

А.П. Бурлака
І.І. Ганусевич
А.В. Вовк

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

Ключові слова: супероксидні радикали, матриксні металопротеїнази, мітохондрії, рак молочної залози, метастазування.

СУПЕРОКСИДНІ РАДИКАЛИ: ІНІЦІАЦІЯ МЕТАСТАЗУВАННЯ У ХВОРИХ НА РАК МОЛОЧНОЇ ЗАЛОЗИ

Однією із особливостей розвитку злоякісних пухлин є ремоделювання міжклітинного матриксу, зумовлене активацією матриксних металопротеїназ (ММП) супероксидними радикалами (СР). Мітохондрії (Мх) та NADP·H-оксидази (Nox) у позаклітинному мікрооточенні є основними джерелами генерування СР, які регулюють активність генів редоксзалежних білків, зокрема ММП. **Мета:** дослідити рівні СР в Мх клітин раку молочної залози (РМЗ) та їх вплив на активність ММП-2 та -9 і метастазування. **Об'єкт і методи:** досліджено зразки тканини пухлин 69 хворих на РМЗ I–IV стадії (T1–4N0–2M0–1) віком від 31 до 75 років: 15 — I, 14 — II, 13 — III, 27 — IV стадії захворювання (з них 17 — категорії M1, 10 — M0). Супероксид-генеруючу активність нейтрофілів (Н) крові вивчали методом електронного парамагнітного резонансу на комп'ютеризованому ЕПР-спектрометрі PE-1307 з використанням технології Spin Traps за кімнатної температури (1-гідрокси-2,2,6,6-тетраметил-4-оксипіперидин). Рівень СР в Мх клітин РМЗ визначали за допомогою спінового уловлювача TEMPO-H. Активність ММП-2 та -9 встановлювали методом зимографії у поліакриламідному гелі. **Результати:** виявлено пряму кореляційну залежність між активністю ММП-2 та -9 і швидкістю генерування СР Мх клітин РМЗ ($r = 0,61$, $r = 0,56$ відповідно; $p < 0,05$). Встановлено, що після інкубації клітин пухлини з Н, що генерували СР зі швидкістю $1,82 \text{ нмоль}/10^6 \text{ клітин}\cdot\text{хв}$, протягом 6 год при $t = 37^\circ\text{C}$ активність ММП-2 і -9 становила $1,43 \pm 0,13$ і $4,54 \pm 0,19$ у. о., а їх латентних форм — $1,88 \pm 0,16$ і $3,88 \pm 0,12$ у. о. відповідно. Інкубація клітин пухлини з Н, що генерували СР зі швидкістю $4,31 \text{ нмоль}/10^6 \text{ клітин}\cdot\text{хв}$, призвела до значного (в 2–3 рази) зростання рівнів активних і латентних форм обох ферментів. Для РМЗ I стадії характерні відносно невисокі значення активності ММП-2 та -9, значно вищі середні показники спостерігаються у хворих на РМЗ II, III та особливо IV стадії без метастазів. У хворих категорії M1 відмічено зниження активності ММП-2 та -9 порівняно з хворими групи M0 відповідно у 4 та 2 рази. **Висновки:** зростання швидкості генерування СР у клітинах пухлини та позаклітинному матриксі є критичною і достатньою подією для активації ММП в пухлинах. При РМЗ СР генеруються Мх і Н, які інфільтрують первинну пухлину. Ступінь індукції СР ММП-2 та -9 визначає злоякісний фенотип пухлин та їхній метастатичний потенціал. Отримані результати свідчать про важливу роль редокс-регуляції активності ММП-2 та -9 на етапах інвазії та утворення віддалених метастатичних вузлів.

ВСТУП

Супероксидні радикали (СР) постійно генеруються в клітинах аеробних організмів у процесі метаболічних реакцій та у відповідь на ендогенні та екзогенні стимули. Дисбаланс, що виникає між утворенням та інактивацією СР з незворотним наростанням концентрації та їх метаболітів у компартментах клітин, відіграє провідну роль у розвитку патологічних станів, зокрема злоякісних новоутворень. Однією з особливостей цього стану є ремоделювання міжклітинного матриксу, зумовлене активацією матриксних металопротеїназ (ММП). Білки, ліпіди та нуклеїнові кислоти є чутливими до дії СР. Міто-

хондрії (Мх) та NADP·H-оксидази (Nox), що діють поза клітиною, є основними джерелами СР. СР можуть регулювати активність генів редоксзалежних білків, зокрема і ММП [1–7].

Мета роботи — дослідити рівні СР в Мх клітин раку молочної залози (РМЗ) та їх вплив на активність ММП-2 та -9 і метастазування.

ОБ'ЄКТ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Досліджено зразки тканини пухлин 69 хворих на РМЗ I–IV стадії (T1–4N0–2M0–1) віком 31–75 років: 15 — I, 14 — II, 13 — III, 27 — з IV стадією захворювання (із них 17 — з наявними віддале-

ними метастазами, 10 — без них). Хворі проходили лікування в Національному інституті раку Міністерства охорони здоров'я України. Дослідження виконували відповідно до принципів проведення біомедичних досліджень, викладених у Гельсінській декларації Всесвітньої медичної асоціації. Пацієнти були проінформовані та дали згоду на використання хірургічного матеріалу в дослідницьких цілях. У 100% випадків пухлини молочної залози за гістологічним типом були аденокарциномами. Досліджено вплив СР, генерованих нейтрофілами (Н), на активність ММП-2 і -9 у тканині РМЗ. Супероксид-генеруючу активність Н крові вивчали методом електронного парамагнітного резонансу на комп'ютеризованому ЕПР-спектрометрі PE-1307 з використанням технології Spin Traps за кімнатної температури. Як спіновий уловлювач використовували 1-гідрокси-2,2,6,6-тетраметил-4-оксипіперидин («Sigma») [8]. Швидкість генерування СР Н становила 1,82 та 4,31 нмоль/10⁵ клітин·хв. Рівень СР в Мх клітин РМЗ визначали за допомогою спінового уловлювача TEMPO-H («Sigma») [9]. Активність ММП-2 і -9 встановлювали методом зимографії у поліакриламідному гелі [10]. Статистичну обробку даних проводили за допомогою програм Statistica та Excel. На рисунках наведено достовірні результати при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Виходячи з даних, отриманих іншими авторами, та результатів власних досліджень, можна стверджувати, що в поетапній регуляції деструкції міжклітинного матриксу в процесі метастазування РМЗ задіяні СР, які, як молекули-месенджери через відповідні сигнальні шляхи, контролюють активність ММП як на рівні синтезу, так і на рівні активації цих ферментів [11–13]. Ми виявили пряму залежність між активністю ММП-2 і -9 та швидкістю генерування СР Мх клітин в аденокарциномах молочної залози (рис. 1). За показником швидкості генерування СР Мх хворі були розділені на 2 групи відносно медіани — 2,83 нмоль/г тканини·хв. У групі з низькою швидкістю генерування СР показники активності желатиназ у 1,5–2,0 раза нижчі від таких в групі з високою швидкістю генерування СР. Визначено пряму позитивну кореляцію між швидкістю генерування СР та активністю ММП-2 і -9 (коефіцієнти кореляції 0,61 та 0,56 відповідно; $p < 0,05$).

На основі отриманих даних щодо редоксзалежної регуляції активності ММП було проведено експеримент *in vitro* — інкубації клітин РМЗ з Н з різною швидкістю генерування СР.

На рис. 2 та 3 наведено дані щодо інкубації клітин РМЗ з Н, супероксид-генеруюча активність яких становила 4,31 нмоль/10⁵ клітин·хв.

Клітини РМЗ хворих із I стадією пухлинного процесу характеризуються значним потенціалом активності ММП, який реалізується при зростанні супероксид-генеруючої активності Н. Так, після інкубації

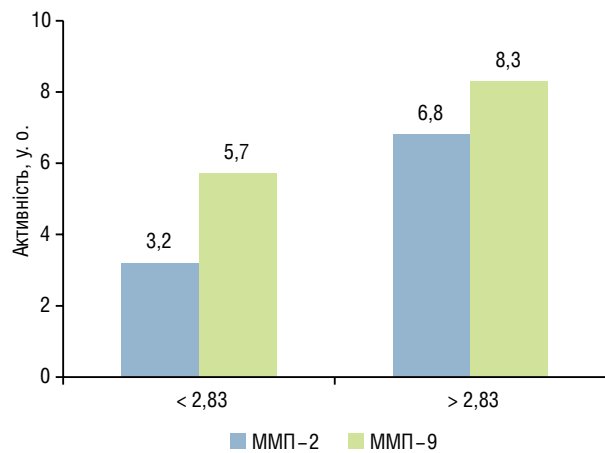


Рис. 1. Залежність активності ММП-2 та -9 від швидкості генерування СР в Мх клітин РМЗ

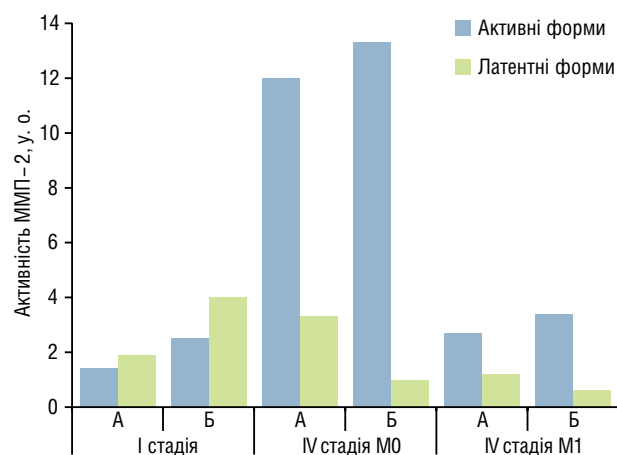


Рис. 2. Активність ММП-2 в тканині РМЗ I стадії, IV стадії без віддалених метастазів та IV стадії з віддаленими метастазами до (А) та після (Б) інкубації з Н

клітин пухлини з Н, що генерували СР зі швидкістю 1,82 нмоль/10⁵ клітин·хв, протягом 6 год при $t = 37^\circ\text{C}$ активність ММП-2 і -9 становила $1,43 \pm 0,13$ і $4,54 \pm 0,19$ у. о., а їхніх латентних форм — $1,88 \pm 0,16$ і $3,88 \pm 0,12$ у. о. відповідно (див. рис. 2 та 3, позначені літерою А). Інкубація клітин пухлини з Н, що генерували СР зі швидкістю 4,31 нмоль/10⁵ клітин·хв, призвела до значного (в 2–3 рази) зростання активності як активних, так і латентних форм обох ферментів.

На відміну від пухлин хворих на РМЗ I стадії в пухлинах пацієнтів з РМЗ IV стадії без віддалених метастазів після інкубації клітин з Н зросла активність ММП, але знизився рівень активності латентних форм желатиназ. За цих умов інкубація клітин пухлини хворих з наявними віддаленими метастазами майже не вплинула на рівні продукування ними активних і латентних форм ММП-2 та -9. Таким чином, супероксидзалежна регуляція активності ММП у пухлинах у I стадії захворювання реалізується як на рівні синтезу, так і на рівні активації латентних форм ферментів. У IV стадії РМЗ без віддалених метастазів відбувається зростання активності ММП-2 та -9, продукованих клітинами пухлин, внаслідок супероксидзалежної активації їх латент-

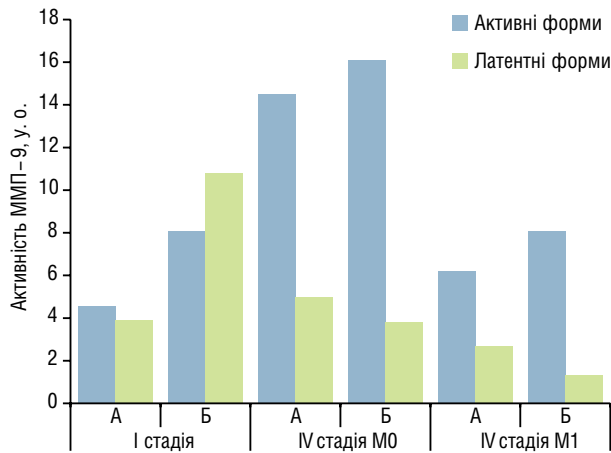


Рис. 3. Активність ММП-9 в тканині РМЗ I стадії, IV стадії без віддалених метастазів та IV стадії з віддаленими метастазами до (А) та після (Б) інкубації з Н

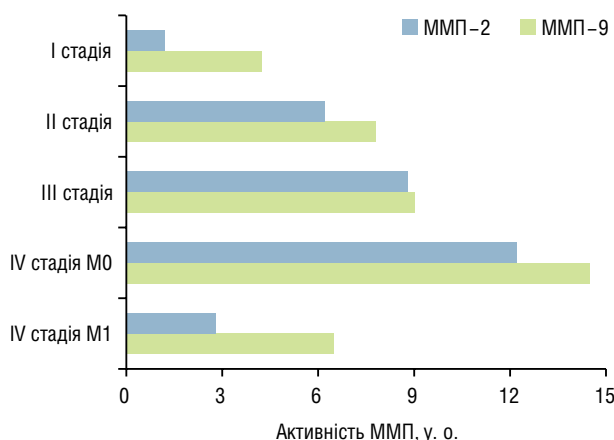


Рис. 4. Активність ММП-2 та -9 в тканині РМЗ у різних стадіях пухлинного процесу

них форм. Стадія IV пухлинного процесу за наявності віддалених метастазів характеризується відсутністю відповіді досліджуваних ферментних систем в новоутворенні на дію СР. Це може свідчити про виснаженість систем синтезу латентних форм ММП та/або їх окисне пошкодження за умов наявності сформованих метастазів. Отримані результати свідчать про важливу роль редокс-регуляції активності ММП-2 та -9 на етапах інвазії та утворення віддалених метастатичних вузлів.

Раніше ми встановили, що при інкубації клітин раку шлунка людини з Н з різною супероксид-генеруючою активністю (2,56 і 5,28 нмоль/10⁵ клітин·хв), виділених із крові хворих, зростає активність ММП у тканині пухлин залежно від активності Н. Одночасно рівень латентних форм ММП відповідно знижувався [14].

Відомо, що деградація міжклітинного матриксу супроводжує кожний з етапів метастазування — відщеплення пухлинних клітин, інтравазацію, циркуляцію, екстравазацію та формування віддалених метастатичних вузлів. ММП зумовлюють метастазування пухлин шляхом розщеплення компонентів базальної мембрани і екстрацелюлярного матриксу, включаючи желатин, колаген, фібрин, ламінін та протеоглікани [15].

На рис. 4 наведено дані активності ММП-2 та -9 в тканині аденокарцином молочної залози на різних стадіях пухлинного процесу. При цьому для I стадії характерні відносно невисокі значення активності ММП-2, значно вищі (в 5–10 разів) середні показники відзначають у хворих з II та III стадіями, а особливо IV стадією без метастазів. Для IV стадії з метастазами, коли деструктивні зміни розвинені максимально, відмічено суттєве (у 4 рази) зниження активності ММП-2 порівняно з IV стадією без метастазів. Та сама динаміка показників притаманна і ММП-9. Вірогідно, наростання концентрацій активних форм ММП характерне для тих етапів пухлинного процесу, коли відбувається активна інвазія пухлини та формування майбутніх метастазів (відрив, інтравазація, циркуляція, екстравазація та осідання пухлинних клітин в сайтах віддаленого метастазування). При IV стадії захворювання, коли утворення метастатичних фокусів загалом відбулося (метастази клінічно виявні), немає необхідності в посиленій деструкції міжклітинного матриксу, а значить, у відповідній активності ММП. Відмітимо, що такий характер залежності активності ММП від стадії захворювання лише частково співвідноситься із відомими результатами. У більшості робіт показано підвищення експресії ММП у IV стадії, а в деяких, навпаки, зниження цих значень. Необхідно підкреслити, що автори визначали саме експресію, а не рівень активності ММП, і хворих з метастазами не виділяли в окрему групу [16, 17].

Низкою авторів виявлено залежність між швидкістю генерування O₂^{•-} концентраціями активних форм ММП-2 і -9, поганим прогнозом та виживаністю хворих на рак [18–20]. Показано, що швидкість генерування O₂^{•-} і експресія та/або активність ММП підвищуються в пухлинах, що метастазують. Швидкість генерування O₂^{•-} є ключовим фактором на всіх етапах формування злоякісних пухлин і їх інвазії, а ММП-2 і -9 зумовлюють прогресування пухлин. У промоторах ММП знайдено генетичні варіації, які спричиняють прогресування 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 радикальних форм кисню, високі рівні активності ММП та агресивність пухлин [21–24]. Таким чином, генерування пухлиною високих рівнів O₂^{•-}, активності ММП, а також 2G генотип зумовлюють агресивність та метастазування пухлин. Mn-SOD (SOD-2; манганозалежна супероксиддисмутаза), яка функціонує в Мх й активність якої зростає при підвищенні рівнів O₂^{•-} в цій органелі, може бути використана як показник для прогнозування перебігу патологічного процесу у хворих не лише на РМЗ, але й на рак шлунка, стравоходу, колоректальний

рак [1–3]. Зростання рівнів O_2 та редоксзалежне підвищення активності SOD-2, TNF- α , 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. СР є важливими регуляторами активності цистеїнвмісних білків. Залишки цистеїну можуть знаходитися як у відновленому (R-SH), так і в окисненому (R-SOH, R-SO₂H) станах. Багаті на цистеїн протеїни, які є в молекулах багатьох рецепторів і сигнальних молекул, є мішенню для редокс-регуляції СР, яка необхідна для перебігу білок-білкових і білок-ДНК взаємодій. Таким чином, СР можуть брати участь у мітоген-індукованих подіях в клітині — активації протеїнкіназ, серин-/треонін-протеїнкіназ та факторів транскрипції [1–3].

СР можуть активувати кінази, що регулюють експресію ММП. Ras є редокс-чутливим протеїном (активується шляхом окисної модифікації Cys-118), що спричинює внутрішньоклітинне генерування СР НАДН/НАДФН-оксидазами. Основними мішенями для СР, через які вони реалізують вплив на ММП, є МАРК і РІЗК. СР активують ММП-2 і -9, перетворюючи латентні форми в активні при їх продукуванні Н у міжклітинному матриксі та окиснюють колаген ІV типу. Показано, що генерування СР Н посилює активність ММП-2 в клітинах, що корелює з рухливістю клітин та їх інвазивністю. Ліпоперекиси, які утворюються в клітинах під дією СР, також можуть активувати ММП. Так, головний компонент окиснених ліпопротеїдів низької щільності лізофосфатидилхолін може активувати ММП-2 через активацію генерування O_2 Н [1–3, 22, 23].

Рівень активності ММП регулюється СР на транскрипційному і посттрансляційному рівнях, тобто вони регулюють експресію генів та активність ММП. ММП секретуються в латентній (неактивній) формі і містять інгібіторний домен. Неактивна конформація цих білків підтримується взаємодіями між SH-групами залишків цистеїнів у складі продомену та атомами Zn²⁺ у складі каталітичного сайту [24–26]. Ми вважаємо, що активація ММП відбувається при розриві Zn²⁺-SH-зв'язків при взаємодії СР з SH-групами цистеїнових фрагментів, а модифікація цих зв'язків є ключовою подією аутоактивації ММП.

ВИСНОВКИ

1. Зростання швидкості генерування СР в клітинах пухлини та позаклітинному матриксі є критичною і достатньою подією для активації ММП у пухлинах. Встановлено достовірний кореляційний зв'язок між швидкістю генерування СР та активністю ММП-2 ($r = 0,61$) та ММП-9 ($r = 0,56$).

2. СР у тканині РМЗ генерують Мх і Н, які інфільтрують первинну пухлину та готують «ніші» для віддаленого метастазування. При інкубації клітин РМЗ з Н показано зростання рівня активних форм ММП-2 і -9 та, відповідно, зниження їх латентних форм.

3. Ступінь індукції СР ММП-2 та -9 визначає злоякісний фенотип пухлин та швидкість їх прогресування. Зростання активності ММП в тканині РМЗ спостерігається до появи віддалених метастазів.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. **Бурлака АП, Сидорик ЕП.** Редоксзависимые сигнальные молекулы в механизмах опухолевого процесса. К: Наукова думка, 2014. с. 255.
2. **Sainz RM, Lombo F, Mayo JC.** Radical decisions in cancer: redox control of cell growth and death. *Cancers (Basel)* 2012; **4**: 442–73.
3. **Hecht F, Pessoa CF, Gentile LB, et al.** The role of oxidative stress on breast cancer development and therapy. *Tumour Biol* 2016; **37** (4): 4281–91.
4. **Sionov RV, Fridlender ZG, Granot Z.** The multifaceted roles neutrophils play in the tumor microenvironment. *Cancer Microenvironment* 2015; **8**: 125–58.
5. **LiPanieri E, Santoro MM.** ROS homeostasis and metabolism: a dangerous liason in cancer cells. *Cell Death Dis* 2016; **7** (6): e2253.
6. **Grek CL, Tew KD.** Redox metabolism and malignancy. *Curr Opin Pharmacol* 2010; **10** (4): 362–8.
7. **Liang W, Ferrara N.** The complex role of neutrophils in tumor angiogenesis and metastasis. *Cancer Immunol Res* 2016; **4**: 83–91.
8. **Бурлака АП, Ганусевич П, Голотюк ВВ та ін.** Взаємозв'язок супероксид- та NO-генеруючої активності нейтрофілів з клінічними характеристиками хворих на рак прямої кишки та їх вплив на віддалені результати комбінованого лікування. *Онкологія* 2016; **4**: 294–9.
9. **Burlaka AP, Ganusevich II, Golotiuk VV, et al.** Superoxide- and NO-dependent mechanisms of antitumor and antimetastatic effect of L-arginine hydrochloride and coenzyme Q₁₀. *Exp Oncol* 2016; **38**: 31–5.
10. **DeClerk YA, Perez N, Shimada H, et al.** Inhibition of invasion and metastasis in cells transfected with an inhibitor of metalloproteinases. *Cancer Res* 1992; **52**: 701–8.
11. **Guttmann RP, Powell TJ.** Redox regulation of cysteine-dependent enzymes in neurodegeneration. *Int J Cell Biol* 2012; **703164**.
12. **Sag CM, Santos CXC, Shah AM.** Redox regulation of cardiac hypertrophy. *J Mol Cell Cardiol* 2014; **73**: 103–11.
13. **Mikheda Y, Görlachb A, Knausc UG, et al.** Redox regulation of genome stability by effects on gene expression, epigenetic pathways and DNA damage/repair. *Redox Biol* 2015; **5**: 275–89.
14. **Burlaka A, Sidorik E, Ganusevich I, et al.** Effects of radical oxygen species and NO: intracellular hypoxia formation and matrix metalloproteinases activation in tumor tissues. *Exp Oncol* 2006; **28**: 49–53.
15. **Popharitov T, Valkanov St, Nikolov S, et al.** Role of matrix metalloproteinases in cancer development. *Trakia J Sci* 2015; **1** (4): 88–92.
16. **Gialeli C, Theocharis AD, Karamanos NK.** Roles of matrix metalloproteinases in cancer progression and their pharmacological targeting. *FEBS J* 2011; **278** (1): 16–27.
17. **Yeh YC, Sheu BS.** Matrix metalloproteinases and their inhibitors in the gastrointestinal cancers: current knowledge and clinical potential. *Metalloproteinases In Med* 2014; **1**: 3–13.
18. **Said AH, Raufman JP, Xie G.** The role of matrix metalloproteinases in colorectal cancer. *Cancers* 2014; **6** (1): 366–75.
19. **Deryugina EI, Quigley JP.** Tumor angiogenesis: MMP-mediated induction of intravasation- and metastasis-sustaining neovasculature. *Matrix Biol* 2015; **44–46**: 94–112.
20. **Shay G, Lynch CC, Fingleton B.** Moving targets: Emerging roles for MMPs in cancer progression and metastasis. *Matrix Biol* 2015; **44–46**: 200–6.
21. **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- κ B activation. *Carcinogenesis* 2007; **28** (4): 837–47.

22. Wilkins-Port CE, Mazurkiewicz QYeE, Higgin PJ. TGF- β 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.

23. 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.

24. Farina AR, Mackay AR. Gelatinase. B/MMP-9 in tumour pathogenesis and progression. *Cancers (Basel)* 2014; **6**: 240–96.

25. Craig N, Morrell CN. Reactive oxygen species: Finding the right balance. *Circ Res* 2008; **103** (6): 571–2.

26. 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.

SUPERROXIDE RADICALS: INITIATION OF METASTASES IN PATIENTS WITH BREAST CANCER

A.P. Burlaka, I.I. Ganusevich, A.V. Vovk

Summary. One of the features of the malignant tumors development is the remodeling of the intercellular matrix due to the activation of matrix metalloproteinases (MMP) by superoxide radicals (SR). Mitochondria (Mc) and NADP·H-oxidase (Nox) in extracellular microenvironment are the main sources of SR generation that regulate the activity of genes of redox-dependent proteins, in particular, MMP. **Aim:** to investigate the levels of CP in Mc of breast cancer cells and their influence on the activity of MMP-2 and -9 and metastasis. **Object and methods:** tumor tissue samples of 69 patients with breast cancer stage I–IV (T1–4N0–2M0–1) aged from 31 to 75 years old were studied: 15 – I, 14 – II, 13 – III, 27 – IV stages of the disease (including 17 – categories M1, 10 – M0). The superoxide-generating activity of blood neutrophils (N) was studied by electron paramagnetic resonance method on a computerized EPR-spectrometer RE-1307 using Spin Traps at room temperature (1-hydroxy-2,2,6,6-tetramethyl-4-oxypiperidine). The SR level in Mc of breast cancer

cells was determined using a spin capture TEMPO-H. The activity of MMP-2 and -9 was determined by zymography polyacrylamide gels. **Results:** a direct correlation between the activity of MMP-2 and -9 and the rate of generation of SR Mc of breast cancer cells was detected ($r = 0.61$, $r = 0.56$, respectively, $p < 0.05$). It was found that after incubation of tumor cells with N that generated CP at $1.82 \text{ nmol}/10^5 \text{ cells} \cdot \text{min}$, for 6 h at $t = 37^\circ\text{C}$, the activity of MMP-2 and -9 was 1.43 ± 0.13 and $4.54 \pm 0.19 \text{ CU}$ and their latent forms – 1.88 ± 0.16 and $3.88 \pm 0.12 \text{ CU}$, respectively. Incubation of tumor cells with N that generated SR with a rate of $4.31 \text{ nmol}/10^5 \text{ cells} \cdot \text{min}$ resulted in a significant (2–3-fold increase) in the levels of active and latent forms of both enzymes. For BC stage I, the relatively small values of activity of MMP-2 and -9 are significantly higher mean values observed in patients with II, III and, especially, in breast cancer stage IV without metastases. In patients with the category M1, decreased activity of MMP-2 and -9 in comparison with patients M0, respectively, in 4 and 2 times was determined. **Conclusions:** growth rate of SR generation in tumor cells and extracellular matrix is a critical and sufficient event for activation of MMP in tumors. In breast cancer SR, Mc and N are generated which infiltrate the primary tumor. The degree of induction by superoxide radicals MMP-2 and MMP-9 defines the malignant phenotype of tumors and their metastatic potential. The obtained results indicate the important role of redox regulation of MMP-2 and -9 activity in the stages of invasion and the formation of distant metastatic nodes.

Key Words: superoxide radicals, matrix metalloproteinases, mitochondria, breast cancer, metastasis.

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: apburlaka@gmail.com

Одержано: 24.07.2017