



УДК 618.11:577.15

MODERN CONCEPTS ON THE MECHANISMS OF PROGRESSION AND RESISTANCE TO TREATMENT OF SOME HORMONE-DEPENDENT TUMORS**СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О МЕХАНИЗМАХ ПРОГРЕССИИ И РЕЗИСТЕНТНОСТИ К ЛЕЧЕНИЮ НЕКОТОРЫХ ГОРМОНОЗАВИСИМЫХ ОПУХОЛЕЙ****Князуева М.В./ Князева М.В.***d.b.s., prof. /д.б.н., проф.**Kharkov National University by V.N.Karazin,**Kharkov, Svoboda Sq.,4, 61022**Харьковский национальный университет им. В.Н.Каразина,**Харьков, пл.Свободы,4, 61022***Прокоруук А.В./Прокопюк А.В.***k.m.s./к.м.н.**Kharkov National Medical University,**Kharkov, Nauka Pr.,4, 61077**Харьковский национальный медицинский университет,**Харьков, пр. Науки,4, 61077***Аннотация:** *Статья содержит следующие разделы:**Введение.**1. Исследование возможных причин неудовлетворительных результатов лечения рака эндометрия и рака яичников.**2. Исследование возможных причин неудовлетворительных результатов лечения рака молочной железы.**Заключение и выводы.**Лечение рака яичников, эндометрия, молочной железы различных гистологических типов характеризуются частыми рецидивами, низкой выживаемостью, неудовлетворительными результатами лечения. По данным участников 45 Конгресса FEBS, это может быть связано с локальным синтезом эстрогенов сульфатазным путем, длинными некодирующими РНК и метастаз-ассоциированными микроРНК, эпителиально-мезенхимальным переходом в раковых клетках, сопровождающимся потерей E-кадгерина, химиорезистентностью раковых клеток с нарушением окислительного гомеостаза и гомеостаза меди, коэкспрессией гуанидинсвязывающего протеина 5(GBP5) и лиганда смерти PD-L1 и др. Результаты исследований открывают путь к новым стратегиям лечения опухолей.***Ключевые слова:** *рак яичников, эндометрия, молочной железы, механизмы прогрессии и химиорезистентности опухоли, новые стратегии лечения***Вступление.**

Такие гормонозависимые патологии человека как рак яичников (РЯ), рак эндометрия (РЭ), рак молочной железы (РМЖ) различных гистологических типов характеризуется возрастанием частоты встречаемости и смертности во всем мире [1-3]. РЯ развивается асимптоматически и сопровождается самой высокой смертностью среди онкологических заболеваний женской репродуктивной системы. Несмотря на доказательство повышения эффективности лечения местно-распространенных форм РЯ с неоадьювантной химиотерапией на первом этапе, результаты выживаемости после окончания



лечения остаются неудовлетворительными. Решение проблемы кратковременной ремиссии, низкой выживаемости больных с перечисленными патологиями может находиться в области изучения молекулярных механизмов активизации опухолевой прогрессии, метастазирования, нарушения действия ингибиторов опухолевого роста, лекарственной резистентности, как показано в работах ученых, представленных на 45 Конгрессе FEBS в июле 2021 года в разделе «Cancer initiation and progression». Особое внимание в вопросах прогрессирования рака и его метастазирования уделено процессам эпителиально-мезенхимального перехода (ЭМП). Возможность подавления ЭМП открывает путь к определению новых терапевтических мишеней и стратегий.

1. Исследование возможных причин неудовлетворительных результатов лечения рака эндометрия и рака яичников

По данным [2], важную роль в возникновении и прогрессии рака играет локальный синтез эстрогенов, которые могут формироваться из андрогенов и эстроген-предшественников через ароматазный и сульфатазный пути, соответственно. Исследовали вклад сульфатазного пути в активное образование эстрогенов при РЭ и РЯ с использованием клеточных линий. Изучен профиль эстрогеновых метаболитов, сформированных из 2,3; 8,5 и 85 нм эстронсульфата (E1-S) с или без сульфатазного ингибитора STX64. Сульфатазный путь по-разному способствует синтезу эстрона (E1) и эстрадиола (E2) в клетках РЭ и РЯ. В случае РЭ это различие представляется связанным со стадией дифференциации. Клеточная линия умеренно дифференцированного РЭ II стадии синтезировала значительно более высокие уровни E1 и E2 по сравнению со слабо-дифференцированным РЭ III стадии и клетками контрольной линии. Формирование E1 и E2 было блокировано STX64. В случае РЯ вклад сульфатазного пути в синтез E1 и E2 мог быть связан с типом опухоли, из которой были получены модельные линии клеток. Они были выделены из серозной аденокарциномы и недифференцированной карциномы, оба типа РЯ синтезировали более высокие уровни E1 и E2, чем клетки РЭ типа I или контрольной линии; E1 и E2 формирование было блокировано STX64. Результаты подчеркивают межопухолевую гетерогенность РЭ и РЯ, а также то, что сульфатазный путь является важным источником пролиферативной активности эстрогенов в определенных типах РЭ и РЯ и перспективной терапевтической мишенью.

Работа [3] посвящена изучению еще одного молекулярного механизма прогрессирования РЯ, его рецидивов- изучению новых длинных некодирующих РНК, регулирующих связанные с опухолью гены, опосредованные микроРНК. Открытие длинных некодирующих РНК (lncRNAs) дает новые возможности в изучении патогенеза рака, включая механизмы регуляции генов на клеточной РНК-модели. Целью этой работы была идентификация новых некодирующих РНК, потенциально подверженных регуляции связанных с опухолью белков, подверженных влиянию miRNA, связанных с образованием метастазов РЯ. Биоинформационный скрининг lncRNAs был представлен базой данных, основанных на TCGA транскрипции. Была выделена lncRNAs, потенциально



связанная с 10 метастаз- ассоциированными miRNAs (miR-124,-125b, -129, -148a, -203,-375 и т.д., $rs=0-1, p<0,002$). Были выделены lncRNAs/miRNA/mRNA триплеты, включающие 10 целевых miRNAs, использующих все важные пары lncRNAs/miRNA и miRNA/mRNA ($rs=0-1, p<0,002$). Уровень экспрессии 10 целевых miRNAs и выделенных 15 lncRNAs и 25 протеин mRNAs были изучены с помощью ПЦР 40 образцов из РЯ. Была установлена отрицательная корреляция между уровнями РНК различных типов (-0,33; -0,63), отражающая потенциальные взаимодействия 7 пар lncRNAs/miRNA: MALAT1/mir-191, MAFG-DT/miR-203, 11miRNA/ mRNA, miR-148a/BCL2, miR-203/CDK4, miR-375/WNT4. Также были выявлены трипл- взаимодействия MALAT1/ miR-203/CDK4, MAFG-DT/ miR-148a/BCL2. Было установлено 90 положительных корреляций между lncRNAs и протеин mRNA. Полученные результаты могут быть использованы в изучении механизмов метастазирования РЯ и диагностике его рецидивов.

Работа [4] посвящена исследованию системы TrxR/Trx/Prx (тиоредоксинредуктаза/тиоредоксин/пероксиредоксин) в лекарственной резистентности рака на примере РЯ. Среди клеточных окислительно-восстановительных процессов система TrxR/Trx/Prx играет значительную роль и может быть важной частью ключевых событий в ответ на стресс и / или нарушение окислительно-восстановительного гомеостаза, приведших к изменению большинства жизненных функций клеток, в том числе таких как пролиферация, дифференцировка, апоптоз. Изучались изменения системы TrxR/Trx/Prx, а также окислительно-восстановительного состояния клеток во время формирования резистентности к цисплатину при карциноме яичников человека в SKOV-3 клетках. Установлено развитие лекарственной резистентности, которое сопровождалось повышением экспрессии генов не только изоформ тиоредоксинредуктазы (TRXR1 и TRXR2), но также изоформ пероксиредоксина (PRDX1, PRDX2, PRDX6). Было обнаружено снижение клеточного уровня активных форм кислорода (АФК) за счет усиления экспрессии ключевых антиоксидантных ферментов супероксиддисмутаза- SOD2, каталаза- CAT, глутатионпероксидаза- GPX1) и депрессия гена НАДФН-оксидазы (NOX5). Кроме того, увеличение отношения глутатион восстановленный/глутатион окисленный (GSH/GSSG), а также активность редокс-зависимого фактора транскрипции Nrf2 наблюдалась у резистентных клеток SKOV3/CDDP. Рост отношения GSH/GSSG за счет повышения уровня GSH, что необходимо для восстановления окисленной изоформы Prx6, было результатом усиления синтеза GSH де ново. Кроме того, было установлено, что понижающее действие siРНК на TRX1 увеличивало CDDP-индуцированную гибель резистентных клеток, которая была значительно повышена за счет суммарного использования понижающего действия siРНК на PRX6. Результаты свидетельствуют о важной роли TrxR/Trx/Prx системы в редокс-зависимом механизме устойчивости раковых клеток к цисплатину.

В нашей работе [5] в числе причин неудовлетворительного результата лечения РЯ при местно-распространенном процессе, короткого периода



ремиссии и низкой выживаемости рассматривается эпителиально-мезенхимальный переход (ЭМП). Перспективным подходом к разработке новых методов лечения РЯ поздних стадий может быть предотвращение ЭМП, в чем важную роль может играть определение в опухолях уровня E-кадгерина. Результаты иммуногистохимического исследования молекулярных маркеров опухолевого процесса bcl-2, цитокератина-7, E-кадгерина на парафиновых срезах в 12 образцах опухолей больных РЯ III-IV стадиями с серозными карциномами и 15 образцах больных после НПХТ (3 и более курсов) показали вероятность плохого прогноза дальнейшего течения РЯ у 37% больных. Опухоли этих больных характеризовались повышением экспрессии bcl-2 и снижением цитокератина-7 и E-кадгерина. В соответствии с теорией опухолевых стволовых клеток (ОСК), одним из факторов ЭМП, дедифференцировки клеток, перехода клеток к мезенхимальному фенотипу является разрыв межклеточных связей при снижении экспрессии E-кадгерина. Такие клетки обладают агрессивным злокачественным потенциалом, влияющим на выживаемость. Поэтому перспективным подходом к разработке новых методов лечения РЯ поздних стадий может быть предотвращение утраты E-кадгерина.

2. Исследование возможных причин неудовлетворительных результатов лечения рака молочной железы

В работе [6] химиорезистентность трижды негативного рака молочной железы (ТНРМЖ) рассматривается как одна из причин неудовлетворительного результата лечения этой патологии. Роль межклеточных взаимодействий опухоли в приобретении химиорезистентности недооценивалась до недавнего времени. Модель такого взаимодействия подразумевает передачу сигнала от умирающих при терапии химиочувствительных клеток к резистентным. В этом исследовании использовались две линии клеток ТНРМЖ с разной чувствительностью к цисплатину. Анализировались различия в белковых профилях секретомов чувствительных MDA-MB436 клеток, обработанных или необработанных цисплатином. Умирающие опухолевые клетки секретировали больше белков, чем контрольные клетки. Секретомы, индуцированные терапией, были обогащены кластером сплайсосомных белков, что не характерно для секретомы контроля. Далее оценивали влияние секретомов из умирающих или контрольных чувствительных клеток MDA-MB436 на резистентные MDAMB231 клетки. Влияние секретом умирающих чувствительных клеток привело к приобретению реципиентом более резистентного фенотипа клеток MDA-MB231. Такие изменения чувствительности сопровождаются не только измененной экспрессией генов, но также и массивным ремоделированием программы сплайсинга (сшивание нуклеотидных последовательностей мРНК эукариотов после вырезания из нее интронов) в клетке-реципиенте. Была создана линия клеток MDA-MB231-GFP для прямого совместного культивирования умирающих чувствительных клеток с резистентными с последующей проточной цитометрией, иммунофлуоресцентной микроскопией и измерением клеточного цикла реципиентных клеток. Было показано, что прямое совместное культивирование



привело к изменению пролиферации, клеточного цикла и экспрессии белков, ответственных за более агрессивный мезенхимальный фенотип в реципиентных клетках. Таким образом, выявление и подавление основных участников межклеточных взаимодействий при раке могут быть основой для создания новой стратегии противоопухолевой терапии.

Влияние биодоступности меди на эпителиально-мезенхимальный переход в клетках РМЖ было изучено в работе [7]. Медь является кофактором ферментов, участвующих в нескольких биохимических процессах, включая созревание коллагена, обезвреживание свободных радикалов и производство АТФ в митохондриях. Генетические нарушения (болезни Менкеса и Вильсона), нейродегенеративные заболевания (болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона) и рак связаны с нарушением гомеостаза меди. Известно, что медь участвует в росте и метастазировании опухоли. Несколько медь-связывающих белков (хелаторов меди) участвуют в эпителиально-мезенхимальном переходе (ЭМП), механизме, лежащем в основе образования метастазов. Однако роль меди при РМЖ не изучалась. Чтобы восполнить этот пробел, протестировали эффект двух хелаторов меди (тетратиомолибдат- ТТМ и триэтилететрамин- TRIEN) на ЭМП в клеточных линиях РМЖ, в присутствии или в отсутствии TGF β -цитокина, который, как известно, индуцирует ЭМП. Поэтому был проведен морфологический анализ клеток, а также иммуноблоттинг или иммунофлуоресцентная характеристика эпителиальных (E-кадгерин, окклюдин) и мезенхимальных (фибронектин, виментин) маркеров. Была проанализирована экспрессия некоторых медь-связывающих белков, чтобы проверить их изменения при ЭМП. Полученные данные позволяют предположить, что обработка клеток РМЖ хелаторами меди усиливает приобретение ими мезенхимального фенотипа.

В работе [8], посвященной изучению ТНРМЖ, отмечается, что репрессия GBP5 (гуанидинсвязывающего протеина 5) подавляет метастатический потенциал и экспрессию PD-L1 (лиганда 1 запрограммированной клеточной смерти) при ТНРМЖ. Этот субтип РМЖ является наиболее агрессивным субтипом в связи с его высоким метастатическим потенциалом. Недавно обнаружили иммунное уклонение по причине аномальной экспрессии запрограммированной клеточной смерти лигандом 1 (PD-L1) при метастатическом ТНРМЖ. Однако механизм, лежащий в основе метастатической прогрессии при ТНРМЖ во многом неизвестен. В данной работе установлено, что GBP5 экспрессируется в более высокой степени в тканях при ТНРМЖ, чем при другом типе РМЖ и в нормальной ткани молочной железы и может служить в качестве дополнительного прогностического маркера у больных РМЖ. Было установлено, что GBP5 связан с клеточной миграционной способностью при ТНРМЖ клеточных линий. Применение программы ген-обогащенного (GSEA) анализа GBP5 с соматическими генами при ТНРМЖ, показало, что GBP5 ап-регуляция может быть связана с интерферон- гамма ответом и NF- κ B сигнальными каскадами. Дополнительно было обнаружено, что коэкспрессия GBP5 с PD-L1 имела высокую степень корреляции в тканях при ТНРМЖ. Было показано, что GBP5



переключатель в клетках ТНРМЖ с более высоким уровнем GBP5 драматически подавляет ряд мигрировавших клеток, активность INF- γ /STAT1 TNF- α / NF- κ B сигнальных осей и экспрессию PD-L1. Важно, что комбинирование более высокого GBP5 и PD-L1 уровней предшествует самому короткому временному интервалу метастазов в мозг при РМЖ. Эти результаты не только объясняют функцию GBP5, но и продвигают новую стратегию комбинации метастазирование / иммуносупрессия ТНРМЖ путем воздействия на GBP5 активность.

Заключение и выводы.

Поскольку в настоящее время эффективность лечения таких онкологических патологий как РЭ, РЯ и РМЖ остается низкой, нами проанализированы причины низкой выживаемости больных, кратковременной ремиссии процесса на основе изучения молекулярных механизмов пролиферации раковых клеток, метастазирования, ЭМП, лекарственной резистентности и новые стратегии терапии, изложенные в некоторых работах ученых, представленных на 45 Конгрессе FEBS в 2021 году. Было установлено, что:

1. Сульфатазный путь является важным источником пролиферативной активности эстрогенов в определенных типах РЭ и РЯ, а также перспективной терапевтической мишенью.

2. В изучении механизмов метастазирования и диагностике рецидивов РЯ большое значение имеет выделение новых длинных некодирующих РНК (lncRNAs), регулирующих связанные с опухолью гены, опосредованные метастаз- ассоциированными микроРНК- miRNAs (miR-124,-125b, -129, -148a, -203,-375).

3. Система TrxR/Trx/Prx играет важную роль в редокс-зависимом механизме устойчивости клеток РЯ к цисплатину, что сопровождалось усилением активности антиоксидантных ферментов, синтеза GSH. Понижающее действие siРНК на TRX1 и PRX6 увеличивает гибель резистентных клеток,

4. Для торможения ЭМП перспективным подходом к разработке новых методов лечения РЯ поздних стадий может быть предотвращение утраты Е-кадгерина.

5. Совместное культивирование чувствительных к цисплатину и резистентных клеток ТНРМЖ привело к изменению пролиферации, клеточного цикла и экспрессии белков программы сплайсинга, ответственных за более агрессивный мезенхимальный фенотип в реципиентных клетках. Выявление и подавление основных участников межклеточных взаимодействий при раке могут быть основой для создания новой стратегии противоопухолевой терапии.

6. Причиной ЭМП в клетках РМЖ может быть потеря ими меди, нарушение гомеостаза этого металла, его биодоступности.

7. Репрессия гуанидинсвязывающего протеина GBP5 подавляет метастатический потенциал и экспрессию лиганда 1 запрограммированной клеточной смерти PD-L1 при ТНРМЖ.



Литература:

1. Павлова Т.Д., Князева М.В., Прокопюк А.В. Онкогинекология (учебное пособие для врачей онкогинекологов и акушеров-гинекологов)-2-е изд., испр. и доп.-Х.: Вид-во ТОВ «Щедра садиба плюс», 2014.-380с.
2. Gjorgoska M., Sinreih M., Lanisnik Risner T. Differences in the sulfatase pathway activity highlight a heterogeneity in endometrial and ovarian cancer cell lines // FEBS OPEN BIO, 2021.-V.11.-Suppl.1.-P-08. 2-51.-P.430.
3. Uroshlev L., Brovkina O., Pronina I.,Filippova E., Loginov V., Fridman M., Burdennyu A., Kazubskaya T., Kushlinskii N., Braga E. New LncRNAs regulating tumor-associated genes mediated by me miRNAs in ovarian cancer// FEBS OPEN BIO, 2021.-V.11.-Suppl.1.-P-08. 2-56.-P.432.
4. Kalinina E.V., Hasan A.A., Alsaidi A.H., Petrova A.S., Andreev Y.A., Lubova K.V., Shtil A.A., Chernov N.N. TrxR/Trx/Prx system and redox-dependent changes under development of cancer drug resistance// FEBS OPEN BIO, 2021.-V.11.-Suppl.1.-P-08. 5-25.-P.485.
5. Knyazyeva M., Prokopyuk A., Shus A. Prospects for studying the E-cadherin level in tumors of patients having ovarian cancer of III-IV stages // FEBS Open Bio, 2021.- Lublyana, Slovenia.-V. 11.- Supplement1.-P-08.2-16.-P.418. 103-507DOI:10.1002/2211-5463.13205
6. Shnaider P., Malyants I., Ivanova O., Anufrieva K., Arapidi G., Baymukhanova Z., Lagarkova M., Govorun V., Shender V. Under pressure: the role of splicesomal components in the acquisition of chemoresistance in breast cancer // FEBS OPEN BIO, 2021.-V.11.-Suppl.1.-P-08. 2-57.-P.432.
7. Vitaliti A., De Luca A., Rossi L. The effect of copper bioavailability on epithelial-to-mesenchymal transition in breast cancer cells// FEBS OPEN BIO, 2021.-V.11.-Suppl.1.-P-08.2-63.-P.435.
8. Shan-Wen Cheng, Po-Chin Chen, Min-Hsuan Lin, Tzong-Rong Ger, Hui-Wen Chiu and Yuan-Feng Lin. GBP5 repression suppresses the metastatic potential and PD-L1 expression in triple-negative breast cancer // FEBS OPEN BIO, 2021.-V.11.-Suppl.1.

Abstract. *The article contains the following sections:*

Introduction

1. Study of possible causes of unsatisfactory results in the treatment of endometrial and ovarian cancer.

2. Investigation of possible causes of unsatisfactory results of breast cancer treatment.

Conclusions

Treatment of ovarian, endometrial, and breast cancers of various histological types are characterized by frequent recurrences, low survival rates, and poor treatment outcomes. According to the participants of the 45th FEBS Congress, this may be due to local estrogen synthesis by the sulfatase pathway, long non-coding RNAs and metastasis-associated microRNAs, epithelial-mesenchymal transition in cancer cells, accompanied by the loss of E-cadherin, chemoresistance of cancer cells with impaired oxidative homeostasis and copper homeostasis, co-expression of guanidine-binding protein 5(GBP5) and death ligand PD-L1, etc. The research results open the way to new strategies for tumor treatment.

Key words: *ovarian, endometrial, breast cancer, mechanisms of tumor progression and chemoresistance, new treatment strategies*