraties. De hoeveelheid PCBs in het bloed en de hoeveelheid CYP1A1 en CYP1B1 in witte bloedcellen was in beide groepen hetzelfde. Er bleek ook geen verband te zijn tussen de hoeveelheid PCBs die mensen in hun bloed hadden en de hoeveelheid CYP1A1 en CYP1B1 in de witte bloedcellen. Dit betekent dat CYP1A1 en CYP1B1 in witte bloedcellen niet gebruikt kunnen worden als blootstellings biomarker voor dioxine en dioxine-achtige stoffen.

2.3 Biomarkers van gevoeligheid

Er zijn grote verschillen hoe mensen op blootstelling aan omgevingsfactoren kunnen reageren. Genetische verschillen (polymorfismen) zorgen veelal voor die verschillen in vatbaarheid. Deze polymorfismen kunnen in cruciale genen zitten die bijvoorbeeld betrokken zijn bij de regulatie van celdeling, DNA reparatie of tumorvorming (zoals het borstkankergen BRCA). Polymorfismen kunnen ook in minder cruciale genen voorkomen, waardoor bijvoorbeeld de vatbaarheid voor borstkanker verandert. Polymorfismen zijn een voorbeeld van biomarkers van gevoeligheid. Biomarkers van gevoeligheid geven dus een bepaalde vatbaarheid aan die mensen kunnen hebben voor effecten van een omgevingsfactor.

Er is een aantal polymorfismen bekend van CYP1A1, CYP1B1 en COMT, waarvan niet altijd de effecten bekend zijn. Een polymorfisme kan bijvoorbeeld gevolgen hebben voor de hoeveelheid enzym in een cel. Zo kan een persoon met een bepaalde variant van CYP1B1 na blootstelling aan dioxine en dioxine-achtige stoffen veel meer CYP1B1 enzym hebben dan een persoon zonder die variant. In Slowakije-populatie was echter geen effect te zien van een CYP1B1 polymorfisme. Sommige polymorfismen veranderen de activiteit van een enzym. Dat betekent dat bijvoorbeeld een vrouw een variant van CYP1A1 en COMT kan hebben met een lage activiteit en een variant van CYP1B1 kan hebben die zorgt voor een hogere enzymactiviteit. Deze combinatie betekent dus veel “slechte” oestrogenafbraakproducten die niet snel onschadelijk gemaakt worden. Deze vrouw heeft dus van zichzelf een verhoogde kans heeft op borstkanker. Om de effecten van polymorfismen in CYP1A1, CYP1B1 en COMT op bijvoorbeeld borstkankerrisico vast te stellen zijn grote, uitgebreide experimenten nodig. De effecten

van polymorfismen zijn subtiel in vergelijking met bijvoorbeeld de “standaard” borstkankerrisicofactoren zoals beschreven in paragraaf 1.1. Toch, de invloed van één polymorfisme is misschien gering, maar het effect van meerdere polymorfismen kan aanzienlijk zijn. Je hebt daarom een hele grote groep mensen en heel veel metingen nodig om de effecten van polymorfismen te kunnen zien.

3 Kort samengevat

Oestrogenen, vrouwelijke hormonen, kunnen borstkanker veroorzaken. Dit gebeurt onder andere doordat de ‘slechte’ afbraakproducten van oestrogenen borstweefsel kunnen beschadigen. Lichaamsvreemde stoffen zoals dioxinen, dioxine-achtige stoffen en bepaalde plantenstoffen kunnen de activiteit van de enzymen die zorgen voor de oestrogeenafbraak veranderen. Hierdoor kan de verhouding ‘goede’-‘slechte’ afbraakproducten te veranderen of worden de afbraakproducten niet onschadelijk gemaakt. De verhouding en de hoeveelheid oestrogeenafbraakproducten is goed te voorspellen aan de hand van de aanwezige enzymen in borstweefsel. Het probleem is echter dat het gevolg van verandering in oestrogeenafbraak voor borstkankerrisico moeilijk in te schatten is. We weten niet of de hoeveelheid enzymen in borstweefsel en bloed hetzelfde zijn en er is geen duidelijk verband tussen de hoeveelheid enzymen voor oestrogeenafbraak in het bloed en de hoeveelheid lichaamsvreemde stoffen in het bloed. Blootstelling aan bepaalde lichaamsvreemde stoffen kan dus *in principe* leiden tot een verhoogde kans op borstkanker door veranderde enzymactiviteiten, maar de enzymen op zich zijn hiervoor geen goede biomarkers voor.

Verder moet in het achterhoofd worden gehouden dat de studies die zijn beschreven in dit proefschrift allemaal zijn uitgevoerd *in vitro*, in een schaalte in het laboratorium. Het is niet zeker dat vrouwen die zijn blootgesteld aan dioxinen en dioxine-achtige stoffen ook een hele andere oestrogeenafbraak hebben en een verhoogde kans op borstkanker. Van fytochemicaliën wordt over het algemeen gezegd dat ze gezond zijn en het borstkankerrisico verlagen. Maar het is niet uit te sluiten dat sommige ook negatieve effecten hebben. Dit zal niet zo zeer gebeuren bij normale inname van groenten en fruit door gezonde mensen, maar bijvoorbeeld wel bij extreem hoge inname door bijvoorbeeld voedingssupplementen. Het motto van Philippus Aureolus Theophrastus Bombastus von Hohenheim (1493-1541), beter bekend als Paracelsus, de grondlegger van de moderne toxicologie, blijft daarbij nog altijd overeind: “*dosis sola facit venenum*”. Het is de dosis dat iets een gif maakt.

BOX A. Dioxine en dioxine-achtige stoffen

Dioxine en dioxine-achtige stoffen zijn overal in het milieu te vinden: in de lucht, grond, water, voedsel en in dier en mens. Ze lossen gemakkelijk op in vet. Verder zijn het erg stabiele verbindingen die goed bestand zijn tegen afbraak. Ook zie je accumulatie in de voedselketen; een dier (of een mens) dat een dier opeet die dioxinen bevat, krijgt behalve de dioxinen die al in het lichaam waren ook nog eens de dioxinen erbij van het opgegeten dier.

Er zijn drie verschillende klassen te onderscheiden: de polychlorinated dibenzo-p-dioxinen (PCDDs), polychlorinated dibenzofurans (PCDFs) en de polychlorinated biphenyls (PCBs). PCDDs en PCDFs zijn ongewenste bijproducten van chemische en thermische processen en hebben geen economisch belang. Ze kunnen vrijkomen bij industriële processen zijn, maar ook bij natuurlijke processen zoals een vulkaan uitbarsting of bosbrand. TCDD is de meest potente dioxine. De PCBs kennen wel een brede toepassing en werden veelvuldig geproduceerd, totdat de productie werd verboden in de jaren 80. Ze werden onder andere gebruikt als vlamvertragers, verf toevoeging en als wax.

BOX B. Phytochemicaliën

Phytochemicaliën zijn chemische stoffen die door planten worden gemaakt. Deze chemicaliën geven planten hun kleur, smaak, geur en textuur. De phytochemicaliën zijn in de evolutie ontstaan als bescherming tegen toenemende zuurstof concentraties in de atmosfeer. Ze helpen ook een plant bij de bescherming tegen bacteriën, schimmels, virussen en vraat door dieren. Tegenwoordig wordt de term phytochemicaliën voornamelijk gebruikt voor plantstoffen die een effect hebben op de gezondheid, maar geen voedingsstoffen (eiwitten, koolhydraten, vetten, mineralen en vitamines) zijn.