

А.П. Бурлака  
І.І. Ганусевич  
Є.В. Лук'янчук  
Є.П. Сидорик

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

## МІТОХОНДРІАЛЬНИЙ РЕДОКС-КОНТРОЛЬ МАТРИКСНИХ МЕТАЛОПРОТЕЇНАЗ ТА МЕТАСТАЗУВАННЯ У ХВОРИХ НА РАК МОЛОЧНОЇ ЗАЛОЗИ

**Ключові слова:** супероксидний радикал-аніон, матриксні металопротеїнази, мітохондрії, редокс-контроль, рак молочної залози.

**Резюме.** В статті представлено аналіз даних літератури та власних досліджень про механізми мітохондріального редокс-контролю активності матриксних металопротеїназ (ММП) на транскрипційному та посттрансляційному рівнях. Показана залежність активності ММП-2 і ММП-9 в аденокарциномах молочної залози на різних стадіях пухлинного процесу від рівня генерування супероксидних радикалів мітохондріями пухлини та активності Nox нейтрофілів крові хворих, що визначає потенціал прогресування пухлин.

Супероксидні радикал-аніони ( $O_2^{\cdot-}$ ) постійно генеруються в клітинах аеробних організмів в процесі метаболічних реакцій та у відповідь на ендогенні та екзогенні стимули. Дисбаланс, що виникає між утворенням та інактивацією  $O_2^{\cdot-}$  із незворотнім наростанням концентрації останнього та його метаболітів в компартментах клітин, відіграє провідну роль в розвитку патологічних станів, зокрема злякисних новоутворень. Однією з особливостей цього стану є ремоделювання сполучної тканини, обумовлене активацією екстрацелюлярних матриксних металопротеїназ (ММП).

Білки, ліпіди та нуклеїнові кислоти є дуже чутливими до дії радикальних форм кисню (РФК). Мітохондрії в клітині та нещодавно відкриті NADPH-оксидази Nox-родини, що діють поза клітиною, є основними джерелами, які генерують  $O_2^{\cdot-}$ . За фізіологічних умов майже 2% кисню конвертується в супероксидні радикали за умов витоку електронів із I і III комплексів електронтранспортних мембран мітохондрій.  $O_2^{\cdot-}$  є токсичними для клітини через здатність взаємодіяти з біомолекулами та перетворюватися на інші високореакційні метаболіти ( $\cdot OH$ ,  $H_2O_2$ ,  $ONOO^-$  та інші). Токсичність РФК за фізіологічних умов конститутивно обмежується ферментними та неферментними антиоксидантами. Всі аеробні організми мають відповідний набір антиоксидантних систем. Mn-, Cu-, Zn-супероксиддисмутази — єдині антиоксидантні ферменти, активність яких регулюється цитокінами, іонізуючою радіацією та хімічними канцерогенами. Супероксидні радикали та оксид азоту можуть регулювати активність генів багатьох редокс-залежних білків, зокрема і ММП [1].

Мета роботи — провести аналіз даних літератури та власних досліджень механізмів мітохондріального редокс-контролю активності ММП та метастазування злякисних пухлин молочної залози.

**Редокс-регуляція MAP-кіназ (МАРК) та ММП.** Супероксидні радикали є важливими регуляторами

активності цистеїн-вмісних білків. Залишки цистеїну можуть знаходитись як у відновленому (R-SH), так і в окисленому (R-SOH, R-SO<sub>2</sub>H) стані. Багаті на цистеїн мотиви, що є в молекулах більшості рецепторів і сигнальних молекул, є мішенню для редокс-регуляції.  $O_2^{\cdot-}$ -залежна редокс-регуляція незамінна для протікання взаємодій білок-білок і білок-ДНК [2, 3]. Таким чином, РФК можуть брати участь в мітогеніндукованих подіях в клітині — активації тирозинових протеїнкіназ, серин/треонін-протеїнкіназ та факторів транскрипції. Утворення похідних сульфенової кислоти під дією РФК гальмує активність протеїнфосфатаз — регуляторів МАРК [4]. Фосфотирозинфосфатази є мішенями для РФК, так як містять чутливий до супероксидних радикалів залишок цистеїну, а це вказує на здатність редокс-чутливих фосфотирозинфосфатаз (РТР) регулювати ММП через МАРК. Фосфосерин/треонін-фосфатази (PP1 і PP2A) можуть гальмувати експресію ММП-2 [5–7].

ММП регулюються РФК через сигнальні каскади із залученням G-білка Ras і МАРК, активація яких може підвищувати експресію ММП. Близько 30% всіх пухлин людини містять мутантний варіант гена RAS, який конститутивно активує сигнальні каскади, причому супероксидні радикали відіграють важливу роль в цій активації, зокрема при злякисній трансформації [8, 9]. Ras є редокс-чутливим протеїном, який здатен спричинювати внутрішньоклітинне генерування  $O_2^{\cdot-}$  НАДН/НАДФН-оксидазами. Супероксидні радикали активують Ras через окисну модифікацію Cys-118. Встановлено, що  $O_2^{\cdot-}$ , який продукується NADPH-оксидазою нейтрофілів (N), окиснює Cys-188 Ras в клітинах гладких м'язів судин [10, 11]. Супероксидна активація Ras включає приєднання до цього білка фосфатидилінозитол-3'-кінази (PI3K), що є необхідною умовою для активації ММП через МАРК. Так, було встановлено, що активація Ras є критичною і достатньою подією для активації ММП-2 та ММП-9 в пухлинах [12, 13].

Основними мішенями, через які реалізується вплив супероксидних радикалів на ММП, є зазначені вище МАРК і РІЗК. Так, показано здатність  $O_2^-$  підвищувати фосфорилування каскаду p38 в кератиноцитах та ендотелії аорти людини. Активація інтегринів фібробластів і фосфорилування та транслокація c-Jun в ядро також пов'язані із внутрішньоклітинним зростанням рівнів супероксидних радикалів [14–16].

Трансформуючий фактор росту бета-1 (ТФРβ1) та епідермальний фактор росту (EGF) активують генерування внутрішньоклітинних супероксидних радикалів та фосфорилування регуляторної кінази ERK [17–19]. Таким чином, мітохондріальні та генеровані оксидазами  $Nox O_2^-$  регулюють сигнальний каскад МАРК, який в свою чергу індукує активність ММП.

Активація кіназ може бути наслідком окисного гальмування тирозинфосфатаз. Показано, що високі рівні РФК можуть інактивувати РТР, РТР1В [20–22]. Мітохондріальні  $O_2^-$  та  $O_2^{\cdot -}$ , що генеруються  $Nox$  при активації нейтрофілів, можуть досягати цитоплазматичної мембрани цих клітин та клітин, на які направлена їхня дія. В цьому випадку  $O_2^-$  можуть спричинювати редокс-ефекти відносно мембранних кіназ і фосфотирозинфосфатаз. Кооперація декількох сигнальних шляхів МАРК у транскрипційній регуляції ММП у відповідь на екзогенні та ендогенні впливи також є редокс-чутливою.

#### Радикальні форми кисню та експресія генів ММП.

При редокс-регуляції активності МАРК змінюється рівень експресії генів, що кодують ММП, внаслідок модуляції активності факторів транскрипції [23]. Супероксидні радикали підвищують рівні AP-1 і NF-κB та викликають їх транслокацію в ядра пухлинних клітин. Також встановлено, що супероксидні радикали можуть спричиняти зниження транскрипційної активності генів, що кодують ММП, через окиснення критичних залишків цистеїну у ДНК-зв'язаних доменах цих факторів [24–26]. Так, зв'язування AP-1 і NF-κB з ДНК залежить від ступеня окиснення залишків цистеїну в білкових молекулах Fos/Jun. Заміщення Cys-154 в білковій молекулі Fos або Cys-272 в Jun на серин спричинює втрату ними чутливості до редокс-регуляції та здатності взаємодіяти з ДНК. Фактори транскрипції Ets — це родина протеїнів типу спіраль — спіраль — поворот, які містять Ets-домен, що чутливий до дії  $O_2^-$ . Експресія Ets-1 і Ets-2, фосфорилування яких здійснюється ERK-кіназою по троніну-38 N-термінального домену, підвищена у багатьох пухлинах. Генерування  $O_2^-$  підвищують рівні мРНК Ets-1 і Ets-2 в клітинах аорти, що активує ММП, ангиогенез, проліферацію та міграцію клітин [24–29].

**$O_2^-$ -залежна активація ММП.** Рівень активності ММП регулюється супероксидними радикалами на транскрипційному і посттрансляційному рівнях, тобто РФК регулюють експресію генів та активність ММП. ММП секретуються в латентній (неактив-

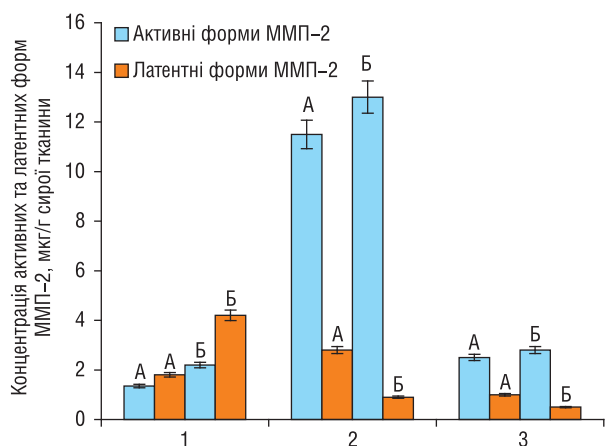
ній) формі і містять інгібіторний домен. Неактивна конформація цих білків підтримується взаємодією між SH-групами залишків цистеїнів у складі домену та атомами  $Zn^{2+}$  у складі каталітичного сайту. Активація ММП відбувається при розриві  $Zn^{2+}$ -SH-зв'язків. Взаємодія РФК з SH-групами цистеїнових залишків зворотня, модифікація цих зв'язків є ключовою подією аутоактивації ММП [30].

Супероксидні радикали активують ММП-2 і ММП-9 (желатинази), переводячи латентні форми в активні при їх екскреції Н людини для взаємодії з клітинами-мішенями [31], а також в міжклітинному матриці тканин при деградації желатину IV типу [32, 33]. Показано, що генерування супероксидних радикалів Н посилює активність ММП-2 в клітинах HT1080, що корелює з рухливістю клітин та їх інвазивністю [34, 35]. Ліпоперекиси, що утворюються в клітинах під дією РФК, також можуть активувати ММП. Так, головний компонент окиснених ліпопротеїдів низької щільності лізофосфатидилхолін може активувати ММП-2 через активацію генерування Н  $O_2^-$  [36].

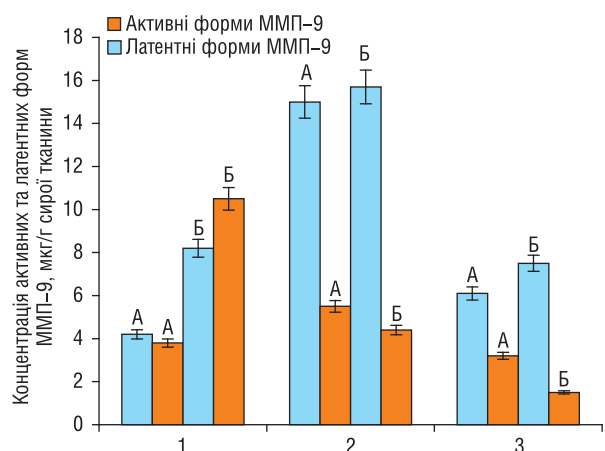
Раніше нами в експериментах *in vitro* було показано, що при інкубації клітин раку шлунка людини з Н різної активності (рівні швидкості генерування  $O_2^-$  становили 2,56 і 5,2 нмоль/5,7·10<sup>3</sup> клітин·хв) хворих на рак шлунка кількість продукованих ними активних форм желатинази зростала залежно від активності Н, а латентних форм — відповідно знижувалася [37].

Нами також проведено порівняльне дослідження впливу Н на концентрації активних і латентних форм ММП-2 і -9, продукованих клітинами пухлини хворих на рак молочної залози (РМЗ) I та IV стадії з наявними та відсутніми віддаленими метастазами (Mт) (рівні швидкості генерування  $O_2^-$  Н становили 1,56 та 3,62 нмоль/10<sup>3</sup> клітин·хв). Дослідження проведено на пухлинах, видалених у 28 хворих (10 хворих I стадії і по 9 хворих IV стадії РМЗ з наявними віддаленими Mт та без них). Швидкість генерування супероксидних радикал-аніонів нейтрофілами крові вивчали методом ЕПР (ЕПР-спектрометр РЭ 1307, Росія) з використанням технології Spin Traps (спіновий уловлювач 1-гідрокси-2,2,6,6-тетраметил-4-оксипіридин) [1]. Рівні синтезу NO, які продукуються iNOS Н, вимірювали методом ЕПР з використанням спінового уловлювача диетилдитіокарбамату (ДЕТК, «Sigma») [1]. Концентрації активних та латентних форм ММП-2 та -9 визначали відповідно до методики зимографії у поліакриламідному гелі [37]. Статистичну обробку даних проводили з використанням параметричного та корелятивного аналізу за допомогою програми Statistiks 6.0.

На рис. 1 і 2 представлені результати цих досліджень. Пухлинні клітини МЗ хворих I стадії захворювання характеризуються значним потенціалом активності ММП, який реалізується при наростанні швидкості генерування супероксидних радикалів Н.



**Рис. 1.** Концентрація активних та латентних форм ММП-2 в тканині аденокарциноми молочної залози I стадії (1), IV стадії без віддалених Мт (2), IV стадії з віддаленими Мт (3) до (А) та після (Б) інкубації з Н



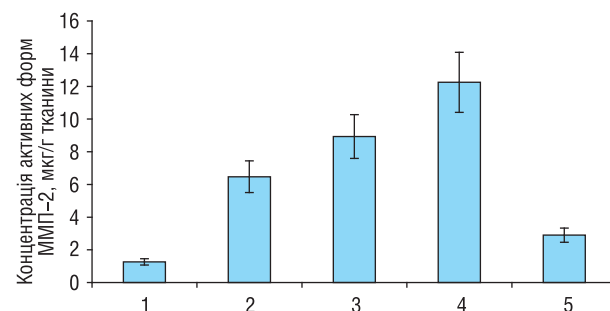
**Рис. 2.** Концентрація активних та латентних форм ММП-9 в аденокарциномі молочної залози I стадії (1), IV стадії без віддалених Мт (2) та IV стадії з віддаленими Мт (3) до (А) та після (Б) інкубації з Н

Так, після інкубації пухлинних клітин з Н, що генерували  $O_2$  зі швидкістю  $1,56 \text{ нмоль}/10^3 \text{ клітин} \cdot \text{хв}$  протягом 6 год при  $t = 37^\circ \text{C}$ , концентрації активних форм ММП-2 і ММП-9 були  $1,35 \pm 0,1$  і  $4,2 \pm 0,16$ , а латентних —  $1,8 \pm 0,25$  і  $3,8 \pm 0,39$  мкг/г тканини відповідно. Інкубація цих пухлинних клітин з Н, що генерували  $O_2$  зі швидкістю  $3,62 \text{ нмоль}/10^3 \text{ клітин} \cdot \text{хв}$ , призвела до значного (в 2–3 рази) зростання концентрацій як активних, так і латентних форм обох ферментів. На відміну від пухлинних клітин хворих I стадії, пухлинні клітини хворих РМЗ IV стадії без віддалених Мт після їх інкубації з активованими Н (швидкість генерування  $O_2$  —  $3,62 \text{ нмоль}/10^3 \text{ клітин} \cdot \text{хв}$ ) збільшили продукцію активних, але зменшили продукцію латентних форм желатиназ. Інкубація за тих самих умов пухлинних клітин хворих IV стадії з наявними віддаленими Мт майже не вплинула на рівні продукування ними активних і латентних форм ММП-2 та -9. Таким чином,  $O_2$ -залежна регуляція потенціалу желатиназної активності пухлинних клітин на I стадії захворювання реалізується як на рівні синтезу, так і на рівні активації латентних форм ферментів. На IV стадії захворювання без віддалених Мт відбувається зростання кон-

центрацій активних форм ММП-2 та -9, продукованих пухлинними клітинами, внаслідок  $O_2$ -залежної активації їхніх латентних форм. IV стадія пухлинного процесу за наявності віддалених Мт характеризується відсутністю відповіді досліджуваних ферментних систем в пухлині на дію  $O_2$ . Це може свідчити про виснаженість систем синтезу латентних форм ММП та/або їх окисне пошкодження за умов наявності сформованих Мт. Отримані результати свідчать про важливу роль редокс-регуляції активності ММП-2 та -9 на етапах інвазії та утворення віддалених метастатичних вузлів.

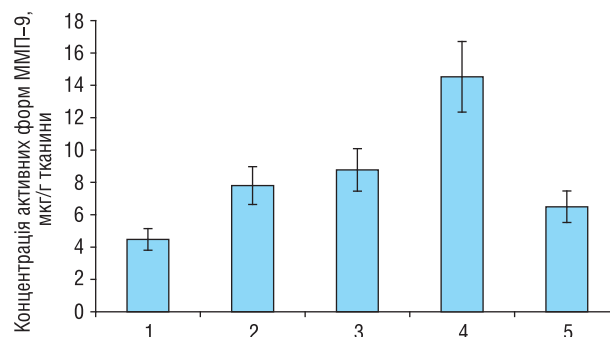
**Супероксидні радикал-аніони, ММП-2 і ММП-9 та метастазування.** Відомо, що деградація міжклітинного матриксу супроводжує кожний етап метастазування: відщеплення пухлинних клітин, інтравазацію, циркуляцію, екстравазацію та формування віддалених Мт. ММП сприяють метастазуванню пухлин шляхом розщеплення компонентів базальної мембрани й екстрацелюлярного матриксу, включаючи желатин, колаген, фібрин, ламінін та протеоглікани [38–41]. Висока активність ММП-2 та ММП-9 зареєстрована нами в пухлинах молочних залоз, шлунка, прямої та ободової кишки.

Так, нами обстежено 52 хворих на РМЗ віком від 35 до 78 років. Пацієнти розподілилися на стадії наступним чином: I — 10, II — 13, III — 11, IV — 18 (рис. 3).



**Рис. 3.** Концентрація активних форм ММП-2 в РМЗ різних стадій: I (1), II (2), III (3), IV без Мт (4), IV з Мт (5).

При цьому для I стадії характерні відносно невисокі значення активності ММП-2, значно вищі (в 5–10 разів) середні показники відмічаються у хворих II та III, а особливо IV стадії без Мт. Для IV стадії з Мт, коли деструктивні зміни розвинені максимально, відмічено суттєве (в 4 рази) зниження активності ММП-2 порівняно з IV стадією без Мт. Така динаміка показників характерна і для ММП-9 (рис. 4).

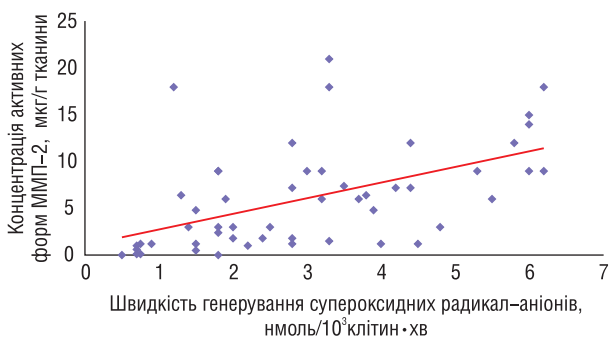


**Рис. 4.** Концентрація активних форм ММП-9 в РМЗ різних стадій: I (1), II (2), III (3), IV без Мт (4), IV з Мт (5).

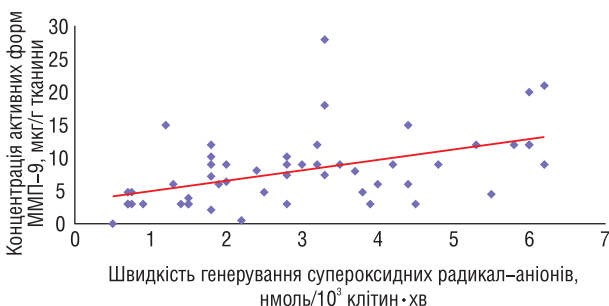
## ВЗГЛЯД НА ПРОБЛЕМУ

Вірогідно, наростання концентрацій активних форм желатиназ характерне для тих етапів пухлинного процесу, коли відбувається активна інвазія пухлини та формування майбутніх Мт (відрив, інтравасазія, циркуляція, екстравазація та осідання пухлинних клітин в сайтах віддаленого метастазування). На IV стадії захворювання, коли утворення метастатичних фокусів загалом відбулося (Мт клінічно реєструються), немає необхідності в посиленій деструкції міжклітинного матриксу, а значить, у відповідній активності ММП. Зазначимо, що такий характер залежності активності желатиназ від стадії захворювання лише частково співвідноситься із результатами деяких робіт, виконаних на РМЗ. В більшості робіт показано підвищення експресії ММП на IV стадії, а в деяких навпаки — зниження цих значень. Необхідно підкреслити, що авторами визначалася саме експресія, а не рівень активності ММП і хворих з Мт не виділяли в окрему групу [42].

Зважаючи на отримані нами корелятивні залежності концентрацій активних форм ММП-2 та -9 від швидкості генерування мітохондріальних супероксидних радикалів в аденокарциномі молочної залози (коефіцієнти кореляції 0,52 та 0,49 відповідно;  $p < 0,05$ ) (рис. 5, 6) та вищенаведені дані літератури, можна стверджувати, що в поетапній регуляції деструкції міжклітинного матриксу в процесі метастазування РМЗ задіяні  $O_2^-$ , які як молекули-месенджери через відповідні сигнальні шляхи контролюють активності желатиназ як на рівні синтезу, так і на рівні активації ферментів.



**Рис. 5.** Корелятивна залежність концентрації активних форм ММП-2 від швидкості генерування мітохондріальних супероксидних радикалів в аденокарциномі молочної залози (коефіцієнт кореляції 0,52;  $p < 0,05$ ).



**Рис. 6.** Корелятивна залежність концентрації активних форм ММП-9 від швидкості генерування мітохондріальних супероксидних радикалів в аденокарциномі молочної залози (коефіцієнт кореляції 0,49;  $p < 0,05$ ).

Низкою авторів виявлена залежність між швидкістю генерування  $O_2^-$ , концентраціями активних форм ММП-2 і -9, поганим прогнозом та виживаністю хворих на рак [43–50]. Показано, що швидкість генерування  $O_2^-$  й експресія та/або активність ММП підвищуються в пухлинах, що метастазують. Рівні швидкості генерування  $O_2^-$  є ключовими факторами на всіх етапах формування злоякісних пухлин і їх інвазії, а ММП-2 і ММП-9 сприяють прогресії пухлин. В промоторах ММП знайдені генетичні варіації, які сприяють прогресії пухлин. Ці варіації включають мононуклеотидний поліморфізм (SNP)-1607 bp, де гуанін (G) формує Ets-зв'язуючий сайт 5'-GGAT-3', що підвищує транскрипцію ММП. 62% пухлин несуть 2G-поліморфізм, серед них рак яєчника, меланома, рак легені, карцинома нирки, рак шлунка, колоректальний рак і рак ендометрія, для яких характерними є високі рівні генерування РФК, високі рівні активності ММП та агресивність пухлин [43–51]. Таким чином, генерування пухлиною високих рівнів  $O_2^-$ , активності ММП, а також 2G-генотип обумовлюють агресивність та метастазування пухлин. Mn-SOD (SOD-2), що функціонує в мітохондріях і активність якої зростає при підвищенні рівнів  $O_2^-$  в цій органелі, може бути використана в якості показника для прогнозування перебігу захворювання у хворих не лише на РМЗ, але й на рак шлунка, стравоходу, колоректальний рак [52, 53]. Зростання рівнів  $O_2^-$  та редокс-залежне зростання активності СОД-2, TNF- $\alpha$ , AP-1 IL-1, IL-6, IL-8 створює окисне навантаження в організмі, що активує транскрипцію генів, асоційованих із запаленням, включаючи ММП, та посилення метастазування.

## ВИСНОВКИ

1. Висока швидкість генерування супероксидних радикалів в пухлинах молочної залози зумовлена утворенням цих радикалів мітохондріями та фагоцитуючими і нефагоцитуючими Н.

2. Мітохондріальні супероксидні радикали впливають на  $O_2^-$ , NO- та ММП-продукуючу активність Н, які інфільтрують первинну пухлину та готують «ніші» для віддаленого метастазування при прогресуванні пухлин.

3. Супероксидні радикали, регулюючи активність ММП на транскрипційному та посттрансляційному рівнях, контролюють деградацію міжклітинного матриксу, що забезпечує процеси інвазії та метастазування пухлини.

4. Швидкість генерування  $O_2^-$ , активність ММП-2 та ММП-9 визначають ступінь злоякісності та швидкість прогресування пухлини та можуть бути використані в якості маркерів прогнозування та контролю перебігу захворювання.

## ЛІТЕРАТУРА

1. Бурлака АП, Сидорик ЄП. Радикальні форми кисню та оксиду азоту при пухлинному процесі. Київ: Наукова думка, 2006. 228 с.
2. Cully M, Downward J. Translational responses to growth factors and stress. *Biochem Soc Trans* 2009; 37: 284–8.



3. **Fan C, Zhou X, Wang X, et al.** Heat Shock Protein Interacting With Phosphorylated Akt Reduces Doxorubicin-Triggered Oxidative Stress and Cardiotoxicity. *Circ Res* 2008; **103** (11): 1270–9.
4. **Jackson LN, Evers BM.** Regulation of proliferation, apoptosis and cell cycle in gastrointestinal disorders. *Curr Opin Pharmacol* 2009; **9** (6): 708–14.
5. **Weaver AM.** Regulation of Cancer Invasion by Reactive Oxygen Species and Family Scaffold Proteins. *Sci Signal* 2009; **2**: 56–61.
6. **Droge W.** Oxidative stress and ageing: is ageing a cysteine deficiency syndrome? *Phil Trans R Soc B* 2005; **369**: 2355–72.
7. **Cheng-Yu C, Devina W, Johannes R.** Redox Regulation of SH2-Domain-Containing Protein Tyrosine Phosphatases by Two Backdoor Cysteines. *Biochem* 2009; **48** (6): 1399–409.
8. **Youngmi K, Dooil J.** The cancer testis antigen CAGE induced MMP-2 through the activation of NF-kB and AP-1. *BMB report* 2009; **42** (11): 758–67.
9. **Lee M, Ann JY, Eum KH.** The Difference in Biological Properties between Parental and v-Ha-ras Transformed NIH3T3 cells. *Cancer Res Treat* 2009; **41** (2): 93–9.
10. **Wu RF, Terada LS.** Ras and Nox: Linked signaling networks? *Free Rad Biol Med* 2009; **47** (9): 1276–81.
11. **Jack R, Lancaster JR.** Protein cysteine thiol nitrosation: Marker or marker of reactive nitrogen species-induced nonerythroid cellular signalling. *Nitric Oxide Cancer: Clin Ther Impl* 2008; **19** (2): 68–72.
12. **Luo X, Cai H, Ni J, et al.** c-Jun DNAszymes Inhibit Myocardial Inflammation, ROS Generation, Infarct Size, and Improve Cardiac Function After Ischemia-Reperfusion Injury. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2009; **29**: 1836–42.
13. **Kim EY, Seo JM, Cho KJ, et al.** Ras-induced invasion and metastasis are regulated by a leukotriene B4 receptor BLT2-linked pathway. *Oncogene* 2009; **10**: 412–5.
14. **Svineng G, Ravuri Ch, Rikardsen O, et al.** The Role of Reactive Oxygen Species in Integrin and Matrix Metalloproteinase. Expression and Function. *Connect Tissue Res* 2008; **49** (3–4): 197–202.
15. **Rudolph TK, Freeman BA.** Transduction of Redox Signaling by electrophile-Protein Reactions. *Sci Signal* 2009; **2** (90): 7.
16. **Martínez MC, Andriantsitohaina R.** Reactive Nitrogen Species: Molecular Mechanisms and Potential Significance in Health and Disease. *Antioxid Redox Signal* 2009; **11** (3): 669–702.
17. **Iima M, Kakihamo K, Kursu T, et al.** Reactive oxygen species generated by hematopoietic cytokines play roles in activation of receptor-mediated signaling and in cell cycle progression. *Cell Signal* 2006; **18**: 174–82.
18. **Joo-Yun B, Min-Jung K, Chang-Hwan Y, et al.** Signaling and Regulation: Oncogenic Ras Signals through Activation of Both Phosphoinositide 3-Kinase and Rac1 to Induce c-Jun NH2-Terminal Kinase-Mediated, Caspase-Independent Cell Death. *Mol Cancer Res* 2009; **7**: 1534–42.
19. **Fan Y, Zhang YL, Zheng S.** Effects of phosphatase of regenerating liver cell-3 gene silence by RNA interference on the expression of matrix metalloproteinases-2,-9 in human colon cancer cells. *Zhonghua Wei Chang Wai Ke Za Zhi* 2008; **11**: 477–81.
20. **Fernandes DC, Manoel AN, Wosniak J, et al.** Protein disulfide isomerase overexpression in vascular smooth muscle cells induces spontaneous preemptive NADPH oxidase activation and Nox1 mRNA expression: effects of nitrosothiol exposure. *Arch Biochem Biophys* 2009; **484**: 197–204.
21. **Lippincott W.** Reactive Oxygen Species and Mitogen-activated Protein Kinase Activation in the Development of Burkitt's Lymphoma in Crohn Disease. *J Clin Gastroenter* 2009; **43**: 598–9.
22. **Shani V, Bromberg Y, Sperling O, et al.** Involvement of Src Tyrosine Kinases (SFKs) and of Focal Adhesion Kinase (FAK) in the Injurious Mechanism in Rat Primary Neuronal Cultures Exposed to Chemical ischemia. *J Mol Neurosci* 2009; **37** (1): 50–9.
23. **Naidu S, Vijayan V, Santoso S, et al.** Inhibition and Genetic Deficiency of p38 MAPK Up-Regulates Heme Oxygenase-1 Gene Expression via Nrf2. *J Immunol* 2009; **182**: 7048–57.
24. **Sommerfeld A, Reinehr R, Häussinger D.** Bile Acid-induced Epidermal Growth Factor Receptor Activation in Quiescent Rat Hepatic Stellate Cells Can Trigger Both Proliferation and Apoptosis. *J Biol Chem* 2009; **284**: 22173–83.
25. **Jackson L, Cady CT, Cambier JC.** TLR4-Mediated Signaling Induces MMP9-Dependent Cleavage of B Cell Surface CD23. *J Immunol* 2009; **183**: 2585–92.
26. **Nelson KK, Subbaram S, Connor KM, et al.** Redox-dependent Matrix Metalloproteinase-1 Expression Is Regulated by JNK through Ets and AP-1 Promoter Motifs. *J Biol Chem* 2006; **281** (20): 14100–10.
27. **El-Najjar N, Chatila M, Moukadem H, et al.** Oxygen species mediate thymoquinone-induced apoptosis and activate ERK and JNK signaling. *Apoptosis* 2009; **15**: 183–95.
28. **Namgaladze D, Kollas A, Brune B.** Oxidized LDL attenuates apoptosis in monocytic cells by activating ERK signaling. *J Lipid Res* 2008; **49**: 58–65.
29. **Oh J, Hur MW, Lee CE.** SOCS1 protects protein tyrosine phosphatases by thioredoxin upregulation and attenuates Jaks to suppress ROS-mediated apoptosis. Antipapoptotic functions of SOCS. *Oncogene* 2009; **28**: 3145–56.
30. **Koch S, Volkmar ChM, Kolb-Bachofen V, et al.** A new redox-dependent mechanism of MMP-1 activity control comprising reduced low-molecular-weight thiols and oxidizing radicals. *J Mol Med* 2009; **87** (3): 261–72.
31. **Yu F, Kamada H, Niizuma K, et al.** Induction of MMP-9 Expression and Endothelial Injury by Oxidative Stress after Spinal Cord Injury. *J Neurotrauma* 2008; **25** (3): 184–95.
32. **Lu L, Gunja-Smith Z, Woessner JF, et al.** Matrix metalloproteinases and collagen ultrastructure in moderate myocardial ischemia and reperfusion in vivo. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2000; **279** (2): 601–9.
33. **Xia C, Meng Q, Liu LZ, et al.** Reactive Oxygen Species Regulate Angiogenesis and Tumor Growth through Vascular. *Cancer Res* 2007; **67**: 10823–30.
34. **Craig N, Morrell CN.** Reactive oxygen species: Finding the right balance. *Circ Res* 2008; **103** (6): 571–2.
35. **Lund AK, Lucero J, Lucas S, et al.** Vehicular Emissions Induce Vascular MMP-9 Expression and Activity Associated With Endothelin-1-Mediated Pathway. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2009; **29**: 511.
36. **Mannheim D, Herrmann J, Versari D, et al.** Enhanced Expression of Lp-PLA2 and Lysophosphatidylcholine in Symptomatic Carotid Atherosclerotic Plaque. *Stroke* 2008; **39**: 1448–55.
37. **Burlaka AP, Sidorik EP, Ganusevich II, et al.** Effects of radical oxygen species and NO: formation of intracellular hypoxia and activation of matrix metalloproteinases in tumor tissues. *Exp Oncol* 2006; **28** (1): 49–53.
38. **Yu F, Kamada H, Niizuma K, et al.** Induction of MMP-9 Expression and Endothelial Injury by Oxidative Stress after Spinal Cord Injury. *J Neurotrauma* 2008; **25** (3): 184–95.
39. **She ZG, Zheng W, Wei YSH, et al.** Human Paraoxonase Gene Cluster Transgenic Overexpression Represses Atherosclerosis and Promotes Atherosclerotic Plaque Stability in ApoE-Null Mice. *Circ Res* 2009; **104**: 1160–5.
40. **Hempel N, Hanqing Y, Abessi B, et al.** Altered redox status accompanies progression to metastatic human bladder cancer. *Free Rad Biol Med* 2009; **46** (1): 42–50.
41. **Tsutsui H, Kinugawa Sh, Matsushima Sh.** Mitochondrial oxidative stress dysfunction in myocardial remodeling. *Cardiovasc Res* 2009; **81** (3): 449–56.
42. **Turpeeniemi-Hujanen T.** Gelatinases (MMP-2 and -9) and their natural inhibitors as prognostic indicators in solid cancers. *Biochimie* 2005; **87**: 287–97.
43. **Zawiślak D, Borratyńska A, Tomik B, et al.** Polimorfizm C(-1562)T promotora genu metaloproteinazy macierzy 9 jako czynnik ryzyka rozwoju sporadycznej postaci stwardnienia bocznego zanikowego. *Neurologia i Neurochirurgia Polska* 2009; **43** (2): 121–5.
44. **Park JM, Kim A, Oh JH, et al.** Methylseleninic acid inhibits PMA-stimulated pro-MMP-2 activation mediated by MT1-MMP

expression and further tumor invasion through suppression of NF- $\kappa$ B activation. *Carcinogenesis* 2007; **28** (4): 837–47.

45. Wilkins-Port CE, Mazurkiewicz QYeE, Higgin PJ. TGF- $\beta$ 1 + EGF-Initiated Invasive Potential in Transformed Human Keratinocytes Is Coupled to a Plasmin/MMP-10/MMP-1-Dependent Collagen Remodeling Axis: Role for PAI-1. *Cancer Res* 2009; **69** (9): 4081–91.

46. Mohan A, Venkatesan N, Mallikarjuna K, et al. Expression of Matrix Metalloproteinases and Their Inhibitors in Retinoblastoma. *J Pediatr Hematol Oncol* 2007; **29** (6): 399–405.

47. Knöfler M, Simmons DG, Lash GE, et al. Regulation of Trophoblast Invasion – A Workshop Report. *Placenta* 2008; **29**: 26–8.

48. Pustovrh MC, Jawerbaum A, White V, et al. The role of nitric oxide on matrix metalloproteinase 2 (MMP2) and MMP9 in placenta and fetus from diabetic rats. *Reproduct* 2007; **134**: 605–13.

49. Ho-Tin-Noé B, Goerge T, Denisa D, et al. Platelets: Guardians of Tumor Vasculature. *Cancer Res* 2009; **69**: 5623–6.

50. Diekmann U, Zarbock R, Hendig D, et al. Elevated circulating levels of matrix metalloproteinases MMP-2 and MMP-9 in pseudoxanthoma elasticum patients. *J Mol Med* 2009; **87** (10): 965–70.

51. Bedard K, Krause KH. The NOX Family of ROS-Generating NADPH Oxidases: Physiology and Pathophysiology. *Physiol Rev* 2007; **87** (1): 245–313.

52. Bag A, Bag N. Target Sequence Polymorphism of Human Manganese Superoxide Dismutase Gene and Its Association with Cancer Risk: *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev* 2008; **17**: 3298–330. Holtan SHG, Creedon DJ, Haluska P, et al. Cancer and Pregnancy: Parallels in Growth, Invasion, and Immune Modulation and Implications for Cancer Therapeutic Agents. *Mayo Clin Proc* 2009; **84** (11): 985–1000.

53. Beeghly-Fadiel A, Lu W, Long JR, et al. Matrix Metalloproteinase-2 Polymorphisms and Breast Cancer Susceptibility. *Epidemiol Biomarkers Prev* 2009; **18**: 1770–6.

## MITOCHONDRIAL REDOX-CONTROL MATRIX METALLOPROTEINASES ACTIVITY AND BREAST CANCER METASTASIS

A.P. Burlaka, I.I. Ganusevich, E.V. Lukyanchuk, E.P. Sidorik

**Summary.** *In this review, we discuss mitochondrial redox-control mechanisms of regulation MMP activation. Redox-control MMP activity occurs at different levels and involves factors such as regulation of transcription and posttranslational modifications. However, particularly in breast cancer adenocarcinomas, MMP-2 and -9 are associated with the high production of mitochondrial ROS and Nox activation in neutrophils. Recent review summarizes the evidence that implicates ROS as key regulators of MMP production and the importance of these interactions in cancer.*

**Key Words:** reactive oxygen species, matrix metalloproteinases, mitochondria, redox-control, breast cancer.

### Адреса для листування:

Бурлака А.П.  
03022, Київ, вул. Васильківська, 45  
Інститут експериментальної патології,  
онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького  
НАН України  
E-mail: ap\_burlaka@email.ua