

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ 2,3,7,8-ТЕТРАХЛОРОДИБЕНЗО-*n*-ДИОКСИНА НА ОТНОСИТЕЛЬНЫЙ УРОВЕНЬ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ *ERBB2*, *CYP17A1*, *CYP19A1*, *CYP1A1*, *CYP1A2*, *CYP1B1* В КЛЕТОЧНОЙ ЛИНИИ MCF-7

Чернецкая О.С.³, Dalhuchits Н.², Свирид А.В.⁴, Синелев В.А.¹,
Шабуневич Е.А.¹, Шкель Т.В.¹, Бабенко А.С.¹, Киселев П.А.¹,
Климович Е.А.¹, Сыса А.Г.¹

¹Институт биоорганической химии НАН Беларуси, Минск, Беларусь,

²UM2, Montpellier, France,

³Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь,

⁴Международный государственный экологический университет им. А.Д. Сахарова, Минск, Беларусь, aliaksei.sysa@gmail.com

Диоксины представляют собой группу загрязнителей окружающей среды полихлорароматической природы с ярко выраженными токсикологическими свойствами. Действие диоксинов на живые системы столь обширно, что представителей этого класса химических веществ называют суперэкоотоксикантами [1]. В частности, диоксины проявляют как эстрогенные, так и антиэстрогенные свойства. Гидроксилированные метаболиты диоксинов обладают антиэстрогенной активностью, ведущей к аномалиям развития в процессе эмбриогенеза [2].

К одним из самых мощных из известных токсичных веществ небелковой природы относится 2,3,7,8-тетрахлордибензо-*n*-диоксин (ТХДД) [3]. Установлено, что ТХДД является эндокринным дизруптором, а его эстрогенные и антиэстрогенные свойства проявляются как в отсутствие, так и при наличии эстрогенов в модельной системе. Известно, что биосинтез и метаболизм эстрогенов в эстроген-зависимых органах и тканях осуществляется в несколько стадий, в реализации которых принимают участие изоферменты CYP17, CYP19, CYP1A1, CYP1A2, CYP1B1. Лимитирующей стадией биосинтеза эстрогенов является реакция ароматизации кольца А тестостерона или андростендиона, катализируемая изоферментом CYP19, получившим название ароматаза [4]. Показано, что ароматаза неравномерно распределена в ткани молочной железы. Более того, выявлена прямая корреляция между повышенным уровнем мРНК и ферментативной активностью ароматазы и, как следствие, локальным хроническим повышением уровня эстрогенов в определенных участках молочной железы и их гистологическими свойствами, вызванными развитием опухоли. С риском рака молочной железы связывают полимор-

физм гена *CYP19*. В связи с этим, целью нашего исследования стало выяснение особенностей экспрессии генов *ERBB2*, *CYP17A1*, *CYP19A1*, *CYP1A1*, *CYP1A2*, *CYP1B1* под воздействием ТХДД в эстроген-зависимой клеточной линии аденокарциномы молочной железы (MCF-7). Для этого нами сконструированы праймеры и TaqMan зонды для амплификации в режиме реального времени кДНК генов *ERBB2*, *GADPH* (внутренний контроль), *CYP17A1*, *CYP19A1*, *CYP1A1*, *CYP1A2*, *CYP1B1*. Получены рекомбинантные плазмиды, содержащие фрагменты указанных генов.

В результате работы установлено, что относительные уровни экспрессии генов *CYP19A1* и *CYP1B1* увеличились в шесть и два раза, соответственно. Полученные нами результаты позволяют предположить, что в результате воздействия ТХДД метаболизм эстрогенов в клеточной линии MCF-7 сдвигается в более «агрессивную» сторону.

Увеличение относительного уровня экспрессии *CYP19A1* в эстроген-зависимой клеточной линии может приводить к избыточному синтезу как эстрадиола, так и эстрона, которые, с одной стороны, будут стимулировать пролиферацию клеток, а с другой стороны, будут являться субстратами другой экспрессируемой изоформы цитохрома P450 – *CYP1B1*.

Известно, что в результате реакций, катализируемых *CYP1B1*, из эстрадиола образуются его 4-гидроксипроизводные, которые способны усиливать образование свободных радикалов и связанное с этим окислительное повреждение клеточных мембран, формировать ковалентные аддукты с ДНК, вызывать гормон-зависимую индукцию ДНК-аддуктов с последующей активацией протоонкогенов и ослаблять репарацию повреждений генома.

Кроме того, *CYP1B1* конвертирует эстрон в его более агрессивную форму – 16 α -гидроксиэстрон (16 α -ОНЕ1). Данный метаболит обладает некоторыми особенностями химической структуры (уникальной взаимной ориентацией 16 α -ОН-группы и кето-группы эстрона) [5], что делает возможным образование ковалентной связи с эстрогеновым рецептором [6], в результате чего продолжительность эстроген-зависимого пролиферативного сигнала возрастает от нескольких часов до нескольких дней [7]. Есть мнение, что 16 α -ОНЕ1-опосредованный эффект длится до момента начала деградации связывающих данный метаболит белков плазмы [8]. Кроме того, 16 α -ОНЕ1 может индуцировать канцерогенные эффекты и по генотоксическому механизму. Все вместе это делает 16 α -ОНЕ1 одним из самых «агрессивных» метаболитом эстрона, проявляющим выраженные канцерогенные свойства.

В целом, полученные нами данные свидетельствуют о том, что относительный уровень экспрессии генов *CYP19A1* и *CYP1B1* увеличивается в эстроген-зависимых опухолях под воздействием такого сильного экотоксиканта, как 2,3,7,8-тетрахлородибензо-*p*-диоксин, что может способствовать накоплению эстрогенов и приводить к росту скорости пролиферации опухолевых клеток. Наряду с этим, увеличение экспрессии *CYP1B1* может способствовать образованию «агрессивного» стимулятора пролиферации клеток 16 α -гидроксиэстрогена и 4-катехолпроизводных эстрогеновых стероидов, принимающих участие в модификации ДНК, белков и липидов.

Литература

1. Никитин А.И. Гормоноподобные загрязнители биосферы и их влияние на репродуктивную функцию человека // Биосфера. – 2009. – № 2. – С. 218-229.
2. Федоров Л.А. Диоксины как экологическая опасность: ретроспектива и перспективы. – М. : Наука, 1993. – 266 с.
3. Полихлорированные дибензо-пара-диоксины и дибензофураны. Гигиенические критерии состояния окружающей среды. Том 88. – Женева : ВОЗ, 1993. – 381 с.
4. Clemons M., Goss P. Estrogen and the risk of breast cancer // N. Engl. J. Med. – 2001. – Vol. 344. – P.276-285.
5. Davis D.L., Telang N.T., Osborne M.P., Bradlow H.L. Medical hypothesis: bifunctional genetic-hormonal pathways to breast cancer // Environ. Health Perspect. – 1997. – Vol.105. – P.571-557.
6. Swaneck G.E., Fishman J. Covalent binding of the endogenous estrogen 16 alpha-hydroxyestrone to estradiol receptor in human breast cancer cells: characterization and intranuclear localization // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 1988. - Vol. 85. – P.7831-7835.
7. Lustig R., Kendrick-Parker C., Jordan V. Effects of 16 α -hydroxyestrone on MCF-7 cell proliferation and estrogen receptor regulation *in vitro* // Endocr. Soc. Proc. – 1994. Vol. 75. – P. 317.
8. Lord R.S., Bongiovanni B., Bralley J.A. Estrogen metabolism and the diet-cancer connection: rationale for assessing the ratio of urinary hydroxylated estrogen metabolites // Altern. Med. Rev. - 2002. - Vol. 7. - P. 12-29.