

УДК 616-006:576.385.5:615.277.3

СУЧАСНІ УЯВЛЕННЯ ПРО МНОЖИННУ ЛІКАРСЬКУ СТІЙКІСТЬ, А ТАКОЖ НОВІТНІ МАРКЕРИ РАКУ МОЛОЧНОЇ ЗАЛОЗИ

Сергеева Н.С., Санкін Ю.Ю.

Національний медичний університет імені О.О. Богомольця

Ніколайчук В.С.

Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського

Богатчук А.О.

Івано-Франківський національний медичний університет

Шпиленко О.Ф.

Запорізький державний медичний університет

Рак молочної залози (РМЗ) – одне з найпоширеніших онкологічних захворювань жінок України. В цьому огляді представлено сучасні розуміння по молекулярні механізми множинної лікарської стійкості (МЛС), а також про деякі нові біологічні прогностичні маркери РМЗ. Розбираються дані, що показують, що транспортні протеїни родини АВС (АВС-транспорттери) впливають на пухлинну прогресію не тільки шляхом індукції лікарської стійкості клітин, але і в зв'язку з їх участю в експресії ознак малігнізації. Серед нових прогностичних маркерів МЛЮ РМЗ обговорюються серин-треонінових фосфатаз 2А, рецепторна протеїназа РТК7, фасцин – протеїн, що сприяє зв'язуванню ниток актину в пучки, багатфункціональний протеїн УВ-1. Обговорюються перспективи досліджень МЛЮ при РМЗ.

Ключові слова: рак молочної залози, прогресія пухлин, множинна лікарська стійкість, біологічні маркери пухлини, транспортні білки родини АВС.

Постановка проблеми. Одною з основних перешкодою на шляху успішного лікування РМЗ залишається стійкість пухлин до лікарських препаратів, в першу чергу множинна лікарська стійкість (МЛС).

Аналіз останніх досліджень і публікацій. На думку більшості фахівців лікарська стійкість визначається перш за все тим, що механізми, що визначають стійкість пухлинних клітин, множинні і різноманітні. Лікарська стійкість може бути пов'язана з підвищеною активністю транспортних протеїнів родини АВС, що виводять чужорідні речовини з клітин [1]. Такий тип резистентності зазвичай називають множинною лікарською стійкістю (МЛС), так як клітини з підвищеною активністю АВС-транспорттерів можуть стати стійкими до великої кількості речовин, з різним механізмом дії. Серед цих речовин хіміопрепарати, що використовуються при терапії раку молочної залози (РМЗ), – доксорубіцин, даунорубіцин, вінбластин, паклітаксел [2]. Причиною резистентності до цисплатину може бути знижений енергозалежна надходження препарату в клітини [3]. Резистентність до хіміопрепаратів може бути пов'язана з функціонуванням систем детоксикації, зокрема з системою багаточільових оксидаз Р450 [4], а також з системами репарації ДНК [5]. Важливим механізмом лікарської стійкості є порушення програм загибелі клітин [6]. Порушення функціонування сигнальних шляхів клітини, залучених в контроль її проліферації і виживання, також можуть служити механізмом лікарської стійкості [7]. В останні роки з'явилися дані про важливу роль мікроРНК в прогресії і лікарської стійкості РМЗ [8].

Виділення невирішених раніше частин загальної проблеми: Комбінації різних механізмів лікарської стійкості нерідко виявляються в клітинах РМЗ. Лікарська стійкість пухлинних клітин тісно пов'язана з основними ознаками злоякісної трансформації [9], що ще раз підкреслює складність цієї проблеми.

Формулювання цілей статті. Метою даної статті є аналіз сучасних даних, що відносяться до деяких механізмів лікарської стійкості РМЗ, як вихідних, так і набутих у результаті лікування.

Виклад основного матеріалу дослідження.
Транспортні протеїни сімейства АВС. Один з важливих механізмів лікарської стійкості – транспортні протеїни сімейства АВС (далі – АВС-транспорттери) [10]. Місцем їх локалізації найчастіше є плазматична мембрана клітини, через яку АВС-транспорттери переміщують свої субстрати. Активний транспорт субстратів може здійснюватися проти градієнта концентрації і залежить від гідролізу аденозинтрифосфату [10]. У геномі людини 48 генів кодують АВС-транспорттери. Інтенсивні дослідження показали, що основними АВС-транспорттерами, що визначають МЛС різних новоутворень, є АВСВ1, АВСС1 і АВСС2. Це, безсумнівно, відноситься і до РМЗ.

АВС-транспорттери та ознаки злоякісної трансформації. АВС-транспорттери виконують в клітині не тільки захисні функції, вони можуть впливати і на основні ознаки злоякісної трансформації [11]. Так, показано, що АВСС1 (M11P1) бере участь в аутокринній регуляції проліферації через стимуляцію виходу з клітин лізофосфоліпіді лізофосфатидилінозитолу, який, зв'язуючись з відповідним рецептором на поверхні клітин, стимулює їх розмноження [12]. АВС-транспорттери вивільняють з клітин такі біологічно активні ліпіди, як простагландини та лейкотрієни, які здатні активувати сигнальні каскади, що регулюють проліферацію, міграцію, виживаність клітин [13]. АВСС1 в культивованих клітинах нейробластом людини впливав на їх виживання: нокаун АВСС1 потенціював загибель клітин [14]. Виведення, у навколишнє середовище пухлинних клітин, ліпідів і сигнальних молекул може впливати на експресію клітинами цитокінів.

АВС-транспорттери та стовбурові клітини пухлин. Роль АВС-транспорттерів в еволюції пух-

лин тісно пов'язана з їх експресією в стовбурових клітинах пухлин (СКП). Під СКП розуміють клітини, здатні до самовідновлення (здатність ділитися і існувати, не диференціюючись при цьому). Другою особливістю СКП є те, що частина дочірніх клітин може диференціюватися, утворюючи специфічні для даної тканини елементи [15]. З самого початку проблема СКП виявилася тісно пов'язаною з АВС-транспортерами: з'ясувалося, що деякі з АВС-транспортів гіперекспресовані в нормальних стовбурових клітинах і в СКП [16]. Це перш за все АВСG2, АBB1 і АВСС1, а також АВСС5 [17]. З'явилися дані, що показують, що в нормальних стовбурових клітинах на певних етапах їх існування експресується значна кількість генів, що кодують АВС-транспортери [17].

Стовбурові клітини пухлин. Для пухлин існування СКП вперше було продемонстровано на матеріалі РМЗ. Було показано, що в популяціях РМЗ є мала фракція з фенотипом CD44high/CD24low [18]. При лікуванні хворих на РМЗ лікарськими препаратами може наростати кількість клітин, що характеризуються ознаками СКП. Так, виявлено, що після неoad'ювантної хіміотерапії в пухлинах молочної залози збільшується кількість клітин з фенотипом CD44+/CD24-. Це відбувається досить швидко – приблизно через 12 тижнів лікування [19]. При цьому підвищувалася здатність клітин РМЗ формувати маммосфери [19]. Було показано, що транскрипція генів, характерних для СКП, зростала при впливі лікарських препаратів [19].

Порушення регуляції мікроРНК. За останнє десятиліття стало ясно, що в злоякісній трансформації клітин і в пухлинній прогресії, важливу роль грають порушення регуляції мікроРНК. МікроРНК – це родина малих одноланцюгових РНК довжиною в 21-23 нуклеотиди, що не кодують протеїни. Вони регулюють експресію генів на посттранскрипційному рівні. Нещодавно з'явилося повідомлення, що експресія miR-34a може бути фактором прогнозу при РМЗ [20]. Дослідження трьох когорт пацієнток, що включало приблизно 1500 осіб, показало, що втрата miR-34a була асоційована зі зменшення виживання. Істотно при цьому, що це стосувалося тільки пацієнтів, у яких не були вражені регіонарні лімфовузли [20]. Таким чином, у відносно благополучній групі хворих на РМЗ визначення miR-34a дозволило виділити групу підвищеного ризику. Це перше дослідження такого роду, проте якість роботи і велика вибірка хворих дозволяють сподіватися на підтвердження отриманих результатів.

Багатофункціональний пухлинний супресор p53. Добре відомо, що інактивація функції протеїну p53 – найбільш часте молекулярне порушення в злоякісних пухлинах. У 50-60% новоутворень людини (більш ніж 50 різних типів) виявляються мутації гену p53 [21]. Більше 90% мутацій p53 є місенс-мутаціями, що призводять до заміни однієї з амінокислот в молекулі протеїну на іншу. Характерні для пухлинних клітин місенс-мутації призводять до зміни конформації молекули протеїну p53, що в значній мірі впливає на його активність: відбувається втрата або ослаблення здатності зв'язувати і активувати гени з p53-респонсивними елементами.

Нові біологічні прогностичні маркери раку молочної залози та лікарська стійкість пухлинних клітин:

У літературі періодично з'являються повідомлення про виявлення та дослідженні нових прогностичних маркерів РМЗ. Такі маркери належать до різних компартментів та приймають участь у різних шляхах сигнальної трансдукції клітини і в цілому досить поширені в пухлинах молочної залози [22].

PP2A (protein phosphatase 2A). PP2A є пухлинним супресором (антионкогенів), який призводить до пригнічення в клітинах цілого ряду процесів, асоційованих з канцерогенезом і пухлинної прогресією. Нещодавно було показано, що PPP2R3C (регуляторна субодиниця PP2A) зв'язується з протеїном МЛС Pgr і дефосфорилює його [23]. Нокдаун PPP2R3C призводить до зростання експресії Pgr на поверхні клітин і до підвищення активності цього транспортера, що виводить з клітин багато речовин. При цьому виникає стійкість клітин до вінкристину і доксорубіцину. Висловлено припущення, що з фосфорилуванням Pgr пов'язано дозрівання цього протеїну і його транслокації всередині клітини [23]. Ці дані – один з небагатьох прикладів прямої участі антионкогену в регуляції експресії і активності Pgr. Подальші дослідження PP2A при РМЗ представляється перспективним [24].

PTK7 (protein tyrosine kinase 7). Нещодавно показано, що протеїн PTK7 може бути маркером РМЗ [86]. PTK7 належить до родини рецепторних протеїнкіназ. Це висококонсервативний протеїн, який бере участь у визначенні ряду ознак клітини і, зокрема, полярності клітин в площині клітинного моношару (planar cell polarity). PTK7 – трансмембранний протеїн, що містить 7 імуноглобулін-подібних петель, трансмембранний домен і каталітичний тирозинкіназний домен [25]. Ліганд цього рецептора поки не ідентифіковано.

У дослідженні [25] на 117 хворих на РМЗ вперше отримані дані, що свідчать про те, що при РМЗ спостерігається кореляція між підвищеною експресією PTK7 і агресивністю РМЗ, а саме – здатністю пухлинних клітин мігрувати з основного пухлинного вузла в лімфовузли, а також давати початок віддаленим метастазам. Порівняння впливу PTK7 на ефективність хіміотерапії показало, що хворі з підвищеною експресією PTK7 резистентні до лікування антрациклінами.

Фасцин (Фн). Належить до групи протеїнів, які сприяють організації актинового цитоскелету. Добре відомо, що цитоскелет відіграє найважливішу роль у багатьох біологічних процесах і його організація має безпосереднє відношення до клітинної рухливості, яка визначає процеси інвазії і метастазування пухлинних клітин [26]. Показано, що підвищення експресії Фн призводить до активного утворення протрузій мембрани і збільшення клітинної рухливості [27]. У нормі Фн експресується лише в деяких спеціалізованих тканинах, але при малігнізації виявляється, що цей протеїн експресується в різних пухлинах, включаючи пухлину молочної залози [28]. При цьому виявлена кореляція між експресією Фн і агресивністю і метастазуванням пухлини [28]. А нещодавно був виявлений виражений зв'язок між експресією Фн і резистентністю РМЗ до хіміотерапії [29].

УВ-1 (У-бокс-зв'язуючий білок 1). Протеїн УВ-1 є членом суперродини протеїнів клітин ссавців, що володіють еволюційно консервативним доменом холодового шоку і зв'язуються з ДНК і РНК. Цей протеїн бере участь в цілому ряді клітинних процесів, включаючи проліферацію, диференціювання і відповідь на стресові впливи [30]. Продемонстровано здатність УВ-1 посилювати або пригнічувати транскрипцію різних генів не тільки самостійно, але і через взаємодію з іншими транскрипційними факторами, наприклад YY-1, AP-2, NF-κB/RelA, DbpA, NF-Υ, p53, Snail [31]. Участь УВ-1 в регуляції трансляції залежить від його концентрації в клітині: показано, що низька концентрація цього протеїну стимулює трансляцію, а висока – пригнічує [32]. Під контролем УВ-1 знаходиться синтез багатьох клітинних протеїнів, в тому числі протеїнів клітинної захисту, що визначають лікарську стійкість пухлин (ABCВ1, він же Pgp; MVP/LRP), протеїнів, що беруть участь в процесах клітинної проліферації (цикліні А і В1, ДНК-полімераза аль-

фа), рецепторів факторів росту (НЕК-2), елементів позаклітинного матриксу (ММР-13, колагену) тощо. [33]. Ці дані свідчать про те, що УВ-1 бере участь у регуляції багатьох життєво важливих процесів клітин різних типів диференціювання, і є потенційним кандидатом для дослідження в якості маркера прогресії різних пухлин.

Висновки з даного дослідження і перспективи. Дослідження останнього часу підтвердили уявлення про те, що МЛС пухлинних клітин – складний, багатокомпонентний феномен. Інтенсивні дослідження дозволили охарактеризувати деякі з механізмів МЛС і продемонстрували, що різні механізми МЛС можуть бути взаємопов'язані і співіснувати в одній клітині. У цьому огляді були описані деякі нові біологічні прогностичні маркери РМЗ, а також проаналізовані механізми МЛС, які свідчать, що подолання МЛС – непросте завдання, що поки далеке від остаточного рішення. Безумовно, дослідження в цьому напрямку будуть і повинні активно розвиватися.

Список літератури:

1. Stavrovskaya A. A. Cellular mechanisms of multiple drug resistance of malignant cells (review). *Biokhimiya = Biochemistry* 2000; 65 (1):112-26.
2. Dean M. ABC transporters, drug resistance, and cancer stem cells. *J Mammary Gland Biol Neoplasia* 2009; 14 (1):3-9.
3. Shen D. W., Goldenberg S., Pastan I., Gottesman M. M. Decreased accumulation of [¹⁴C] carboplatin in human cisplatin-resistant cells results from reduced energy-dependent uptake. *J Cell Physiol* 2000; 183 (1):108-16.
4. McDonnell A. M., Dang C. H. Basic review of the cytochrome p450 system. *J Adv Pract Oncol* 2013; 4 (4):263-8.
5. Salehan M. R., Morse H. R. DNA damage repair and tolerance: a role in chemotherapeutic drug resistance. *Br J Biomed Sci* 2013; 70 (1):31-40.
6. Lowe S. W., Ruley H. E., Jacks T., Housman D. E. p53-Dependent apoptosis modulates the cytotoxicity of anticancer agents. *Cell* 1993; 74 (6):957-67.
7. Davis N. M., Sokolosky M., Stadelman K. et al. Deregulation of the EGFR/PI3K/PTEN/Akt/mTORC1 pathway in breast cancer: possibilities for therapeutic intervention. *Oncotarget* 2014; 5 (13):4603-50.
8. Mulrane L., McGee S. F., Gallagher W. M., O'Connor D. P. miRNA dysregulation in breast cancer. *Cancer Res* 2013; 73 (22):6554-62.
9. Hanahan D., Weinberg R. A. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* 2011; 144 (5):646-74.
10. Gottesman M. M., Fojo T., Bates S. E. Multidrug resistance in cancer: role of ATP dependent transporters. *Nat Rev Cancer* 2002; 2 (1):48-58.
11. Fletcher J. I., Haber M., Henderson M. J., Norris M. D. ABC transporters in cancer: more than just drug efflux pumps. *Nat Rev Cancer* 2010; 10 (2):147-56.
12. Pineiro R., Maffucci T., Falasca M. The putative cannabinoid receptor GPR55 defines a novel autocrine loop in cancer cell proliferation. *Oncogene* 2011; 30 (2):142-52.
13. Reid G., Wielinga P., Zelcer N. et al. The human multidrug resistance protein MRP4 functions as a prostaglandin efflux transporter and is inhibited by nonsteroidal antiinflammatory drugs. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100 (16):9244-9.
14. Peaston A. E., Gardaneh M., Franco A. V. et al. MRP1 gene expression level regulates the death and differentiation response of neuroblastoma cells. *Br J Cancer* 2001; 85 (10):1564-71.
15. Bonnet D., Dick J. E. Human acute myeloid leukemia is organized as a hierarchy that originates from a primitive hematopoietic cell. *Nat Med* 1997; 3 (7):730-7.
16. Moitra K., Lou H., Dean M. Multidrug efflux pumps and cancer stem cells: insights into multidrug resistance and therapeutic development. *Clin Pharmacol Ther* 2011; 89 (4):491-502.
17. Barbet R., Peiffer I., Hutchins J. R. et al. Expression of the 49 human ATP binding cassette (ABC) genes in pluripotent embryonic stem cells and in early- and late-stage multipotent mesenchymal stem cells: possible role of ABC plasma membrane transporters in maintaining human stem cell pluripotency. *Cell Cycle* 2012; 11 (8):1611-20.
18. Al-Hajj M., Wicha M. S., Benito-Hernandez A. et al. Prospective identification of tumorigenic breast cancer cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100 (7):3983-8.
19. Li X., Lewis M. T., Huang J. et al. Intrinsic resistance of tumorigenic breast cancer cells to chemotherapy. *J Natl Cancer Inst* 2008; 100 (9):672-9.
20. Agarwal S., Hanna J., Sherman M. E. et al. Quantitative assessment of miR34a as an independent prognostic marker in breast cancer. *Br J Cancer* 2015; 112 (1):61-8.
21. Kopnin B. P. Tumour suppressors and mutator genes. In: *Carcinogenesis*. D. G. Zaridze (ed.). Moscow: Meditsina, 2004. Pp. 125-57. (In Russ.)
22. Dos Anjos Pultz B., da Luz F. A., de Faria P. R. et al. Far beyond the usual biomarkers in breast cancer: a review. *J Cancer* 2014; 5 (7):559-71.
23. Katayama K., Yamaguchi M., Noguchi K., Sugimoto Y. Protein phosphatase complex PP5/PPP2R3C dephosphorylates P-glycoprotein/ABCВ1 and down-regulates the expression and function. *Cancer Lett* 2014; 345 (1):124-31.
24. Perrotti D., Neviani P. Protein phosphatase 2A: a target for anticancer therapy. *Lancet Oncol* 2013; 14 (6):e229-38.

25. Ataseven B., Gunesch A., Eiermann W. et al. PTK7 as a potential prognostic and predictive marker of response to adjuvant chemotherapy in breast cancer patients, and resistance to anthracycline drugs. *Onco Targets Ther* 2014; 7:1723-31.
26. Vasilyev Yu. M., Gelfand I. M. Interaction between normal and neoplastic cells and environment. Moscow: Nauka, 1981. 820 p.
27. Yamashiro S., Yamakita Y., Ono S., Matsumura F. Fascin, an actinbundling protein, induces membrane protrusions and increases cell motility of epithelial cells. *Mol Biol Cell* 1998;9 (5):993-1006.
28. Yoder B. J., Tso E., Skacel M. et al. The expression of fascin, an actin-bundling motility protein, correlates with hormone receptor negative breast cancer and a more aggressive clinical course. *Clin Cancer Res* 2005;11 (1):186-92.
29. Ghebeh H., Al-Khaldi S., Olabi S. et al. Fascin is involved in the chemotherapeutic resistance of breast cancer cells predominantly via the PI3K/Akt pathway. *Br J Cancer* 2014;111 (8):1552-61.
30. Eliseeva I. A., Kim E. R., Gur,yanov S. G. et al. Y-box-binding protein 1 (YB-1) and its functions. *Uspekhi biologicheskoy khimii – Advances in Biological Chemistry* 2011; 51:65-132.
31. Davicioni L. P., Triche T. J. E., Sorensen P. H. Translational activation of snail1 and other developmentally regulated transcription factors by YB-1 promotes an epithelial-mesenchymal transition. *Cancer Cell* 2009; 15 (5):402-15.
32. Skabkin M. A., Skabkina O. V., Ovchinnikov L. P. Multifunctional proteins with cold shock domain in regulation of gene expression. *Uspekhi biologicheskoy khimii – Advances in Biological Chemistry* 2004; 44:3-51.
33. Jurchott K., Bergmann S., Stein U. et al. YB-1 as a cell cycle-regulated transcription factor facilitating cyclin A and cyclin B1 gene expression. *J Biol Chem* 2003; 278 (30):27988-96.

Сергеева Н.С., Санкин Ю.Ю.

Национальный медицинский университет имени А.А. Богомольца

Николайчук В.С.

Тернопольский государственный медицинский университет имени И.Я. Горбачевского

Богатчук А.О.

Ивано-Франковский национальный медицинский университет

Шпиленко О.Ф.

Запорожский государственный медицинский университет

СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О МНОЖЕСТВЕННОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ, А ТАКЖЕ НОВЫЕ МАРКЕРЫ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Аннотация

Рак молочной железы (РМЖ) – одно из наиболее распространенных онкологическое заболевание женщин в Украине. В данном обзоре представлены данные последнего времени о молекулярных механизмах МЛУ, а также о некоторых новых биологических прогностических маркерах РМЖ. Разбираются данные, показывающие, что транспортные протеины семейства ABC (ABC-транспортеры) влияют на опухолевую прогрессию не только путем индукции лекарственной устойчивости клеток, но и в связи с их участием в экспрессии признаков малигнизации. Среди новых прогностических маркеров МЛУ РМЖ обсуждаются серин-треониновая фосфатаза 2A, рецепторная протеинкиназа PTK7, фасцин – протеин, способствующий связыванию нитей актина в пучки, многофункциональный протеин YB-1. Обсуждаются перспективы исследований МЛУ при РМЖ.

Ключевые слова: рак молочной железы, прогрессия опухолей, множественная лекарственная устойчивость, биологические маркеры опухоли, транспортные протеины семейства ABC.

Sergeyeva N.S., Sankin Y.Y.

National Medical University named after A.A. Bogomolets

Nikolaichuk V.S.

Ternopil State Medical University named after I.Y. Gorbachevsky

Bohatchuk A.O.

Ivano-Frankivsk National Medical University

Shpylenko O.F.

Zaporozhye State Medical University

THE MODERN UNDERSTANDING OF THE MULTI-DRUG RESISTANCE, AS WELL AS NEW MARKERS OF BREAST CANCER

Summary

Breast cancer (BC) is the most common cancer among women in Ukraine. The new data concerning molecular mechanisms of MDR will be presented in this review. The recent data concerning some new biological prognostic markers will be also discussed. There are data showing that transporters of ABC family (ABC transporters) influence tumor progression not only by MDR induction but also by the influence on the traits of malignancy in tumor cells. Protein phosphatase 2A (PP2A, serine/threonine phosphatase), PTK7 (protein tyrosine kinase 7), fascin (an actin bundling cytoskeletal protein) multifunctional YB-1 protein will be considered as new BC prognostic markers. The perspectives of MDR studies will be discussed as well.

Keywords: breast cancer, tumor progression, multidrug resistance, biological tumor markers, transporters of ABC family.