

Ю.Й. Кудрявец<sup>1</sup>  
 Н.О. Безденєжних<sup>1</sup>  
 Н.І. Семесюк<sup>1</sup>  
 А.В. Жильчук<sup>2</sup>  
 О.О. Лихова<sup>1</sup>  
 О.А. Ковальова<sup>1</sup>  
 А.Л. Воронцова<sup>1</sup>  
 В.Є. Жильчук<sup>2</sup>  
 М.В. Глянько<sup>3</sup>  
 Ю.В. Жильчук<sup>4</sup>  
 Р.А. Кочерга<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України, Київ

<sup>2</sup>Рівненський обласний онкологічний диспансер, Рівне

<sup>3</sup>Краматорський обласний онкологічний диспансер, Краматорськ

<sup>4</sup>Інститут урології НАМН України, Київ, Україна

**Ключові слова:** мікрооточення пухлинних клітин, епітеліально-мезенхімальний перехід, рак молочної залози, метастазування, дисеміновані пухлинні клітини, цитокіни, кістковий мозок, біомаркери пухлинної прогресії.

Значну увагу в фундаментальній і клінічній онкології приділяють пухлинним клітинам (ПК), їх біології та чутливості до лікарських засобів, розглядаючи ці клітини як основну мішень терапевтичної стратегії. Разом з тим ПК перебувають у постійній взаємодії з мікрооточенням і системними факторами, які суттєво впливають на їх біологічні, цитогенетичні і фенотипові характеристики. У цих умовах стан пухлинної прогресії і злоякісності ПК постійно піддаються модифікації за участю мікрооточення. Така нестабільність створює своєрідну метаболічну і фенотипову динамічну гетерогенність пухлини, що впливає на результати терапії. Хоча останніми роками мікрооточення ПК (МПК) стало об'єктом пильної уваги дослідників, недостатньо глибоке розуміння його ролі стосовно діагностики і прогнозування пухлинного процесу спрощує підходи до протипухлинної терапії, що в результаті призводить до її неефективності. Особливу роль МПК відіграє як патогенетичний фон у розвитку метастатичного процесу та виникненні стану мінімальної залишкової хвороби (МЗХ).

## МІКРООТОЧЕННЯ ПУХЛИННИХ КЛІТИН ЯК ДЖЕРЕЛО МОДИФІКАТОРІВ ЕПІТЕЛІАЛЬНО-МЕЗЕНХІМАЛЬНОГО ПЕРЕХОДУ ТА МІШЕНЬ ДЛЯ ПЕРСОНІФІКОВАНОЇ ПРОТИПУХЛИННОЇ ТЕРАПІЇ

Мікрооточення пухлинних клітин (МПК), що походять з епітеліальної тканини, є осередком клітинних і гуморальних чинників, які за епігенетичними механізмами контролюють проліферативну активність пухлинних клітин і їх фенотипові характеристики. Зміна фенотипових властивостей клітин від окремих мезенхімальних ознак до повного стовбурового фенотипу становить основну визначальну характеристику злоякісної пухлини, що призводить до певної автономності її клітин, їх метастазування і резистентності до лікарських засобів. Окремі фактори МПК можуть виступати як маркери ступеня злоякісності пухлини та як мішені для протипухлинних засобів. У статті представлено результати визначення біомаркерних елементів МПК у кістковому мозку хворих на рак молочної залози ще до оперативного втручання. Це дозволило достовірно прогнозувати можливий ризик рецидиву захворювання і сприяло раціональній корекції протипухлинної терапії, знизило ризик метастазування. На моделі пухлин інших локалізацій продемонстровано зв'язок маркерів епітеліально-мезенхімального переходу (ЕМП) з клінічним перебігом захворювання. В експериментах *in vitro* показано активацію ЕМП прозапальними цитокінами і клітинами кісткового мозку хворих, у яких існує ризик метастазування, а також показана анти-ЕМП дія протипухлинних засобів, використаних у лікуванні.

На сьогодні вже встановлено, що в основі формування високозлоякісного і метастатичного фенотипу ПК, що в подальшому зумовлює стан МЗХ, лежить процес епітеліально-мезенхімального переходу (ЕМП) [1–4]. До регуляції останнього залучені численні родини транскрипційних факторів (ТФ) — Snail, Slug, Twist, Zeb та ін., що пригнічують продукцію білка адгезії E-кадгерину, включають зміни в експресії інших кадгеринів, віментину, β-катеніну та інших білків, які надають ПК підвищену здатність до міграції та тривимірної інвазії, стійкість до апоптозу та аноїкису. Ця програма трансдиференціювання, тобто переходу фенотипу клітин з епітеліального до мезенхімального або навпаки, у природі призначена для нормального розвитку організму та регенерації тканин. В онкогенезі в результаті цього процесу серед епітеліальних клітин первинної карциноми з'являються клітини, фенотип яких близький до мезенхімального. Ці новоутворені клітини мають ознаки стовбурових, володіють надвисокою автономністю та здатністю до міграції і, відповідно, до інвазії та дисемінації, що призводить до розвитку метастатичного каскаду [2–4].

Запуск програми ЕМП підкоряється як генетичним подіям (мутації, транслокації, делеції, активовані онкогени, сайлесинг генів та ін.), так і епігенетичним факторам, перш за все комбінаціям екстраклітинних сигналів МПК, причому останні є, мабуть, домінуючими чинниками регуляції. Найбільш очевидним свідченням залучення ЕМП до онкогенезу є здатність багатьох позитивних епігенетичних молекулярних регуляторів ЕМП стимулювати формування злоякісних пухлин та/або метастазів. Серед позитивних регуляторів ЕМП можна виділити такі білки, як MMP-3, BCL9-2, EGFR, c-Met, Gooseoid, Kaiso, TGF- $\beta$ , FOXC2, GSK-3 $\beta$ , Smad-3, Pez, Snail1, Snail2, ILK та широкий спектр факторів росту (ФР) і цитокінів. Спектр позитивних регуляторів ЕМП значно ширший, ніж негативних [5–10].

Фенотип клітин у процесі ЕМП набуває надзвичайної пластичності, зміни клітинних характеристик можуть відбуватися дуже швидко, іноді протягом одного клітинного циклу. Нами встановлено, що культивування ПК людини, отриманих із ракових полісерозитів (рак яєчника, молочної залози — РМЗ), супроводжується швидкою (протягом 3–5 подвоєнь) спонтанною конверсією фенотипу і зміною чутливості до хіміопрепаратів (ХП). Клітини втрачають мезенхімальну морфологію і стають епітеліальними, в них зростає експресія E-кадгерину і знижується експресія біомаркерів ЕМП, а чутливість до деяких препаратів (платини, алкалоїдів Вінка, камптеотину) суттєво зростає [11]. Тривала підтримка мезенхімальних характеристик впродовж пухлинної прогресії може залучати і численні генетичні зміни, внаслідок чого ці характеристики можуть стати стабільними і незворотними [12].

Клітинна і гуморальна складові МПК відіграють кардинальну роль у пухлинному рості та прогресуванні. Ключовими регуляторами ЕМП є клітинні компоненти строми пухлини, перш за все мезенхімальні стовбурові та ендотеліальні клітини [13–17]. Цитокіни і ФР (розчинні компоненти МПК) також активно впливають на функціонування програми ЕМП, як правило, стимулюючи її. Мікрооточення нормальних тканин, в свою чергу, впливає на ЕМП-фенотип — у метастазах карцином фенотип мезенхімальних метастатичних клітин за рахунок його вираженої пластичності ревертує до епітеліального [18]. За нашими даними, отриманими на новій клітинній лінії МКС [19], такі метастатичні клітини-ревертанти мають виражену епітеліальну морфологію, втрачають імунотиповий ЕМП-профіль і специфічні прометастатичні біологічні характеристики: у них відсутнє колонієутворення в агарі, вони набувають контактної інгібіції росту *in vitro* і втрачають туморогенність *in vivo*. Однак це не перешкоджає поступовому прогресивному росту ініційованого метастатичного вогнища [18].

Таким чином, незважаючи на успішне видалення первинної пухлини, процес ЕМП вже встигає забезпечити наявність дисемінованих ПК (ДПК),

внаслідок чого виникає так звана МЗХ (у віддалених ділянках тіла хворого існують «дрімаючі» клітини та мікрометастази, іноді за умов відсутності явних клінічних ознак захворювання). Тобто пухлинна хвороба є не локальним чи місцево-поширеним процесом, а системним захворюванням, загальним ускладненням якого є МЗХ [20]. На цей час вже існують деякі відомості щодо участі ЕМП у виникненні МЗХ, однак ця проблема ще недостатньо вивчена і потребує більш глибокого системного аналізу [21–23]. У зв'язку з цим встановлення механізмів формування МЗХ, ролі ЕМП у її становленні та перебігу може стати, на наш погляд, основою нового типу терапії, зокрема у контексті запобігання розвитку рецидивів та метастазів, що особливо важливо у випадках «радикального лікування» хворих онкологічного профілю.

В аспекті протипухлинної терапії в контексті МЗХ як мішень варто сприймати саме події, пов'язані з процесом ЕМП, оскільки він активує «дрімаючі» ПК, запускає повторну активацію мезенхімального фенотипу в епітеліальних метастатичних осередках (що наділяє їх клітини стовбуровими властивостями) та стимулює повторну інвазію і метастазування [20, 24–26]. Однак такі терапевтичні підходи досі не визначені. Хоча слід зазначити, що за мішень для препаратів використовують елементи сигнальних шляхів, які активують ЕМП. Так діють, наприклад, інгібітори рецепторів ФР, протизапальні нестероїдні препарати, деякі флавоноїди і метаболічні інгібітори.

Одним з основних органів-мішеней для виникнення МЗХ і вторинного вогнища пухлинного процесу є кістковий мозок (КМ) та кістки [27, 28]. Як відомо, КМ багатий ФР та цитокінами, які зумовлюють проліферацію та/або виживання ПК, що призводить до значного порушення балансу між двома важливими процесами — остеобластогенезом та остеокластогенезом, де саме останній стимулює пухлинне прогресування. Комбінація ПК разом із мезенхімальними стовбуровими клітинами КМ спричиняє розвиток запальних реакцій та формування судинної сітки пухлин; мігруючи в органи, останні утворюють метастатичні ніші для циркулюючих ПК [29–32].

Вищенаведене вказує на кардинальну роль визначення маркерів прогнозування перебігу захворювання. Для цього важливим є встановлення характеру взаємодії та взаємовпливу пухлинних і нормальних клітин у локальному мікрооточенні. Такий підхід буде сприяти розробці алгоритму визначення ризику розповсюдженості процесу за допомогою комплексу прогностичних чинників. У кожному клінічному випадку присутні як загальні, так і індивідуальні особливості перебігу вищезгаданих процесів, і встановлення панелі прогностичних маркерів забезпечить можливість персоналізованої терапії хворих онкологічного профілю [23].

Визначення ДПК у КМ досі залишається актуальною проблемою, особливо в аспекті прогнозу та за умов індивідуалізації протипухлинної терапії, заснованої на комплексному дослідженні клініч-

них показників та специфічних біомаркерів [33–37]. Поведінка ДПК у КМ залежить від їх фенотипу та мікрооточення, зокрема від рівня цитокінів. Як прямі індуктори і підтримувані ЕМП виступають прозапальні цитокіни (фактор некрозу пухлини (ФНП), інтерлейкін (ІЛ)-1 $\beta$ , ІЛ-6, колонієстимулюючий фактор (КСФ)-1, трансформуючий фактор росту (ТФР)- $\beta_1$ , фактор росту ендотелію судин (VEGF)); як природній інгібітор — інтерферон (ІФН), дія якого може бути реалізована як через пряму інгібіцію експресії рецепторів ФР та ТФ ЕМП, так і через індукцію поступової клональної перебудови клітинної популяції з втратою злоякісних варіантів клітин або переважанням відносно неагресивних прототипів клітин [5–10, 27, 38–43]. В аспекті прометастатичних цитокінів на особливу увагу заслуговує ФНП, або кахектин, чітко асоційований, крім метастазування, з кахексією пацієнтів онкологічного профілю [44–46]. Раніше нами була доведена його роль у створенні умов для метастатичного процесу в організмі [39, 47, 48]. Усі згадані вище фактори можуть відігравати роль певного патогенетичного фону для розвитку пухлинного та метастатичного процесу.

На сьогодні разом зі стандартними прогностичними факторами при РМЗ найбільш перспективною в клінічній практиці вважається малоінвазивна рідка біопсія (liquid biopsy), яка передбачає дослідження наявності у пацієнта циркулюючих в крові ДПК, пухлинної ДНК або РНК, міРНК як маркерів прогнозу [49].

Ми запропонували новий прогностичний алгоритм рідкої біопсії, побудований на виявленні імунцитохімічним методом ДПК, мікрометастазів та прозапальних цитокінів у КМ і периферичній крові (ПеК) хворих на РМЗ ще до початку лікування. За допомогою імунцитохімічного аналізу з використанням МкАТ проти панцитокератину людини нами встановлено, що ДПК у КМ пацієнтів із РМЗ виявляють лише у 36,4% випадків. При розрахунку частоти виявлення ДПК у КМ хворих на РМЗ з'ясовано, що у 48,5% таких випадків відбувалося прогресування захворювання за 24 міс спостереження (після операції). Водночас у зразках КМ хворих, що перебували у стані ремісії процесу, ДПК у КМ виявлені лише у 25,7% випадків ( $p < 0,05$ ).

У цій ситуації виявлення ДПК у КМ чи ПеК припиняє бути достатньо достовірним прогностичним маркером, оскільки не є беззаперечним показником розвитку рецидиву захворювання. Тому ми додатково дослідили рівень цитокінів у плазмі крові і КМ хворих на РМЗ за їх біологічною активністю (ФНП, КСФ-1, ІФН) або методом ELISA (ІЛ-1 $\beta$ , ІЛ-6, ТФР- $\beta_1$ , VEGF) та вивчили відповідність характеру перебігу пухлинного процесу з наявністю ДПК у КМ і рівнем низки цитокінів у КМ та ПеК. Встановлено, що рівень цитокінів у пацієнтів із РМЗ значно перевищував такий у здорових донорів. Це свідчить про виражений цитокіновий дисбаланс, що може відігравати роль своєрідного патогенетичного фону для розви-

тку пухлинного процесу. Проаналізовано зв'язок рівня цитокінів із наявністю ДПК у КМ, ризиком рецидиву захворювання і проведено оцінку прогностичної цінності цих показників [50–54].

Встановлено, що наявність ДПК у КМ, високий рівень активності ФНП та КСФ-1 у ПеК хворих на РМЗ із високою вірогідністю ( $p < 0,001$ ) свідчать про ризик виникнення рецидиву злоякісного процесу, що потребує коригування стандартних схем лікування. У 70,6% пацієнтів, у яких виявлено в КМ ДПК і відбувається клінічне прогресування захворювання, виявлено метастази саме у кістках. Це частіше статистично значуще ( $p < 0,05$ ), ніж утворення вісцеральних метастазів (17,6%) та метастазів у головному мозку (11,8%). Саме це дало нам підставу для застосування надалі бісфосфонатів у подальшому виборі схем лікування пацієнтів з високим ризиком прогресування.

Встановлено, що високий рівень ФНП ( $> 72$  пг/мл) у КМ і КСФ-1 ( $> 300$  од./мл) у ПеК хворих на РМЗ асоціюється з наявністю ДПК у КМ, з поширеністю злоякісного процесу на момент обстеження (метастази в лімфатичних вузлах) і високим ризиком рецидиву захворювання протягом наступних 2 років (ретроспективний аналіз). Рівень ФНП у КМ є достовірно вищим у пацієнтів із Нег-2/псу-позитивним типом РМЗ (56,2%), із варіантом трич негативного субтипу та базальним (59,8%) підтипом РМЗ. Серед хворих, що мають низький ризик прогресування захворювання (статус ДПК–ФНП–), 3-річна безрецидивна виживаність встановлена у 100% пацієнтів з люмінальним А та у 50% хворих з люмінальним Б підтипами. Слід підкреслити, що визначена нами нова прогностична панель маркерів добре доповнює традиційні прогностичні показники.

Визначення факторів, що впливають на ризик виникнення рецидиву захворювання, проведено за допомогою кореляційного аналізу Пірсона. Високий рівень ФНП та КСФ-1 у КМ ( $r = 0,788$  і  $r = 0,388$  відповідно) та ПеК ( $r = 0,628$  і  $r = 0,752$  відповідно) і наявність ДПК у КМ ( $r = 0,394$ ) хворих на РМЗ корелює із виникненням рецидиву ( $p < 0,05$ ). Оцінка ризику настання прогресування захворювання за допомогою регресійного аналізу методом Кокса підтвердила значущість таких показників, як наявність ДПК у КМ ( $p = 0,038$ ) і концентрація ФНП в КМ та ПеК  $> 72$  пкг/мл ( $p = 0,043$  і  $p = 0,003$  відповідно). Також вперше встановлено, що рівень ендогенного ІФН- $\alpha$  в ПеК ( $> 7,5$  МО/мл) хворих на РМЗ асоціюється з відсутністю ДПК у КМ ( $Se = 85,7\%$ ;  $Sp = 69,2\%$ ;  $p < 0,05$ ) і ремісією протягом спостереження ( $r = 0,612$ ;  $p < 0,05$ ). Однак не можна виключити, що активація ІФН є наслідком індивідуальної реакції пацієнтки на наявність в організмі ПК, оскільки відомо, що вони часто є індукторами саме ІФН- $\alpha$ .

На основі отриманих даних розроблено та запропоновано оптимальні диференційні схеми медикаментозного лікування хворих на РМЗ із різним ризиком рецидиву. У групі пацієнтів з високим ризиком



прогресування захворювання оптимальною є передопераційна поліхіміотерапія (ПХТ) за схемою АС → Р із золедроновою кислотою в післяопераційний період. Така тактика за показниками 3-річної загальної та 3-річної безрецидивної виживаності є більш ніж удвічі ефективнішою, ніж ПХТ за схемою АС. Для пацієнтів із низьким ризиком оптимальною залишається передопераційна ПХТ за схемою АС. При лікуванні хворих на РМЗ з метастатичним ураженням кісток значна ефективність терапії була досягнута при включенні в схеми лікування додатково, окрім бісфосфонатів, компонентів протизапальної терапії (антибіотики, нестероїдні протизапальні препарати).

Протизапальна терапія була застосована нами саме на підставі стратегії анти-ЕМП-лікування, оскільки відомо, що так зване пухлинне запалення є джерелом цитокінів і хемокінів, які активують і підтримують високий рівень експресії білків, асоційованих із ЕМП і метастазуванням. Цьому терапевтичному підходу сприяло виявлення ролі ЕМП як тригера рецидивів пухлинного процесу, показником якого були ДПК і прозапальні цитокіни в КМ хворих. Наявність цих маркерів чітко збігалася з іншими показниками запалення у хворих (високий рівень швидкості осідання еритроцитів і С-реактивного білка). Зараз для багатьох онкологів став очевидним тісний зв'язок між хронічним запаленням, пухлинним ростом і метастазуванням [54–57]. Запалення є активатором і стабілізатором рівня промета-статичного ТФ ЕМП — Snail [21, 22, 46, 58, 59]. У наших дослідженнях саме у пацієнтів із високим рівнем ФНП і ознаками запалення (група високого ризику прогресування РМЗ) метастази лише у кістках виявлено у 88,9% випадків, серед пацієнтів із низьким ризиком прогресування захворювання (статус ДПК–ФНП–) більш характерним було поєднання кісткових та вісцеральних метастазів у 16,6% обстежених.

Добре відомо, що бактеріальні ліпополісахариди є сильними індукторами ФНП в організмі, в зв'язку з чим, враховуючи підвищений рівень ФНП у пацієнтів з високим ризиком прогресування захворювання, одночасно з протизапальними препаратами ми застосовували антибіотики для зниження ризику індукції ФНП. Дійсно, у деяких дослідженнях доведено анти-ЕМП-активність антибіотиків, зокрема фторхінолонів [60].

Золедроніва кислота, третя генерація бісфосфонатів, пригнічує реалізацію програми ЕМП через інактивацію ядерного фактора NF- $\kappa$ B, активатором якого є ФНП — стимулятор ЕМП [61, 62]. У зв'язку з цим застосування нами золедронові кислоти було зумовлено як її терапевтичним, так і профілактичним ефектом.

Таким чином, нами науково обґрунтовано можливість оптимізації лікування хворих на РМЗ стадії T1–4N0–2M0 шляхом вибору персоналізованих схем терапії з урахуванням наявності/відсутності маркерів ЕМП (ДПК і рівня ФНП і КСФ-1 у КМ і ПеК). Доведено, що за наявності ДПК у КМ і одночасно високого рівня ФНП, КСФ-1 у КМ і ПеК виникає високий ризик метастатичного ураження кісток, що об-

ґрунтовує застосування у цих хворих бісфосфонатів, антибіотиків і протизапальних препаратів, серед мішеней дії яких є й елементи сигнальних шляхів ЕМП. Такий підхід дав свої позитивні результати у запобіганні рецидивам пухлинного процесу [63, 64].

Прогностична цінність виявлення ДПК у КМ була проаналізована нами також і у хворих на рак передміхурової залози (РПЗ). На відміну від пацієнтів із РМЗ, наявність ДПК у КМ хворих на РПЗ не виявила достовірної цінності цього показника стосовно прогнозу перебігу захворювання (табл. 1), принаймні для пацієнтів на ранніх етапах терапії.

Таблиця 1

Залежність характеру перебігу РПЗ від наявності ДПК у КМ

ДПК	Ремісія (n = 67)		Прогресування (n = 35)	
	n	%	n	%
Відсутні	42	62,7	17	48,6
Наявні	25	37,3	18	51,4

Однак ці дані, вірогідно, можуть бути переглянуті й доповнені при більш тривалих спостереженнях, оскільки роль КМ у виникненні кісткових метастазів при РПЗ не підлягає сумніву [65]. Крім того, не можна виключати, що певна частина ДПК у КМ вже втратила епітеліальні ознаки і «вислизає» з детекції антитілами до панцитокератину.

Характер перебігу РПЗ може залежати від фенотипових характеристик ПК. Особливо цінними можуть бути біомаркери, асоційовані з ЕМП. Одним із них є співвідношення між антигенами CD24/CD44, що характеризують стовбурові ПК (СПК), які походять з епітеліальної тканини. Показано, зокрема, що клітини РМЗ з маркерами CD24–/CD44+ володіють стовбуровими властивостями і генеруються шляхом активації сигнального шляху Ras/MAPK, який прискорюється при індукції ЕМП [25]. Дослідження нами характеру експресії цих маркерів у пухлинах хворих на РПЗ чітко показало прогностичну цінність CD24–/CD44+ щодо прогресування захворювання (табл. 2).

Таблиця 2

Залежність клінічного перебігу РПЗ від характеру експресії маркерів CD24/CD44 у ПК

CD24	Ремісія (n = 67)		Прогресування (n = 35)	
	n	%	n	%
–	25	37,3	31	88,6
+	42	62,7	4	11,4
CD44				
	n	%	n	%
–	31	46,3	6	17,1
+	36	53,7	29	82,9

Роль деяких маркерів ЕМП була досліджена нами в первинних пухлинах хворих на колоректальний рак (КРР). Визначення експресії білків Twist і E-кадгерину, асоційованих з ЕМП, і білків лікарської стійкості Торо II- $\alpha$  та ERCC1 виявилось інформативним та ефективним комплексом маркерів для прогнозування перебігу КРР за умов проведення хіміотерапії. Наявність E-кадгерин+ клітин свідчить про позитивний прогноз щодо виживаності хворого, тоді як наявність Торо II- $\alpha$  та ERCC1 достовірно погіршує прогноз [66]. Отри-

мані нами дані щодо участі молекул цитокератинів і Е-кадгерину в прогресуванні солідних пухлин узгоджуються с даними І.В. Василенко та співавторів [67], які показали, що в солідних пухлинах різних локалізацій можна спостерігати перехідні типи ЕМП; серед них найбільш агресивні ті, що відрізняються значним пригніченням експресії епітеліальних маркерів.

Клітинний та розчинний компоненти мікрооточення у КМ (зокрема ФНП), як вказано вище, відіграють ключову роль у модифікації властивостей метастатичних клітин [39, 47, 48, 68]. Для дослідження впливу компонентів мікрооточення КМ і визначення їх ролі у модифікації ЕМП-асоційованого фенотипу ПК при розвитку дисемінованого процесу нами розроблено клітинну систему безконтактного кокультування *in vitro* [19, 69]. Як ефектори та стромальні посередники ми використовували моноклеари з пунктів КМ пацієнтів з РМЗ із різним перебігом захворювання (прогресування чи ремісія) і фібробласти, які кокультували з клітинами РМЗ людини різних ліній (Т47D, MDA-MB-231, MCF-7, МКС, МКС-ТМ, МКС-Т5). Для встановлення ЕМП-профілю клітин, включення у систему безконтактного кокультування, визначили експресію найбільш характерних для ЕМП маркерів: Е-кадгерину, ТФ Slug та антигену СПК CD44. Виявилось, що кокультування з клітинами КМ хворих, у яких протягом 24 міс відбулося прогресування процесу, клітин РМЗ Т47D призвело до достовірного зростання серед останніх кількості Slug+ клітин (у 3,8 рази;  $p < 0,005$ ), на 26% — кількості CD44+ клітин та до зменшення на 43% ( $p < 0,05$ ) частки клітин, що експресують Е-кадгерин [19]. При кокультуванні клітин Т47D з клітинами КМ хворих на РМЗ, які під час спостереження перебували у ремісії, описані вище зміни не відбувалися, однак достовірно зменшувалася кількість CD44+ клітин ( $p < 0,05$ ).

Такі зміни в експресії маркерів ЕМП у ПК Т47D внаслідок їх кокультування з клітинами КМ пацієнтів із різним перебігом пухлинного процесу свідчать про регуляторну роль компонентів МПК, зокрема розчинних, і продукуються клітинними компонентами КМ. Отримані нами дані демонструють, що КМ хворих у стані ризику рецидиву пухлинного процесу може бути тригером злоякісних властивостей клітин, які депоновані у КМ і можуть бути надалі джерелом утворення метастатичних вогнищ. Дійсно, подальші клінічні спостереження показали, що саме у таких пацієнтів найчастіше виникають метастази у кістках, а також у головному мозку.

Серед широкого спектра розчинних прометастатичних компонентів у КМ присутній у значній кількості ФНП, про роль якого у процесі ЕМП і метастазування згадувалося вище. Логічно було дослідити його пряму дію на експресію маркерів ЕМП. На моделі клітин РМЗ МCF-7 ми показали, що ФНП активує в клітинах процес ЕМП: змінюється морфологія клітин з епітеліальних у бік мезенхімальних (рис. 1), пригнічується експресія епітеліальних маркерів і зростає експресія маркерів ЕМП (табл. 3). Дія

ФНП супроводжується значними цитогенетичними змінами в популяції — майже в 10 разів зростає кількість клітин з мікроядрами і у 2 рази — з протрузіями ядра. Тривале культивування клітин МCF-7 з ФНП з метою створення ФНП-модифікованої сублінії також викликало вищеописані стабільні зміни в клітинах. Крім того, в них зросли показники туморогенності (колонієутворення в агарі збільшилося у 6 разів), значно підвищилася міграційна активність (рис. 2) і зросла резистентність до деяких ХП (доксорубіцину, вінорельбіну). Разом з тим клітини зберегли здатність до реверсії в епітеліальний фенотип (див. табл. 3) під дією ІФН, який є анти-ЕМП-фактором [5, 6].

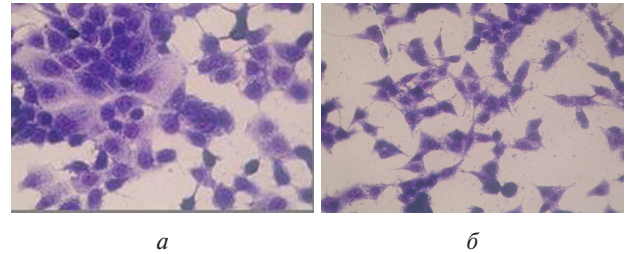


Рис. 1. Морфологічна конверсія клітин лінії МCF-7 з епітеліальних у мезенхімальні при їх культивуванні у присутності ФНП: а — МCF-7, контроль; б — МCF-7 + ФНП (1 нг/мл). Забарвлення за Романовським, зб.  $\times 300$

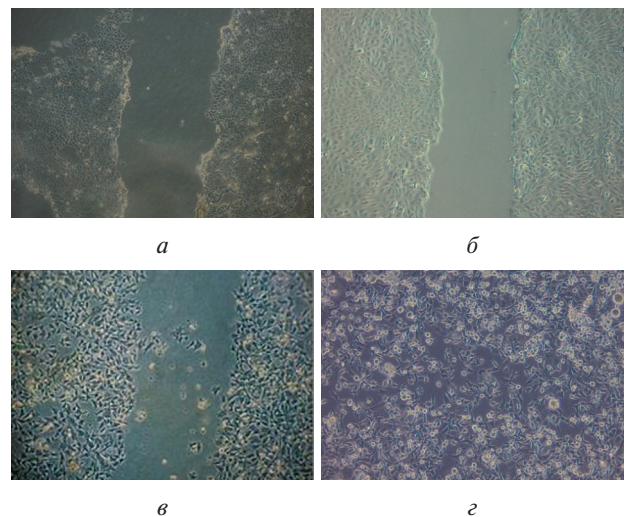


Рис. 2. Зростання міграційної активності клітин лінії МCF-7 внаслідок активації ЕМП під дією ФНП: а — МCF-7, контроль 0 год; б — МCF-7, контроль 24 год; в — МCF-7/ФНП, 0 год; г — МCF-7/ФНП, 24 год. Клітини у контролі значно повільніше заповнюють ділянку пошкодження моношару, ніж модифіковані ФНП клітини. Жива культура. Зб.  $\times 100$

Таблиця 3

Вплив ФНП на експресію біомаркерів ЕМП в клітинах МCF-7

Клітинні лінії/ маркери	MCF-7	MCF-7 + ФНП (1 нг/мл)	MCF-7/ ФНП	MCF-7/ ФНП + ІФН
	Оцінка за методом H-Score, балів			
Е-кадгерин	100 $\pm$ 11,0	58,5 $\pm$ 6,5	45 $\pm$ 3,0	95 $\pm$ 7,8
N-кадгерин	132 $\pm$ 16,5	198 $\pm$ 12,6	228 $\pm$ 13,4	93 $\pm$ 8,3
Віментин	106 $\pm$ 3,0	200 $\pm$ 22,0	106 $\pm$ 9,8	11 $\pm$ 0,7
panCK	137 $\pm$ 10,0	75 $\pm$ 16,2	85 $\pm$ 10,0	нд
Slug	170 $\pm$ 12,7	200 $\pm$ 0,0	151 $\pm$ 12,1	154 $\pm$ 13,0

нд — немає даних.

Наведені вище дані вказують, що ФНП є дуже активним модифікатором фенотипу ПК РМЗ щодо активації ЕМП. Доведено також, що ФНП індукує в ПК значні генотоксичні події, наслідком яких можуть стати незворотні фенотипові зміни клітин у бік зростання злоякісності. Однак дія ФНП як активатора ЕМП піддається реверсії за допомогою анти-ЕМП-фактора, яким є ІФН.

Показано [70], що режим метрономної низькодозової терапії хіміопрепаратами (НДТХП), особливо у поєднанні з ІФН, у пацієнтів з інкурабельним метастатичним КРР викликає в багатьох випадках регресію метастазів у печінці і значно підвищує 3-річну виживаність хворих. Одним з механізмів протипухлинного ефекту НДТХП, особливо у поєднанні з ІФН, було значне зниження рівня VEGF у крові пацієнтів. Отримані нами дані чітко корелювали з результатами інших дослідників. Досі всі акценти відносно ефективності та механізмів НДТХП стосувалися лише пригнічення пухлинного неангіогенезу. Разом з тим питання щодо дії НДТХП безпосередньо на ПК не ставилося, хоча продукція VEGF (часто самими ПК) обов'язково пов'язана з іншими клітинними змінами (проліферативними, фенотиповими) і нерідко є їх наслідком. У зв'язку з цим ми дослідили характер проліферативних і фенотипових змін в ПК в умовах дії ІФН і НДТХП.

В експериментах *in vitro* на моделі клітин лінії COLO-205 і HT-29, а також клітин метастатичного КРР людини на ранніх пасажах (до 20) ми показали, що пряма тривала дія (до 30 діб) НДТХП і ІФН *in vitro* в концентраціях у 10–20 разів нижче LD50 пригнічує прояви мезенхімального фенотипу клітин, інгібує клітинну проліферацію і колонієутворення в агарі. Інкубація клітин КРР з іринотеканом (ІТ), цисплатином (ЦП) та/або ІФН викликає генотоксичний ефект: значно зменшується кількість клітин, які діляться, і клітин із тороподібним ядром, суттєво збільшується кількість клітин з мікроядрами. Важливо, що при тривалій дії НДТХП клітини КРР не втрачають своєї чутливості до ХП в дозах LD50. Одночасно в ПК відбувається практично повне пригнічення експресії ФТ Slug і маркера СПК CD44 при різних комбінаціях препаратів. У монорезимі або в комбінації з ХП ІФН різко пригнічував всі ознаки ЕМП (табл. 4).

Таким чином, ми довели, що одним із механізмів ефективності НДТХП і ІФН у терапії хворих на рак може бути не тільки антиангіогенний ефект цих чинників, але й індуковані ними значні фенотипові зміни ПК, аж до повної реверсії ознак ЕМП у метастатичних клітинах із втратою їхньої злоякісності.

Надзвичайно важливим, на нашу думку, є встановлений факт практично повного пригнічення експресії ЕМП-асоційованого ФТ Slug під тривалим впливом низьких доз досліджуваних препаратів. Згаданий феномен відмічали і за умов монорезиму застосування препаратів, і при комплексному використанні ХП з ІФН. Слід зазначити, що тривала дія НДТХП на ПК не змінювала їхньої чутливості до ХП у терапевтичних дозах. Принципово важливим є те, що клітини лінії COLO-205, отримані з асцитичної рідини, мають виражений мезенхімальний фенотип, високотуморогенні *in vivo* і за цитогенетичними характеристиками та кількістю пасажів мають накопичення численних генетичних пошкоджень; однак їх «стабільний» мезенхімальний фенотип може бути кардинально змінений під дією використаних чинників.

У зв'язку з вираженою антиметастатичною профілактичною дією золедронові кислоти у хворих з високим ризиком рецидиву РМЗ, ми дослідили її здатність пригнічувати експресію в ПК біомаркерів ЕМП при кокультивуванні КМ пацієнтів із РМЗ з клітинами РМЗ. Виявилось, що препарат пригнічує проліферацію ПК і експресію маркерів ЕМП у хворих з ризиком рецидивів РМЗ.

Таким чином, проведені нами дослідження ще раз засвідчили важливу роль МПК, що виступає як джерело модифікаторів фенотипу і поведінки ПК, стимулятором їх проліферації і тригером прометастатичного ЕМП. Показано ЕМП-активуючу роль деяких конкретних модифікаторів ЕМП і наведено приклади анти-ЕМП-факторів, які і в експерименті, і в клінічних умовах можуть суттєво вплинути на перебіг пухлинного процесу. Акцентовано увагу саме на ефективності вибору елементів сигнальних шляхів ЕМП як мішеней протипухлинної терапії, перш за все на етапі метастатичного ризику і МЗХ.

Роботу виконано в рамках цільової програми наукових досліджень ВБФМБ НАН України «Функціональна геноміка і метаболоміка в системній біології» (номер державної реєстрації теми 0112U002193; 2012–2016 pp.).

#### СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Kalluri R, Weinberg RA. The basics of epithelial-mesenchymal transition. *J Clin Invest* 2009; **119** (6): 1420–8.
2. Mittal V. Epithelial mesenchymal transition in aggressive lung cancers. *Adv Exp Med Biol* 2016; **890**: 37–56.
3. Hollier BG, Evans K, Mani SA. The epithelial-to-mesenchymal transition and cancer stem cells: a coalition against cancer therapies. *J Mammary Gland Biol Neoplasia* 2009; **14** (1): 29–43.
4. Wang Y, Zhou BP. Epithelial-mesenchymal transition in breast cancer progression and metastasis. *Chin J Cancer* 2011; **30** (9): 603–11.

Таблиця 4

Експресія маркерів ЕМП у клітинах КРР лінії COLO-205 в умовах тривалої дії *in vitro* ІФН та НДТХП

Маркери	Препарати							
	Контроль	ІФН	ІТ	ЦП	ІТ + ЦП	ІТ + ІФН	ЦП + ІФН	ІТ + ЦП + ІФН
	Оцінка за методом H-Score, балів							
N-кадгерин	108,0 ± 22,0	< 10	< 10	32,0 ± 6,0	< 10	< 10	54,0 ± 9,0	< 10
CD44	118,6 ± 3,6	8,8 ± 2,2	105,4 ± 4,8	25,0 ± 1,7	72,2 ± 2,3	5,3 ± 2,3	12,3 ± 2,2	14,6 ± 1,7
Slug (в ядрі)	300	< 10	< 10	194,0 ± 3,2	< 10	< 10	< 10	< 10



5. **Kudryavets YuI, Bezdenezhnykh NO, Lykhova OO, et al.** The role of interferon as a modifier of epithelial-mesenchymal transition in tumor cells. *Exp Oncol* 2011; **33** (3): 178–81.
6. **Kudryavets YuI, Bezdenezhnykh NO, Lukyanova NYu, et al.** Modifying influence of prolonged action of interferon on phenotypic characteristics of human lung cancer cells *in vitro*. *Exp Oncol* 2008; **30** (4): 283–8.
7. **Воронцова АЛ, Безденежных НО, Жильчук ВС, Кудрявец ЮИ.** Пригнічення інтерфероном-альфа експресії VEGF в пухлинних клітинах та його рівня в сироватці крові онкологічних хворих. *Урологія* 2009; **3**: 48–52.
8. **Kovaleva OA, Bezdenezhnykh NO, Glazko TT, et al.** Karyotype alterations in human lung adenocarcinoma cells after long-term action of interferon-alpha. *Exp Oncol* 2010; **32** (1): 19–22.
9. **Lykhova A, Bezdenezhnykh N, Semesiuk N, et al.** Loss of malignancy in mouse melanoma cells by long-term impact of recombinant interferon-beta *in vitro* is associated with N- and VE-cadherins suppression without inhibition expression of epithelial-mesenchymal transition transcription factors Twist and Slug. *J Anal Oncol* 2014; **3** (3): 136–45.
10. **Lykhova A, Kudryavets Yu, Strokovska L, et al.** Suppression of proliferation, tumorigenicity and metastasis of lung cancer cells after their transduction by interferon-beta gene in baculovirus vector. *Cytokine* 2015; **71**: 318–26.
11. **Bezdienieznykh N, Lykhova A, Semesiuk N, et al.** Establishment and characterization of new breast and ovarian cancer cell lines as a model for studying cellular plasticity *in vitro*. *Exp Oncol* 2016; **38** (2): 94–100.
12. **Willis RE.** Targeted cancer therapy: vital oncogenes and a new molecular genetic paradigm for cancer initiation progression and treatment. *Int J Mol Sci* 2016; **17** (9) pii: E1552.
13. **Mishra PJ, Mishra PJ, Humeniuk R, et al.** Carcinoma-associated fibroblast-like differentiation of human mesenchymal stem cells. *Cancer Res* 2008; **68** (11): 4331–9.
14. **Loebinger MR, Eddaoudi A, Davies D, Janes SM.** Mesenchymal stem cell delivery of TRAIL can eliminate metastatic cancer. *Cancer Res* 2009; **69** (10): 4134–42.
15. **Dawson MR, Chae SS, Jain RK, Duda DG.** Direct evidence for lineage-dependent effects of bone marrow stromal cells on tumor progression. *Am J Cancer Res* 2011; **1** (2): 144–54.
16. **Houthuijzen JM, Daenen LGM, Roodhart JML, Voest EE.** The role of mesenchymal stem cells in anti-cancer drug resistance and tumour progression. *Brit J Cancer* 2012; **106**: 1901–6.
17. **Kalluri R, Zeisberg M.** Fibroblasts in cancer. *Nat Rev Cancer* 2006; **6**: 392–401.
18. **Tsai JH, Yang J.** Epithelial-mesenchymal plasticity in carcinoma metastasis. *Genes Dev* 2013; **27** (20): 2192–206.
19. **Bezdenezhnykh N, Semesiuk N, Lykhova O, et al.** Impact of stromal cell components of tumor microenvironment on epithelial-mesenchymal transition in breast cancer cells. *Exp Oncol* 2014; **36** (2): 72–8.
20. **Krishnamurthy S, Cristofanilli M, Singh B, et al.** Detection of minimal residual disease in blood and bone marrow in early stage breast cancer. *Cancer* 2010; **116** (14): 3330–7.
21. **Moody SE, Perez D, Pan TC, et al.** The transcriptional repressor Snail promotes mammary tumor recurrence. *Cancer Cell* 2005; **8** (3): 197–209.
22. **De Craene B, Berx G.** Snail in the frame of malignant tumor recurrence. *Breast Cancer Res* 2006; **8** (4): 105.
23. **Demirkan B.** The roles of epithelial-to-mesenchymal transition (EMT) and mesenchymal-to-epithelial transition (MET) in breast cancer bone metastasis: potential targets for prevention and treatment. *J Clin Med* 2013; **2** (4): 264–82.
24. **Jayachandran A, Dhungel B, Steel JC.** Epithelial-to-mesenchymal plasticity of cancer stem cells: therapeutic targets in hepatocellular carcinoma. *J Hematol Oncol* 2016; **9** (1): 74.
25. **Morel AP, Lièvre M, Thomas C, et al.** Generation of breast cancer stem cells through epithelial-mesenchymal transition. *PLoS One* 2008; **3** (8): e2888.
26. **Hollier BG, Evans K, Mani SA.** The epithelial-to-mesenchymal transition and cancer stem cells: a coalition against cancer therapies. *J Mammary Gland Biol Neoplasia* 2009; **14** (1): 29–43.
27. **Roodman GD.** Mechanisms of bone metastasis. *N Engl J Med* 2004; **350**: 1655–64.
28. **Guise TA, Kozlov WM, Heras-Herzig A, et al.** Molecular mechanisms of breast cancer metastases to bone. *Clin Breast Cancer* 2005; **5** (Suppl 2): 46–53.
29. **Chantrain CF, Feron O, Marbaix E, DeClerck YA.** Bone marrow microenvironment and tumor progression. *Cancer Microenv* 2008; **1**: 23–35.
30. **Liu C, Liu Y, Xu XX, et al.** Mesenchymal stem cells enhance the metastasis of 3D-cultured hepatocellular carcinoma cells. *BMC Cancer* 2016; **16**: 566.
31. **McDonald LT, Russell DL, Kelly RR, et al.** Hematopoietic stem cell-derived cancer-associated fibroblasts are novel contributors to the pro-tumorigenic microenvironment. *Neoplasia* 2015; **17** (5): 434–48.
32. **Xiong Y, McDonald LT, Russell DL, et al.** Hematopoietic stem cell-derived adipocytes and fibroblasts in the tumor microenvironment. *World J Stem Cells* 2015; **7** (2): 253–65.
33. **Осинский СП, Глузман ДФ.** Диссеминированные опухолевые клетки в крови и костном мозге (молекулярный прогноз в клинической онкологии). *Онкол* 2006; **8** (2): 102–8.
34. **Alix-Panabieres C, Pantel K.** Circulating tumor cells: liquid biopsy of cancer. *Clin Chem* 2012; **59** (1): 110–8.
35. **Banys M, Krawczyk N, Fehm T.** The role and clinical relevance of disseminated tumor cells in breast cancer. *Cancers* 2014; **6** (1): 143–52.
36. **Чехун ВФ.** От системной биологии рака до методологии персонализированного лечения. *Онкология* 2012; **14** (2): 84–8.
37. **Жильчук ВС.** Розробка шляхів до підвищення ефективності медикаментозного лікування хворих на рак молочної залози. *Здоров'я жінки* 2009; **41** (5): 23–6.
38. **Бережная НМ, Чехун ВФ.** Система интерлейкинов и рак (новые аспекты взаимодействия опухоли и организма). К: ДИА, 2000. 224 с.
39. **Кудрявец ЮИ.** Модифицирующее влияние рекомбинантного фактора некроза опухолей на метастатический потенциал опухолевых клеток. *Эксперим онкол* 1990; **12** (1): 43–7.
40. **Воронцова АЛ.** Интерферон и противоопухолевая резистентность при метастазировании. *Метастазирование опухолей: Патогенетические аспекты.* Под ред.: проф. *КП Балицкого.* К.: Наукова думка, 1991: 11–42.
41. **Sapi E.** The role of CSF-1 in normal physiology of mammary gland and breast cancer: an update. *Exp Biol Med* 2004; **229**: 1–11.
42. **Barcellos-Hoff MH, Alhurst RJ.** Transforming growth factor-beta in breast cancer: too much, too late. *Breast Cancer Res* 2009; **11**: 202–7.
43. **Goldberg JE, Schwertfeger KL.** Proinflammatory cytokines in breast cancer: mechanisms of action and potential targets for therapeutics. *Curr Drug Targets* 2010; **11** (9): 1133–46.
44. **Sethi G, Sung B, Aggarwal BB.** TNF: a master switch for inflammation to cancer. *Front Biosci* 2008; **13**: 5094–107.
45. **Guadagni F1, Ferroni P, Palmirota R, et al.** TNF/VEGF cross-talk in chronic inflammation-related cancer initiation and progression: an early target in anticancer therapeutic strategy. *In Vivo* 2007; **21** (2): 147–61.
46. **Wu Y, Zhou BP.** TNF-a/NF-kB/Snail pathway in cancer cell migration and invasion. *Brit J Cancer* 2010; **102**: 639–44.
47. **Кудрявец ЮИ, Дидковская ЛП.** Рекомбинантный фактор некроза опухолей способствует формированию гематогенных метастазов в легких мышей C57BL/6. *Эксперим онкол* 1990; **12** (2): 47–50.
48. **Кудрявец ЮИ.** Усиление образования опухолевых узлов в легких мышей под влиянием фактора некроза опухолей. *Эксперим онкол* 1998; **20** (2): 114–8.

49. **Kalia M.** Biomarkers for personalized oncology: recent advances and future challenges. *Metabolism* 2015; **64**: 16–21.

50. **Кудрявцев ЮЙ, Жильчук ВС, Воронцова АЛ та ін.** Панель прогностичних маркерів виникнення рецидиву пухлинного процесу у хворих на рак молочної залози. Деклараційний патент на корисну модель UA, 2014, А61В 17/00, № 90143.

51. **Semesiuk N, Zhylchuk A, Bezdenezhnykh N, et al.** Disseminated tumor cells and enhanced level of some cytokines in bone marrow and peripheral blood of breast cancer patients as predictive factors of tumor progression. *Exp Oncol* 2013; **35** (4): 295–302.

52. **Семесюк НІ, Жильчук АВ, Безденежних НО та ін.** Прогностичне значення рівня колонієстимулюючого фактора 1 в периферичній крові та кістковому мозку хворих на рак молочної залози. *Гематол і переливання крові* 2012; **36**: 232–7.

53. **Семесюк НІ, Жильчук АВ, Безденежних НО та ін.** Фактор некрозу пухлин в периферичній крові та кістковому мозку хворих на рак молочної залози як маркер прогресії пухлинного процесу. *Онкологія* 2012; **14** (4): 293–7.

54. **Semesiuk NI, Zhylchuk AV, Bezdenezhnykh NO, et al.** High levels of proinflammatory cytokines tumor necrosis factor alpha, interleukin 1-beta and interleukin 6 in the bone marrow and peripheral blood of breast cancer patients as predictors of relaps. *Studia Biologica* 2014; **2**: 17–29.

55. **Multhoff G, Molls M, Radons J.** Chronic inflammation in cancer development. *Front Immunol* 2012; (2): 98.

56. **Atsumi T, Singh R, Sabharwal L, et al.** Inflammation amplifier, a new paradigm in cancer biology. *Cancer Res* 2014; **74** (1): 8–14.

57. **Crusz SM, Balkwill FR.** Inflammation and cancer: advances and new agents. *Nat Rev Clin Oncol* 2015; **12** (10): 584–96.

58. **Yang CC, Wolf DA.** Inflamed Snail speeds metastasis. *Cancer Cell* 2009; **15**: 355–7.

59. **De Craene B, Gilbert B, Stove C, et al.** The transcription factor snail induces tumor cell invasion through modulation of the epithelial cell differentiation program. *Cancer Res* 2005; **65**: 6237–44.

60. **Chen TC, Hsu YL, Tsai YC, et al.** Gemifloxacin inhibits migration and invasion and induces mesenchymal-epithelial transition in human breast adenocarcinoma cells. *J Mol Med (Berl)* 2014; **92** (1): 53–64.

61. **Green JR.** Antitumor effects of bisphosphonates. *Cancer* 2003; **97** (Suppl 3): 840–7.

62. **Schech AJ, Kazi AA, Gilani RA, Brodie AH.** Zoledronic acid reverses the epithelial-mesenchymal transition and inhibits self-renewal of breast cancer cells through inactivation of NF- $\kappa$ B. *Mol Cancer Ther* 2013; **12** (7): 1356–66.

63. **Жильчук АВ, Семесюк НІ, Кудрявцев ЮЙ.** Особливості клінічного перебігу злякисного процесу і біомаркери високого ризику розвитку рецидиву захворювання у хворих на рак грудної залози. *Здоров'я жінки* 2015; **8** (104): 176–9.

64. **Жильчук АВ.** Оптимізація лікування хворих на рак молочної залози з високим ризиком виникнення рецидиву неопластичного процесу [Автореф дис ... канд мед наук]. Київ: ІЕГОР ім. Р.Є. Кавецького НАН України, 2016. 26 с.

65. **Jin J-K, Dayyani F, Gallick GE.** Steps in prostate cancer progression that lead to bone metastasis. *Int J Cancer* 2011; **128** (11): 2545–61.

66. **Безденежних НО, Жильчук ВС, Глянько МВ та ін.** Експресія в пухлинних клітинах маркерів епітеліально-мезенхімального переходу та білків лікарської стійкості в якості прогностичного показника у хворих на колоректальний рак. *Онкологія* 2016; **18** (1): 48–54.

67. **Василенко ІВ, Кондратюк РБ, Кудряшов АГ и др.** Особенности эпителиально-мезенхимальной трансформации в раках различной локализации и гистологического строения. *Клин онкол* 2012; **5** (1): 163–7.

68. **Peinado H, Lavotshkin S, Lyden D.** The secreted factors responsible for pre-metastatic niche formation: old sayings and new thoughts. *Semin Cancer Biol* 2011; **21** (2): 139–46.

69. **Bezdenezhnykh N, Semesiuk N, Lykhova O, et al.** Impact of stromal cell components of tumor microenvironments on epithelial-mesenchymal transition in breast cancer cell. *Exp Oncol* 2014; **36** (2): 72–8.

70. **Чехун ВФ, Максим'як ГІ, Жильчук ВС та ін.** Шляхи вдосконалення медикаментозної терапії хворих на рак прямої кишки з метастазами в печінку: переваги метрономного режиму хіміотерапії. *Онкол* 2011; **13** (3): 229–33.

## MICROENVIRONMENT OF TUMOR CELLS AS A SOURCE OF MODIFIERS OF EPITHELIAL-MESENCHYMAL TRANSITION AND TARGET FOR PERSONALIZED ANTICANCER THERAPY

*Yu.I. Kudryavets, N.O. Bezdenezhnykh, N.I. Semesyuk, A.V. Zhylchuk, O.O. Lykhova, O.A. Kovalova, A.L. Vorontsova, V.E. Zhylchuk, M.V. Hlyanko, Yu.V. Zhylchuk, R.A. Kocherha*

**Summary.** *Microenvironment of tumor cells (MTC), originating from epithelial tissue is the source of the cellular and humoral factors which control the proliferative activity of cancer cells and their phenotypic characteristics. Changing the phenotypic properties of individual cells from minimal mesenchymal signs to the complete stem features is the primary defining characteristic of malignant tumors, leading to certain autonomy of its cells and their metastasis and drug resistance. In this situation the individual factors of the MTC may serve as markers of the degree of malignancy of the tumor and as a target for anticancer drugs. This article summarizes the results of studies in which in patients with breast cancer managed to identify biomarker elements of the MTC in bone marrow even before surgery. It is allowed reliably predict the possible risk of disease recurrence and facilitate rational correction of anticancer therapy that reduced the risk of metastasis. In the tumors of different localization have demonstrated close relationship of EMT biomarkers in tumors with the clinical course of the disease. In vitro experiments we have revealed some of the mechanisms of EMT that were activated by proinflammatory cytokines and bone marrow cells of patients with metastatic risk and have showed anti-EMT effect of anticancer drugs used in the treatment.*

**Key Words:** microenvironment of tumor cells, epithelial-mesenchymal transition, breast cancer, metastasis, disseminated tumor cells, cytokines, bone marrow, biomarkers of tumor progression.

**Адреса для листування:**

Кудрявцев Ю.Й.

03022, Київ, вул. Васильківська, 45

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

E-mail: kudryavets@mail.ru

Одержано: 11.11.2016