

А.П. Бурлака<sup>1</sup>  
І.М. Мотузюк<sup>2</sup>  
О.І. Сидорчук<sup>2</sup>  
С.В. Вірко<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України

<sup>2</sup>Національний медичний університет ім. О.О. Богомольця МОЗ України

<sup>3</sup>Інститут фізики напівпровідників ім. В.Є. Лашкарьова НАН України, Київ, Україна

**Ключові слова:** рак молочної залози, естрогени, метаболізм, цитохром P450, CYP 1A2, CYP 1B1, супероксидні радикали.

## ЦИТОХРОМ P450, МЕТАБОЛІТИ ЕСТРОГЕНІВ ТА СУПЕРОКСИДНІ РАДИКАЛИ В ІНІЦІАЦІЇ ТА ПРОГРЕСУВАННІ РАКУ МОЛОЧНОЇ ЗАЛОЗИ

**Мета:** дослідити вміст цитохрому P450 та його ізоформ CYP 1A2, CYP 1B1 у пухлинній тканині (ПТ) та мамарній жировій тканині (МЖТ) хворих на рак молочної залози (РМЗ). **Об'єкт і методи:** в дослідження залучено 28 хворих на РМЗ II стадії (T<sub>3</sub>N<sub>0</sub>M<sub>0</sub>) трічі негативного молекулярного підтипу. У 15 пацієнток відзначали нормальну масу тіла (ІМТ < 25 кг/м<sup>2</sup>), 13 — надмірну (ІМТ ≥ 25 кг/м<sup>2</sup>). Досліджено 28 зразків ПТ, 25 зразків МЖТ, відібраної на відстані 3 см від пухлинного вузла, та 27 — МЖТ, яка контактує з пухлиною. Рівні окисненого, низько- та високоспінового цитохрому P450 та ізоформи CYP 1A2, CYP 1B1 досліджували методом електронного парамагнітного резонансу, спектрофотометрично. **Результати:** встановлено, що рівні цитохрому P450 CYP 1A2 у ПТ та МЖТ, що контактує з пухлиною, нижчі, ніж відповідні рівні P450 CYP 1B1 незалежно від ІМТ пацієнток. У МЖТ, яка вилучена на відстані 3 см від пухлини, співвідношення рівнів досліджених ізоформ P450 було зворотним. На відстані 3 см від пухлинного вузла рівень семихінонів становив 0,48 ± 0,02 відн. од., а в МЖТ, яка контактує з пухлинним вузлом, цей показник зріс до 0,89 ± 0,05 відн. од. (p < 0,05). ПТ характеризується найвищими рівнями вільно-радикальних метаболітів естрогену (2,23 ± 0,09 відн. од). Хінони та їхні аніон-радикали — семихінони — представляють клас токсичних інтермедіатів естрогенів, що можуть індукувати ряд негативних проявів. Механізм токсичного ефекту хінонів є складним. Очевидно, основними процесами є пряме окиснення SH-груп у FeS-білках мітохондрій та продукування супероксидних радикалів. **Висновки:** у хворих на РМЗ виявлено посилення окисного метаболізму естрогенів за рахунок зростання рівнів CYP 1B1 та зниження активності CYP 1A2 у клітинах ПТ та МЖТ, яка контактує з пухлиною. Нерегульоване зростання рівнів метаболітів естрогену викликає перепрограмування метаболізму мітохондрій клітин МЖТ, посилення генерування супероксидних радикалів, клітинну гіпоксію та нестабільність функціонування геному. Регулювання активності цитохрому P450 є критично важливим механізмом у гомеостазі естрогену при профілактиці РМЗ та моніторингу пухлинного процесу.

Рак молочної залози (РМЗ) є одним із найпоширеніших злоякісних новоутворень у жінок [1]. Із підвищеним ризиком розвитку РМЗ асоціюється тривалий вплив статевих гормонів — естрогенів (Е). Результати епідеміологічних та клінічних досліджень свідчать, що фактори, які спричиняють підвищення рівня Е протягом життя жінки (ранній початок менструації, пізня менопауза, застосування оральних контрацептивів, пізня перша вагітність, використання замісної гормональної терапії) пов'язані зі зростанням ризику РМЗ [2]. Зв'язування Е з відповідними рецепторами (ER) слугує фактором транскрипції та призводить до зміни експресії генів-мішеней, які беруть участь у процесах проліферації клітин молочної залози [3]. Сигнальний шлях, опо-

середкований ER, може мати важливу роль у розвитку патологічного процесу, однак не має вирішальної ролі в ініціації раку [4]. Останні дані свідчать, що порівняно з ER-опосередкованими процесами, значну роль в ініціації РМЗ відіграє окисний метаболізм Е [5, 6]. Специфічні метаболіти Е, переважно катехол-естрогени-3,4-хінони (СЕ-3,4-Q), набувають здатності ініціювати пухлинний процес шляхом зв'язування з ДНК та утворення апуринових ділянок, які можуть генерувати відповідні мутації [7]. Крім того, циклічний окисно-відновний метаболізм хінонів та семихінонів призводить до утворення реактивних форм кисню (РФК). Нерегульовані рівні РФК не лише проявляють генотоксичність, збільшуючи нестабільність функціонування геному, але

також стимулюють прогресування пухлин молочної залози за рахунок трансдукції окисно-відновних сигнальних шляхів [8].

Метаболізм Е та елімінація їх метаболітів відбуваються двома шляхами. Перший полягає у перетворенні Е у проміжні продукти СЕ-3,4-Q за допомогою ферментів надродини монооксигеназ — цитохром Р450 (СУР). До основних ферментів Р450, які беруть участь у цьому перетворенні, належать ізоформи СУР 1А1 та СУР 1В1. Другий шлях — це інактивація та детоксикація хінону, О-метилування за участю ферменту катехол-О-метилтрансферази (СОМТ).

Мета роботи — дослідити вміст цитохрому Р450 та його ізоформ СУР 1А2, СУР 1В1 у пухлинній тканині та мамарній жировій тканині (МЖТ) у хворих на РМЗ.

### ОБ'ЄКТ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

У дослідження залучено 28 хворих на РМЗ II стадії ( $T_3N_0M_0$ ), які проходили лікування в Національному інституті раку. За гормонорецепторним статусом усі пацієнтки мали тричі негативний молекулярний підтип РМЗ (ТНРМЗ). За ступенем диференціювання пухлинної тканини (ПТ) вони розподілялися наступним чином: ступінь I — 8, II — 12, III — 8 пацієнток. Середній вік хворих становив  $58,2 \pm 7,4$  року. За розрахованим показником індексу маси тіла (ІМТ) 15 хворих мали нормальну ( $ІМТ < 25 \text{ кг/м}^2$ ), 13 — надмірну масу тіла ( $ІМТ \geq 25 \text{ кг/м}^2$ ). Усі пацієнтки надали письмову інформовану згоду на участь у дослідженні.

Рівні цитохрому та його ізоформ СУР 1А2, СУР 1В1 визначали у 28 зразках ПТ; 27 зразках МЖТ, яка контактує з пухлиною, та 25 зразках МЖТ, відібраної на відстані 3 см від пухлинного вузла. Рівні окисненого, низькоспінового та високоспінового цитохрому Р450 та ізоформ СУР 1А2, СУР 1В1 визначали методом електронного парамагнітного резонансу (ЕПР) та спектрофотометрично. Зразки ПТ та МЖТ гомогенізували у скляному гомогенізаторі, отримували цільні клітинні екстракти. UV-Vis-спектри поглинання СУР 1А2, СУР 1В1 в гомогенатах тканин реєстрували із розрахунку 50 мг/мл білка у 0,1 М фосфатного буферу (рН 7,0) на спектрофотометрі СФ-46. Для визначення рівнів окисненої та низькоспінової форм цитохрому Р450 із тканин (1 г) готували зразки у спеціальній пресформі. Спектри ЕПР отримували за температури рідкого азоту ( $-196 \text{ }^\circ\text{C}$ ) на комп'ютеризованому радіоспектрометрі ЕПР РЕ-1307 з резонатором Н011. Потужність НВЧ-джерела становила 40 мВт, частота модуляції — 100 кГц, амплітуд — 10 Гаус, постійна часу приймача  $\tau = 0,3$  с. Як стандарт інтенсивності використовували спеціально орієнтований зразок монокристалу  $Al_2O_3$  з визначеною концентрацією іонів  $Cr^{3+}$ . Методом подвійного інтегрування оцінювали концентрацію молекул, зіставляючи інтенсивність сигналів у спектрах ЕПР з інтенсивністю стандарту. Помилка методу інтегрування спек-

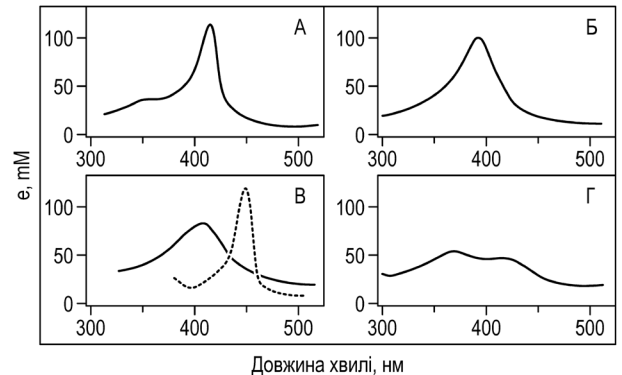
трів та розкид відтворення спектрів одного зразка становить не більше 2%. Електрофорез та ідентифікацію білків проводили відповідно до стандартних протоколів з антитілами проти СУР 1А2 і СУР 1В1, GAPDH (Santa Cruz Biotechnology, SantaCruz, CA). Рівні 8-охоGu у сечі хворих визначали за методикою, описаною раніше [9].

Наявність ожиріння визначали шляхом підрахунку та інтерпретації ІМТ у  $\text{кг/м}^2$ :  $ІМТ < 25$  — нормальна маса тіла;  $ІМТ \geq 25,0$  — надмірна маса тіла (передожиріння та ожиріння).

Дані представлено у вигляді середніх значень зі стандартним відхиленням ( $M \pm SE$ ). Статистичний аналіз проводили із застосуванням статистичного пакета R. Різницю між показниками вважали достовірною при  $p < 0,05$ .

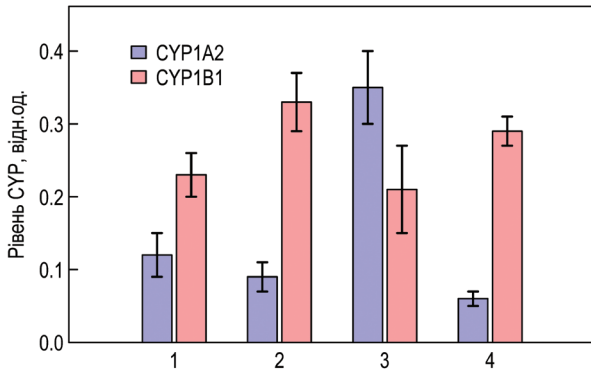
### РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Нами отримано спектри поглинання цитохрому Р450 у вільному стані та при взаємодії з андростендіоном при метаболічній активації. Показано, що при зв'язуванні цитохрому з гормоном андростендіоном реєструвався зсув максимуму поглинання з 418 нм на 391 нм та змінювалася форма спектра поглинання. На рис. 1В наведено спектральні характеристики ізоформ цитохрому Р450 СУР 1А2 і СУР 1В1 у вільному стані та при зв'язуванні його активного центру з андростендіоном у концентрації 3,0 нг/мл. На рис. 1Г наведено спектр поглинання цитохрому Р450 (СУР1В1) у гомогенаті ПТ РМЗ. Як видно, у ПТ каталітичний центр цієї ізоформи Р450 є зв'язаним.



**Рис. 1.** Спектри поглинання цитохрому Р450 (ізоформи СУР 1А2 та СУР 1В1): А — ізоформа СУР 1А2, каталітичний центр ферменту вільний; Б — ізоформа СУР 1А2, каталітичний центр ферменту зв'язаний із гормоном; В — ізоформа СУР 1В1, каталітичний центр ферменту вільний (пунктир) та зв'язаний із гормоном (суцільна лінія); Г — ізоформа СУР 1В1 з гомогенату ПТ

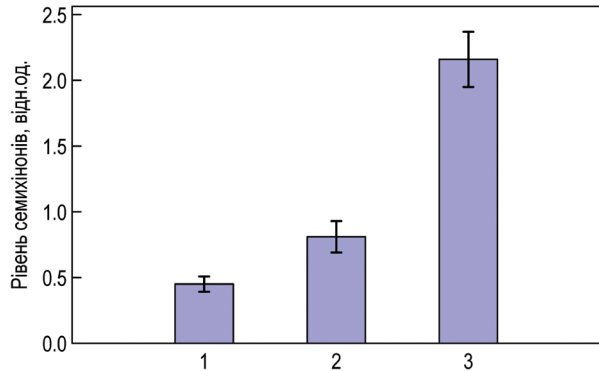
Результати досліджень рівнів СУР 1А2 і СУР 1В1 у тканинах хворих на ТНРМЗ наведені на рис. 2. У ПТ хворих із нормальною масою тіла виявлено низькі рівні ( $0,12 \pm 0,03$  відн. од.) СУР 1А2; у пацієнток із  $\geq 25 \text{ кг/м}^2$  вміст СУР 1А2 був ще нижчим порівняно з аналогічним показником хворих без ожиріння. Вміст СУР 1А2 у МЖТ залежав від локалізації останньої щодо ПТ: у тканині, яка



**Рис. 2.** Рівні CYP 1A2 і CYP 1B1 у зразках тканин у хворих з нормальною та надмірною масою тіла: 1 — ПТ (ІМТ < 25 кг/м<sup>2</sup>); 2 — МЖТ, яка контактує з пухлиною (ІМТ < 25 кг/м<sup>2</sup>); 3 — МЖТ на відстані 3 см від пухлини (ІМТ < 25 кг/м<sup>2</sup>); 4 — ПТ (ІМТ ≥ 25 кг/м<sup>2</sup>)

контактує з пухлиною, рівень цієї ізоформи становив  $0,09 \pm 0,02$  відн. од., на відстані 3 см від пухлини — був статистично достовірно більшим ( $0,35 \pm 0,05$  відн. од,  $p < 0,05$ ). Відзначено, що незалежно від маси тіла пацієнок ПТ та МЖТ, що контактує з пухлиною, характеризуються нижчими рівнями CYP 1A2 порівняно із CYP 1B1. У ПТ хворих без ожиріння рівень CYP 1B1 становив  $0,23 \pm 0,03$  відн. од., у хворих з надмірною масою тіла був дещо вищим  $0,29 \pm 0,02$  відн. од. ( $p < 0,05$  порівняно з рівнем CYP 1A2 в аналогічних підгрупах пацієнок). Як видно, наявність надмірної маси тіла спричиняє додаткове зростання показника CYP 1B1. Відзначали тенденцію до підвищення рівня CYP 1B1 у зразках МЖТ, яка контактує з пухлиною, порівняно з аналогічними показниками у МЖТ, вилученій на відстані 3 см від пухлини ( $0,33 \pm 0,04$  відн. од. проти  $0,21 \pm 0,06$  відн. од.). Зазначимо, що естрон (E1) та  $17\beta$ -естрадіол (E2) метаболізуються двома шляхами: E1 перетворюється у 2-гідроксиестрол (2-ОН-E1) за допомогою CYP1A1/2, а окиснення E2 до гідроксиметаболітів каталізується головним чином CYP 1B1. При цьому CYP 1B1 у здоровій тканині молочної залози експресується у дуже низьких рівнях, а наявність надмірної маси вісцеральної жирової тканини у хворих на РМЗ викликає зростання його активності [9, 10]. Зростання рівня білка CYP 1B1 у матеріалах пухлин хворих з надмірною масою тіла було підтверджено і при аналізі показників, отриманих з використанням методу Вестерн-блот.

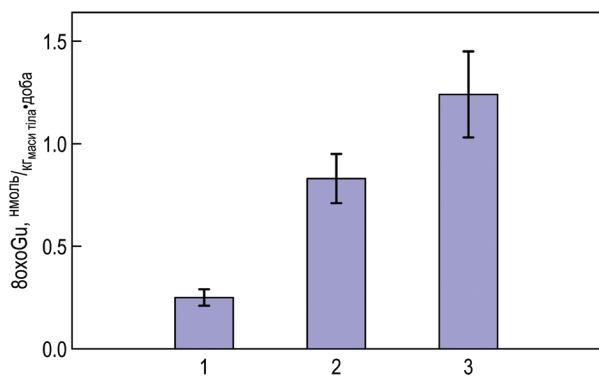
Дослідження вмісту вільнорадикальних метаболітів естрогенів (семіхінонів) у ПТ та МЖТ показало, що найнижчі рівні цих метаболітів характерні для МЖТ, вилученої на відстані 3 см від пухлинного вузла, —  $0,48 \pm 0,02$  відн. од (рис. 3). У МЖТ, яка контактує з пухлинним вузлом, цей показник був значно більшим ( $p < 0,05$ ) і становив  $0,89 \pm 0,05$  відн. од. ПТ характеризувалася найвищим вмістом вільнорадикальних метаболітів Е ( $2,23 \pm 0,09$  відн. од.,  $p < 0,05$  порівняно з показниками МЖТ). Хінони



**Рис. 3.** Вміст семіхінонів: 1 — у МЖТ на відстані 3 см від пухлини; 2 — у МЖТ, яка контактує з пухлиною; 3 — у ПТ

та їх аніон-радикали семіхінони представляють клас токсичних інтермедіатів Е, що можуть індукувати ряд негативних проявів. Механізми, за допомогою яких хінони проявляють токсичний ефект, є доволі складними, але два основні процеси, які, очевидно, є центральними, — це пряме окиснення SH-груп у FeS-білках мітохондрій та продукування супероксидних радикалів (СР). Наявність надмірної маси вісцеральної жирової тканини спричиняє посилення утворення генотоксичних метаболітів. Отримані нами результати свідчать про те, що рівень семіхінонів у жінок із пухлинами молочної залози вищий, ніж у здорових жінок, що може бути хорошим прогностичним показником контролю перебігу захворювання.

Враховуючи, що накопичення у тканині молочної залози значних рівнів метаболітів Е, які здатні пошкоджувати ДНК самостійно й опосередковано через індукцію генерування СР, та активності CYP 1B1, який теж продукує СР, ми дослідили інтегральний рівень пошкодження ДНК на основі аналізу вмісту в сечі 8-охоGu. Результати цих досліджень представлені на рис. 4.

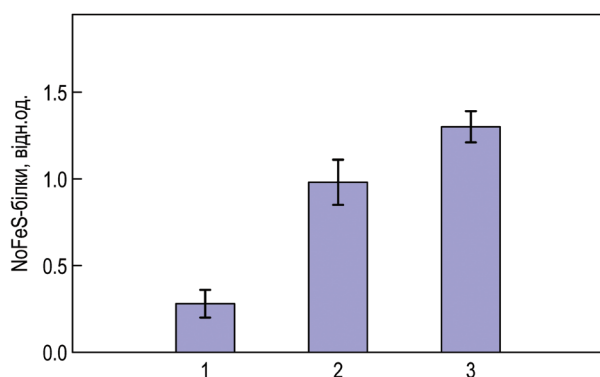


**Рис. 4.** Рівні 8-охоGu у сечі: 1 — здорові жінки (n = 15); 2 — хворі на РМЗ з нормальною масою тіла; 3 — хворі на РМЗ з надмірною масою тіла

Виявлено, що у сечі хворих з нормальною масою тіла рівень молекулярного маркера окисного пошкодження ДНК у 3,3 раза перевищував показники здорових жінок. Наявність ожиріння супроводжувалася зростанням рівня точкових мутацій у геномі хворих: вміст 8-охоGu становив  $1,24 \pm 0,21$  нМоль/кг маси тіла на добу порівняно із показниками паціє-

енток без надмірної маси тіла ( $0,83 \pm 0,12$  нМоль/кг/добу). Тобто ожиріння спричиняє зростання нестабільності функціонування геному.

Дані щодо стану електронтранспортного ланцюга (ЕТЛ) мітохондрій у клітинах пухлин молочної залози та в МЖТ представлені на рис. 5. В умовах активації редокс-циклу відновлення SE-Q до семіхінону та хінону (яке каталізується CYP 1B1) супроводжується утворенням CP шляхом зростання рівня NOFeS-білків у дихальному ланцюгу, ці процеси посилюють проліферацію клітин та прогресування пухлини. Таким чином, метаболіти естрогену викликають метаболічне перепрограмування мітохондрій клітин МЖТ, генерування CP, клітинну гіпоксію та нестабільність геному шляхом зростання рівнів 8-оксогуанозину, фосфорилювання кіназ для активації редокс-чутливих факторів транскрипції [12–14].



**Рис. 5.** Рівні NOFeS-білків в ЕТЛ мітохондрій клітин: 1 — МЖТ на відстані 3 см від пухлинного вузла; 2 — МЖТ, яка контактує з пухлиною; 3 — клітин ПТ

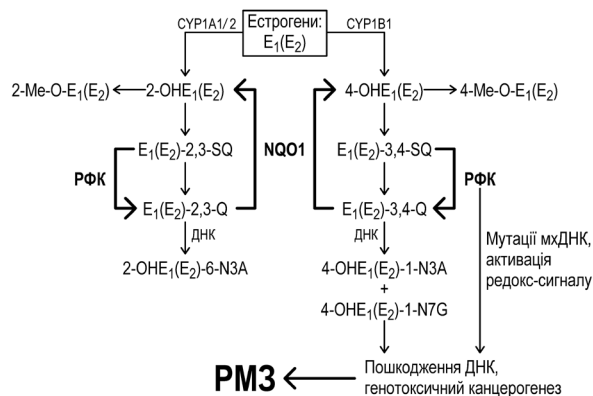
У таблиці представлені дані залежності активності цитохрому P450 CYP 1B1 від ступеня диференціювання пухлин. За активністю цитохрому P450 CYP 1B1 хворих розподілили на дві групи — з низьким ( $0,12 \pm 0,05$  відн. од.) та високим ( $0,36 \pm 0,02$  відн. од.) вмістом. Відзначено, що незалежно від ступеня диференціювання клітин PM3 у більшості хворих реєстрували підвищені рівні цього білка.

**Таблиця**  
Кількість хворих із низьким або високим рівнем цитохрому P450 CYP 1B1 залежно від ступеня диференціювання PM3

Рівень P450 CYP 1B1	Ступінь диференціювання пухлини		
	I (n=8)	II (n=12)	III (n=8)
Низький	2	2	1
Високий	6	10	7

Як підсумок аналізу результатів проведеного дослідження наводимо схему (рис. 6) переключення метаболізму E через ізоформи цитохрому P450 CYP 1A1/2 на CYP 1B1 з відповідними наслідками виявлених метаболічних змін.

Спостереження жінок із високим рівнем метаболітів E ( $E_1(E_2)$ -2,3-Q і  $E_1(E_2)$ -3,4-Q), що є ризиком розвитку PM3, свідчить, що описані особливості метаболізму є, вірогідно, етіологічним чинником захворювання, а не його наслідком. Оскільки



**Рис. 6.** Схема метаболізму естрогенів ( $E_1$  та  $E_2$ ) через ізоформи цитохрому P450 CYP 1A1/2 або CYP 1B1

CYP 1B1 є ключовим ферментом зростання рівня 4-OHE1( $E_2$ ), його активація та генетичні зміни CYP 1B1 можуть впливати на прогресування PM3 за рахунок підвищення концентрації 4-OHE1( $E_2$ ). Відомо понад 300 змін в амінокислотному складі CYP 1B1 [15], серед найпоширеніших — Arg48Gly, Ala119Ser, Val432Leu та Asn453Ser, які призводять до змін у метаболізмі естрогенів та у ступені ризику розвитку PM3 [16]. Дослідження *in vitro* показали, що варіант Val432Leu підвищує каталітичну здатність CYP 1B1 та спричиняє зростання рівня 4-OHE1( $E_2$ ) [17]. Asn453Ser викликає зниження рівня клітинного білка CYP 1B1, що пов'язують зі зниженим ризиком PM3 у жінок у постменопаузальний період [18]. Однак вплив поліморфізму CYP 1B1 на етіологію PM3 залишається суперечливим.

## ВИСНОВКИ

1. У хворих на PM3 виявлено посилення окисного метаболізму E за рахунок зростання рівнів CYP 1B1 та зниження активності CYP 1A2 у клітинах пухлин та МЖТ, яка контактує пухлиною.

2. Нерегульоване зростання рівнів метаболітів E викликає перепрограмування метаболізму мітохондрій клітин МЖТ, посилення генерування CP, клітинну гіпоксію та нестабільність функціонування геному.

3. Регулювання активності цитохрому P450 є критично важливим механізмом у гомеостазі E для профілактики PM3 та моніторингу пухлинного процесу.

Робота виконана за підтримки цільової комплексної міждисциплінарної програми наукових досліджень НАН України 2017–2021 рр. «Молекулярно-біологічні фактори гетерогенності злоякісних клітин та варіабельність клінічного перебігу гормонозалежних пухлин» (№ держреєстрації 0117U002034).

## СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. DeSantis CE, Ma J, Gaudet MM, et al. Breast cancer statistics, 2019. CA: A Cancer J Clin 2019; **69** (6): 438–51.

2. Horn J, Vatten L. Reproductive and hormonal risk factors of breast cancer: a historical perspective. *Int J Women's Health* 2017; **2017** (9): 265–72.
3. Kirsh V, Kreiger N. Estrogen and estrogen-progestin replacement therapy and risk of postmenopausal breast cancer in Canada. *Cancer Causes and Control* 2002; **13** (6): 583–90.
4. Yue W, Wang JP, Li Y, et al. Effects of estrogen on breast cancer development: Role of estrogen receptor independent mechanisms. *Int J Cancer* 2010; **127** (8): 1748–57.
5. Wang C, Bai F, Zhang L, et al. Estrogen promotes estrogen receptor negative BRCA1-deficient tumor initiation and progression. *Breast Cancer Res* 2018; **20** (1): 70–4.
6. Park SA. Catechol estrogen 4-hydroxyestradiol is an ultimate carcinogen in breast cancer. *Biomed Sci Lett* 2018; **24** (3): 143–9.
7. Cavalieri EL, Rogan EG. Depurinating estrogen-DNA adducts, generators of cancer initiation: their minimization leads to cancer prevention. *Clin Transl Med* 2016; **5** (1): 5–12.
8. Sung NJ, Park SA. Effect of natural compounds on catechol estrogen-induced carcinogenesis. *Biomed Sci Lett* 2019; **25** (1): 1–6.
9. Burlaka A, Rudiuk T, Burlaka A, Kolesnik O. 8-hydroxydeoxyguanosine as an independent prognostic factor in patients with metastatic colorectal cancer. *Arch Balk Med Union* 2019; **54** (3): 445–54.
10. Lee AJ, Cai MX, Thomas PE, et al. Characterization of the oxidative metabolites of 17 $\beta$ -estradiol and estrone formed by 15 selectively expressed human cytochrome P450 isoforms. *Endocrinology* 2003; **144** (8): 3382–98.
11. Burlaka AP, Motuzuk IM, Sydorчук OI, Virko SV. Activity and functional characteristics of cytochrome P450 in tumors and breast adipose tissue of patients with breast cancer. *Oncology* 2019; **21** (4): 299–303.
12. Burlaka AP, Ganusevich II, Vovk AV, et al. Redox state of adipose tissue for patients with gastric cancer and its connection with the body mass index and distance from the tumor. *Obesity Research & Clinical Practice* 2020; **14** (1): 34–8.
13. Koundouros N, Poulogiannis G. Phosphoinositide 3-kinase/akt signaling and redox metabolism in cancer. *Front Oncol* 2018; **8**: 160.
14. Jeong SY, Im SY. Estrogen induces CK2 $\alpha$  activation via generation of reactive oxygen species. *Biomed Sci Lett* 2019; **25** (1): 23–31.
15. Zimarina TS, Kristensen VN, Imyanitov EN, Berstein LM. Polymorphisms of CYP1B1 and COMT in breast and endometrial cancer. *Molecular Biology* 2004; **38** (3): 322–8.
16. Hanna IH, Dawling S, Roodi N, et al. Cytochrome P450 1B1 (CYP1B1) pharmacogenetics: association of polymorphisms with functional differences in estrogen hydroxylation activity. *Cancer Res* 2000; **60** (13): 3440–4.
17. Hussain T, Alrokayan S, Upasna U, et al. Meta-analysis of genetic polymorphisms in xenobiotic metabolizing enzymes and their association with breast cancer risk. *J Genetics* 2018; **97** (2): 523–37.
18. Androusoopoulos VP, Spyrou I, Ploumidis A, et al. Expression profile of CYP1A1 and CYP1B1 enzymes in colon and bladder tumors. *PLoS ONE* 2013; **8** (12): e82487.

## CYTOCHROME P450, ESTROGEN METABOLITES AND SUPEROXIDE RADICALS IN BREAST CANCER INITIATION AND PROGRESSION

A.P. Burlaka<sup>1</sup>, I.M. Motuzuk<sup>2</sup>,  
O.I. Sydorчук<sup>2</sup>, S.V. Virko<sup>3</sup>

<sup>1</sup>R.E. Kavetsky Institute of Experimental Pathology,  
Oncology and Radiobiology, NAS of Ukraine

<sup>2</sup>Bogomolets National Medical University

<sup>3</sup>V.E. Lashkaryov Institute of Semiconductor Physics,  
NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine

**Summary. Aim:** to investigate levels of cytochrome P450 and its CYP 1A2, CYP 1B1 isoforms in tumor tissue (TT) and mammary adipose tissue (MAT) in patients with breast cancer (BC). **Object and methods:** Twenty eight patients with stage II (T<sub>3</sub>N<sub>0</sub>M<sub>0</sub>) triple-negative molecular subtype BC were involved in the study. Fifteen patients had normal body mass (BMI < 25 kg/m<sup>2</sup>), 13 — were overweight (BMI ≥ 25 kg/m<sup>2</sup>). Twenty eight samples of TT, 25 of MAT taken at a distance of 3 cm from the tumor node and 27 of MAT on the tumor border were investigated. The levels of oxidized, low-spin and high-spin cytochrome P450 and its CYP 1A2 and CYP 1B1 isoforms were examined by electron paramagnetic resonance and spectrophotometrically. **Results:** it was shown that the levels of cytochrome P450 CYP 1A2 in TT and MAT bordering with the tumor tissue were lower than that of P450 CYP 1B1 independently of patients' BMI. In MAT taken 3 cm from the tumor nodule distribution of P450 isoforms was the opposite. Three cm apart from the tumor nodule, semiquinone levels were 0.48 ± 0.02 relative units, while in MAT bordering the tumor tissue it increased to 0.89 ± 0.05 relative units (p < 0.05). TT is characterized by the highest levels of estrogen's free radical metabolites (2.23 ± 0.09 relative units). Quinones and their anion-radicals, semiquinones, are a class of toxic estrogen's intermediates that can induce a number of adverse effects. The mechanism of quinones' toxic effect is complex. Obviously, the direct oxidation of SH groups in mitochondrial FeS-containing proteins and the production of superoxide radicals are the main processes. **Conclusion:** in patients with BC, there was revealed the increase in oxidative metabolism of estrogen due to elevated levels of CYP 1B1 and decreased activity of CYP 1A2 in cells of TT and MAT bordering the tumor tissue. Unregulated growth of estrogen's metabolite levels causes mitochondria's metabolism reprogramming in MAT cells, increased generation of superoxide radicals, cellular hypoxia and instability of the genome functioning. Regulation of cytochrome P450 activity is a critical mechanism in estrogen homeostasis in the prevention of BC and monitoring of the tumor process.

**Key Words:** breast cancer, estrogens, metabolism, cytochrome P450, CYP 1A2, CYP 1B1, superoxide radicals.

Адреса для листування:

Бурлака А.П.

Інститут експериментальної патології,  
онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького  
НАН України

03022, Київ, вул. Васильківська, 45

E-mail: apburlaka@gmail.com

Держано: 12.03.2020