

Aromatasi, storia di un enzima complesso

Ruggero Dittadi

Dipartimento di Medicina di Laboratorio, Ospedale dell'Angelo, ULSS3 Serenissima, Mestre-Venezia

Una recente rassegna pubblicata su *Steroids* [1] fa il punto su due enzimi chiave nel metabolismo degli steroidi, l'aromatasi e la solfatasi. Particolarmente intrigante è il primo enzima, per il ruolo che ricopre e il meccanismo d'azione complesso che ha richiesto molti decenni per la sua decifrazione.

L'aromatasi umana (gene CYP19A1) è una proteina di 503 amminoacidi ancorata alla membrana del reticolo endoplasmatico, che appartiene alla superfamiglia dei citocromi P450 contenenti ferro-eme. L'enzima catalizza la conversione degli androgeni in estrogeni, in particolare quella di Testosterone e Androstenedione rispettivamente in Estradiolo ed Estrone. È l'unico enzima in grado di effettuare questa conversione, e anzi, è l'unico enzima nei vertebrati in grado di catalizzare l'aromatizzazione di un anello a sei atomi di carbonio [1]. Nella specie umana è presente in diversi tessuti, fra cui le gonadi, il cervello, il tessuto adiposo, la placenta e l'endometrio [2].

È stato documentato che l'aromatasi può svolgere un ruolo non solo nella differenziazione sessuale e nella riproduzione [3], ma anche in altri processi fisiologici e comportamentali, fra cui l'accrescimento cellulare, la neuro-plasticità e la neuro-protezione contro la degenerazione neuronale [4].

La stechiometria della bio-conversione da androgeni ad estrogeni, che coinvolge la perdita del gruppo metile in posizione 19 e di un idrogeno rispettivamente in C1 e C2, richiede 3 molecole di O₂ e di NADPH per ogni molecola di estrogeno prodotta [5].

I primi lavori che hanno indagato sull'enzima e il suo meccanismo d'azione risalgono alla fine degli anni 50 del secolo scorso [6]. Una serie di eleganti studi verrà quindi svolta nell'arco dei successivi venti anni [7-12], utilizzando prevalentemente isotopi dell'idrogeno e dell'ossigeno legati ai precursori e ai composti intermedi, appositamente sintetizzati per studiare le reazioni catalitiche coinvolte e differenziare fra le diverse alternative possibili e la sequenza delle stesse.

Agli inizi degli anni '80 poteva essere presentato uno schema ormai discretamente dettagliato dei passaggi che portano alla aromatizzazione dell'anello A degli androgeni [5].

Il primo passaggio prevede l'introduzione di un ossigeno a livello del metile C19, che viene poi ulteriormente idrossilato a formare un C19-diolo. La sottrazione di una molecola d'acqua porterebbe alla formazione di una C19 aldeide. Da questo intermedio, tramite il riarrangiamento di elettroni a livello dell'anello A e l'eliminazione di una molecola di acido formico, si produrrebbe infine l'estrogeno.

Sugli ultimi passaggi sono state fatte, in seguito, molte ipotesi. Già negli anni '90 sembrava stabilito il contributo di un gruppo ferro-eme per la formazione dell'aldeide e le successive deidrogenazioni in fase di aromatizzazione. Infine, il definitivo chiarimento della struttura dell'enzima ha permesso la delucidazione di quasi tutti i dettagli del meccanismo d'azione [1,13], che per la 2,3 enolizzazione e l'eliminazione del C19 vedrebbero coinvolti il ferro-eme in forme ossidate o perossidate e i residui di treonina, alanina e acido aspartico del sito attivo, che andrebbero ad

agire sui composti intermedi 19-aldeide e 19,19-gem-diolo. Sul ruolo di questi ultimi intermedi sussiste ancora qualche incertezza. Studi sia sperimentali che teorici sembrerebbero suggerire che la deidratazione in 19-aldeide sia termodinamicamente svantaggiosa, e che in pratica nell'ultima fase di aromatizzazione l'intermedio prevalente sia il 19,19-gem-diolo [13].

Se fondamentalmente lo schema resta quello già delineato (Fig. 1), definire i particolari e soprattutto caratterizzare biochimicamente l'enzima è risultato utile anche per orientare la sintesi di nuovi inibitori dell'aromatasi.

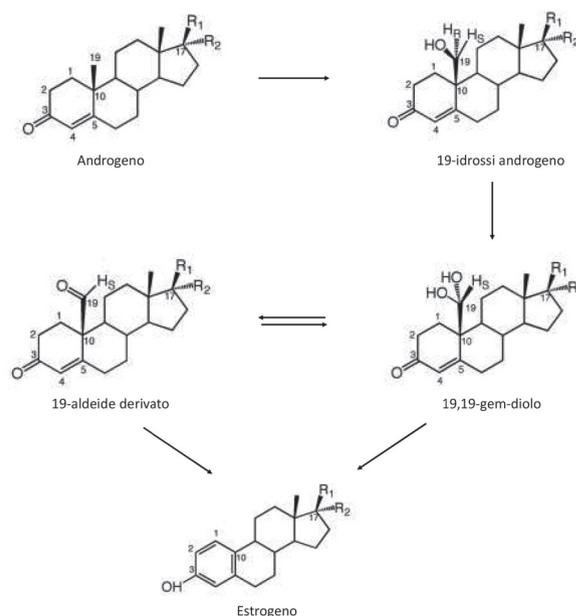


Figura 1

Schema semplificato dei diversi passaggi di aromatizzazione da androgeni ad estrogeni.

Testosterone/Estradiolo - Residui R1: OH, R2: H

Androstenedione/Estrone - Residui R1: =O, R2: H

Il primo passaggio vede la idrossilazione in C19, nel secondo avviene una seconda idrossilazione a formare il 19,19-gem-diolo. Questo e il composto derivato 19-aldeide, in equilibrio per idratazione, vengono nel terzo passaggio aromatizzati in estrogeni, con perdita del carbonio C19.

Che la deprivazione di estrogeni potesse essere utile nella terapia del carcinoma della mammella è infatti noto da oltre un secolo [14]. In particolare, quasi tutti i tumori con presenza di recettori per gli estrogeni sono candidati ad un qualche tipo di endocrino-terapia adiuvante [15].

Gli inibitori dell'aromatasi hanno la capacità di bloccare o inattivare l'aromatasi, prevenendo quindi la produzione periferica di estrogeni e riducendo la proliferazione cellulare indotta. Oltre al trattamento del carcinoma della mammella in post-menopausa, possono avere significato terapeutico in diverse altre patologie, fra cui l'endometriosi, il leiomioma

uterino, il carcinoma dell'endometrio e dell'ovaio, la ginecomastia e infertilità maschili, sebbene non tutti gli usi risultino formalmente approvati [1,16].

Una prima generazione di inibitori è stata sintetizzata intorno alla metà degli anni '70, e nella decade successiva è stata prodotta una seconda generazione, con maggiore specificità per l'enzima [17]. Anche questa, tuttavia, mostrava inibizioni non selettive verso altri steroidi, come il progesterone e l'aldosterone. Alla fine degli anni '90 vengono prodotti gli inibitori di terza generazione, tuttora utilizzati [18], che sono classificabili come inibitori steroidei irreversibili (exemestane) e non-steroidi reversibili, l'anastrazolo e il letrozolo [19]. Questi risultano molto efficaci, selettivi e sicuri, ma mostrano ancora cross-reattività con altri citocromi P450 [1].

Sfruttare l'androgeno-specificità del sito attivo e le interazioni esclusive della tasca di legame potrà ridurre ulteriormente la reattività crociata degli attuali inibitori, permettendo l'avvento di una nuova generazione di inibitori dell'enzima con ancora maggiore specificità e minime cross-reattività ed effetti collaterali [20].

BIBLIOGRAFIA

- Ghosh D.** Structures and functions of human placental aromatase and steroid sulfatase, two key enzymes in estrogen biosynthesis. *Steroids* 2023;196:109249
- Chumsri S, Howes T, Bao T, et al.** Aromatase, aromatase inhibitors, and breast cancer. *J. Steroid Biochem Mol Biol* 2011;125:13-22.
- Roselli CF.** Brain aromatase: roles in reproduction and neuroprotection. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2007;106:143–50
- Lephart ED, Lund TD, Horvath TL.** Brain androgen and progesterone metabolizing enzymes: biosynthesis, distribution and function. *Brain Res Rev* 2001;37:25–37
- Fishman J.** Biochemical Mechanism of Aromatization. *Cancer Res* 1982;42:3277s-80s.
- Ryan KJ.** Conversion of androstenedione to estrone by placental microsomes. *Biochim Biophys Acta* 1958;27:658-62
- Akhtar M, Skinner SJ.** The intermediary role of a 19-oxoandrogen in the biosynthesis of oestrogen. *Biochem J* 1968;109:318-21
- Brodie HJ, Kripalani KJ, Possanza G.** Studies on the mechanisms of estrogen biosynthesis. VI. The stereochemistry of hydrogen elimination of C-2 during aromatization. *J Am Chem Soc* 1969;91:1241-3
- Fishman J, Guzik H, Dixon D.** Stereochemistry of estrogen biosynthesis. *Biochemistry* 1969;8:4304-9.
- Thompson EA, Siiteri PK.** Utilization of oxygen and reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate by human placental microsomes during aromatization of androstenedione. *J Biol Chem* 1974;249:5364-72
- Akhtar M, Corina DL, Pratt J, et al.** Studies on the removal of C-19 in oestrogen biosynthesis using 18O2. *J Chem Soc Chem Commun* 1976;854-56
- Akhtar M, Calder MR, Corina DL, et al.** Mechanistic studies on C-19 demethylation in oestrogen biosynthesis. *Biochem J* 1982;201:569-80
- Wang X, Yan H, Han Y.** Do two oxidants (ferric-peroxo and ferryl-oxo species) act in the biosynthesis of estrogens? A DFT calculation. *RSC Adv* 2018;8:15196
- Beatson GT.** On the treatment of inoperable cases of carcinoma of the mamma: suggestions for a new method of treatment, with illustrative cases. *Trans Med Chir Soc Edinb* 1896;15:153-79
- Burstein HJ, Curigliano G, Thürlimann B, et al.** Customizing local and systemic therapies for women with early breast cancer: the St. Gallen International Consensus Guidelines for treatment of early breast cancer 2021. *Ann Oncol* 2021;32:1216-35.
- Eissa MA, Gohar EY.** Aromatase enzyme: Paving the way for exploring aromatization for cardio-renal protection. *Biomed Pharmacother* 2023;168:115832.
- Rani S, Raheja K, Luxami V, et al.** A review on diverse heterocyclic compounds as the privileged scaffolds in non-steroidal aromatase inhibitors. *Bioorg Chem* 2021;113:105017
- Augusto TV, Correia-da-Silva G, Rodrigues CMP, et al.** Acquired resistance to aromatase inhibitors: where we stand! *Endocr Relat Cancer* 2018;25:R283–R301
- Jonat W, Hilpert F, Kaufmann M.** Aromatase inhibitors: a safety comparison. *Expert Opin Drug Saf* 2007;6:165–74
- Ghosh D, Lo J, Egbuta C.** Recent Progress in the Discovery of Next Generation Inhibitors of Aromatase from the Structure-Function Perspective. *J Med Chem* 2016; 59:5131-48

Per corrispondenza:

Dott. Ruggero Dittadi
 Dipartimento di Medicina di Laboratorio
 Ospedale dell'Angelo - ULSS3 Serenissima
 via Paccagnella, 11
 30174 Mestre (VE)
 Tel.: 340 3212194
 E-mail: rogegru@gmail.com