

# Dovada că CYP1B1 este un marker tumoral universal

## **Primele dovezi**

Afirmația că proteina CYP1B1 este un marker tumoral universal se bazează pe dovezile din cel puțin cincisprezece cercetari peer-revizuite (revizuite inter pares) sau in lucrari revizuite, publicate începând cu anul 1997. Primele dovezi au fost publicate în 1997 de către echipa de cercetare a profesorului Burke de la Universitatea Aberdeen, care a arătat, folosind tehnici standard imunohistochimice bazate pe metodologia biochimica Western blott , ca proteină CYP1B1 era prezenta în celulele canceroase ale probelor de biopsie de cancer de vezica urinara, creier, sân, colon, țesut conjunctiv, esofag, rinichi, plămân, ganglionilor limfatici, ovar, piele , stomac, testicule și uter, dar a fost nedetectabila in celulele normale ale tesutului canceros și țesuturile normale. (1) Un total de 127 de pacienți cu diferite forme de cancer au fost incluși în eșantion ( între 6 și 12 de pacienți pentru fiecare tip de cancer), iar CYP1B1 a fost exprimată în 96 % din probe, în toate tipurile diferite de cancer. In contrast, CYP1B1 nu a fost detectata în nici una dintre cele 130 de probe preluate din aceleasi tipuri de țesuturile normale si nici în ficat sau intestinul subțire.

## **Cercetările ulterioare**

Cercetările ulterioare efectuate de către grupul Aberdeen și de mai multe laboratoare independente, toate folosind tehnici de imunohistochimie pentru biopsii ale pacientilor, au confirmat și au extins aceste observații inițiale, asa incat acum enzima CYP1B1 este în general considerată ca un biomarker al fenotipului neoplazic (2) și a fost descrisă de cercetatorii de la Institutul Dana-Farber Cancer (Boston, SUA) ca "un antigen comun asociat tumorii ce este exprimat în aproape toate malignitățile umane testate până acum" (3) ( un marker universal de cancer capabil de a fi detectat cu ajutorul tehnologiei de anticorpi) . Cercetarile mentioneaza faptul ca localizarea intracelulară a enzimei CYP1B1 ca fiind la nivel citoplasmatic, care din punct de vedere histologic este in concordanta cu constatarile biochimice prin care CYP1B1 este parte a reticulului endoplasmatic al celulei. Tumorile maligne sunt colecții de celulele canceroase si celulele normale, și în toate cazurile în care proba a fost colorate imunohistochimic pentru CYP1B1 modelul de colorare arată că CYP1B1 este limitată la celulele neoplazice. In prezent, punctul de vedere cel mai acceptat in legatura cu CYP1B1 este că enzima CYP1B1 este supraexprimata in cele mai multe boli maligne umane si cu doar minima expresie în țesuturile sănătoase critice. (3)

## Rezumat al literaturii de cercetare

Urmatorul paragraf este un rezumat al cercetarilor privind expresia proteinei CYP1B1 in cancer, în urma publicării inițiale din 1997.

- În diferite tipuri și grade de cancer de san, CYP1B1 a fost prezenta în celulele tumorale in 77% din probe de la 60 de pacienti, dar nedetectabila in celulele stromale sau țesut conjunctiv, (4) în timp ce într-un alt studiu independent enzima a fost exprimată în 82% din 34 de cazuri. (5)
- În diferite tipuri și grade de cancer ovarian, CYP1B1 a fost prezenta în peste 92% din tumorile primare de la 172 de pacienti, cu o corelație puternică pentru prezența și în metastaze, dar a fost nedetectabil in tesutul ovarian normal. (6)
- In diferite grade de adenocarcinom colorectal, CYP1B1 a fost prezenta la nivel înalt în celulele canceroase din toate eşantioanele de la 61 de pacienți, indiferent de gradul de metastaza al nodului limfatic. (7) Un document recent al grupului Aberdeen a confirmat că enzima CYP1B1 este puternic exprimata în celule de cancer de colon si ale ganglionilor limfatici metastazati, dar surprinzător, de asemenea, apare un nivel scăzut al enzimei CYP1B1, la aproximativ o treime, in probele de țesuturi normale de colon de la pacientii care au fost confirmati, din punct de vedere clinic, ca fiind vindecati de cancer. (8)
- În canerul de sân, cancerul ovarian și de colon CYP1B1 a fost exprimată foarte puternic în celule neoplazice dar fara a nici o exprimare în compartimentele stromale sau tesuturile normale din jur, și a fost, de asemenea, o expresie puternică a enzimei CYP1B1 în leucemie limfocitară acută, leucemia mieloidă acută, carcinom esofagian, cancer pulmonar, limfom și rabdomyosarcom. (3)
- CYP1B1 a fost puternic exprimată în 100% din 22 de cazuri de carcinom vezicii urinare (de la gradul moderat la gradul ridicat) și 75% din 27 de cazuri de carcinom de prostată (grad Gleason moderat), dar a fost absent de la tesutul stromal înconjurător. (9) Un alt studiu independent similar a raportat că CYP1B1 a fost exprimată în 79% din probele de cancer de prostata 33 de pacienți. (10)
- In 269 de cazuri de cancer distincte de celule gliale, CYP1B1 a fost prezent în între 61% și 84% din cazuri, în funcție de tipul și gradul tumorii, și expresia CYP1B1 a fost asociat cu un timp scăzut supraviețuirea pacientului. (11) În contrast, CYP1B1 nu este detectabil în țesutul cerebral normal. (12)
- In celulele carcinomului renal proteina CYP1B1 a fost dovedita a fi activa enzimatic ca si monooxigenaza. (13)

Există dovezi că enzima CYP1B1 este un marker tumoral timpuriu, capabil să detecteze celulele tumorale chiar în primele stadii de transformare de la normalitate.

CYP1B1 este prezenta și în țesutul prostatic premalign, hiperplazic asociat cu carcinom de prostată. (9, 10) . Aparent, țesuturile normale de colon luate de la aproximativ 30 cm distanță de adenocarcinoame colorectale au arătat un indiciu de colorare pentru CYP1B1. (7) Studiile noastre proprii (nepublicate) au arătat că CYP1B1 este clar detectabilă în celulele precanceroase de colon și de col uterin.

### **Valabilitate**

Valabilitatea metodelor imunohistochimice utilizate în această cercetare a fost dovedită într-o lucrare asupra cancerului ovarian din 2005, care a confirmat faptul că CYP1B1 a fost nedetectabilă în țesutul ovarian normal (deși extrem de colorate în celulele de cancer ovarian), în timp ce numeroase alte forme de CYP au fost extrem de colorate în ambele adică și în celulele canceroase și în țesutul normal. (14) În plus, în timp ce în ficatul normal multe tipuri diferite de enzime CYP sunt exprimate, enzima CYP1B1 este nedetectabilă. (1, 15)

### **Dovada de exprimare a CYP1B1**

O sursă majoră de confuzie cu privire la exprimarea selectivă a CYP1B1 în cancer a fost data de faptul că ARNm pentru CYP1B1 este exprimat atât în celulele canceroase cât și în cele normale, și, în ciuda dovezilor contrare ample, unii oameni de știință au presupus eronat că în cazul în care există CYP1B1 ARNm apoi proteina CYP1B1 trebuie să îl urmeze în mod inexorabil. (2, 12) Această confuzie sperăm să dispară prin publicarea recentă a cercetării ce aduce dovezi pentru mecanisme plauzibile ce explică dislocarea între CYP1B1 ARNm și exprimarea proteinei în celulele normale. Aceasta a propus în 2003 ca reglarea exprimării CYP1B1 este posibilă post-transcripțională. (16) În anul 2005 au fost propuse două mecanisme diferite de reglare a CYP1B1, cu dovezi experimentale, pentru a ține cont de extremă supra-exprimarea în celulele canceroase. O sugestie este reglarea transcripțională prin hipometilarea promotorului / regiunea dezvoltată a genei CYP1B1, ceea ce ar reduce cantitatea de ARNm produsă în celulele normale (10) Sugestia cealaltă este reglarea post-transcripțională prin degradarea proteosomala a proteinei CYP1B1 în celulele normale, dar nu prin fosforilare. (17) Dar mecanismul cel mai convingător (post-transcripțional asemenea) postulează că supra-expresia enzimei CYP1B1 în celulele canceroase apare deoarece celulele canceroase sunt în mare parte lipsite de o microARN care în celulele normale inhibă traducerea CYP1B1 ARNm în proteină. (18)

## **Bibliografie**

1. Murray, G., Taylor, M., McFadyen, M., et al., Tumor-specific expression of cytochrome P450 CYP1B1. *Cancer Res*, (1997) 57: 3026-3031.
2. McFadyen, M. and Murray, G., Cytochrome P450 1B1: a novel anticancer therapeutic target. *Future Oncology*, (2005) 1: 259-263.
3. Maecker, B., Sherr, D., Vonderheide, R., et al., The shared tumor-associated antigen cytochrome P450 1B1 is recognized by specific cytotoxic T cells. *Blood*, (2003) 102: 3287-3294.
4. McFadyen, M., Breeman, S., Payne, S., et al., Immunohistochemical localization of cytochrome P450 CYP1B1 in breast cancer with monoclonal antibodies specific for CYP1B1. *J Histochem Cytochem*, (1999) 47: 1457-1464.
5. Oyama, T., Morita, M., Isse, T., et al., Immunohistochemical evaluation of cytochrome P450 (CYP) and p53 in breast cancer. *Front Biosci*, (2005) 10: 1156-1161.
6. McFadyen, M., Cruickshank, M., Miller, I., et al., Cytochrome P450 CYP1B1 over-expression in primary and metastatic ovarian cancer. *Br J Cancer*, (2001) 85: 242-246.
7. Gibson, P., Gill, J., Kahn, P., et al., Cytochrome P450 1B1 (CYP1B1) is overexpressed in human colon adenomas relative to normal colon: implications for drug development. *Mol Cancer Ther*, (2003) 2: 527-534.
8. Kumarakulasingham, M., Rooney, P., Dundas, S., et al., Cytochrome P450 profile of colorectal cancer: identification of markers of prognosis. *Clin Cancer Res*, (2005) 11: 3758-3765.
9. Carnell, D., Smith, R., Daley, F., et al., Target validation of cytochrome P450 CYP1B1 in prostate carcinoma with protein expression in associated hyperplastic and premalignant tissue. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, (2004) 58: 500-509.
10. Tokizane, T., Shiina, H., Igawa, M., et al., Cytochrome P450 1B1 is overexpressed and regulated by hypomethylation in prostate cancer. *Clin Cancer Res*, (2005) 11: 5793-5801.
11. Barnett, J., Urbauer, D., Murray, G., et al., Cytochrome P450 1B1 expression in glial cell tumours: an immunotherapeutic target. *Clin Cancer Res*, (2007) 13: 3559-3567.
12. McFadyen, M., Murray, G., and Melvin, W., Cytochrome P450 CYP1B1 mRNA in normal human brain. *J Clin Pathol: Mol Pathol*, (1999) 52: 164.
13. McFadyen, M., Melvin, W., and Murray, G., Cytochrome P450 CYP1B1 activity in renal cell carcinoma. *Br J Cancer*, (2004) 91: 966-971.
14. Downie, D., McFadyen, M., Rooney, P., et al., Profiling cytochrome P450 expression in ovarian cancer: identification of prognostic markers. *Clin Cancer Res*, (2005) 11: 7369-7375.
15. Edwards, R., Adams, D., Watts, P., et al., Development of a comprehensive panel of antibodies against the major xenobiotic metabolising forms of cytochrome P450 in humans. *Biochem Pharmacol*, (1998) 56: 377-387.
16. McFadyen, M., Rooney, P., Melvin, W., et al., Qualitative analysis of the Ah receptor/cytochrome P450 CYP1B1/CYP1A1 signalling pathway. *Biochem Pharmacol*, (2003) 65: 1663-1674.
17. Bandiera, S., Weidlich, S., Harth, V., et al., Proteosomal degradation of human CYP1B1: effect of the Asn453Ser polymorphism on the post-translational regulation of CYP1B1 expression. *Mol Pharmacol*, (2005) 67: 435-443.
18. Tsuchiya, Y., Nakajima, M., Takagi, S., et al., MicroRNA regulates the expression of human cytochrome P450 1B1. *Cancer Res*, (2006) 66: 9090-9098.