

**В.Ф. Чехун,
Л.А. Налєска,
Л.М. Кунська,
Н.Ю. Лук'янова**

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

Ключові слова: *хронічний
стрес, стрес-індукуючі
фактори, рак молочної залози,
мікрооточення пухлини,
злоякісно трансформовані
клітини, пухлинна прогресія,
інвазія, метастатичний
процес, матриксини,
желатинази.*

DOI: <https://doi.org/10.15407/oncology.2024.03.157>

РУШІЙНА СИЛА ЕКЗОГЕННОГО ТА ЕНДОГЕННОГО СТРЕСУ ЯК ВАГОМОГО ФАКТОРУ МЕТАСТАТИЧНОЇ ПРОГРЕСІЇ РАКУ МОЛОЧНОЇ ЗАЛОЗИ. РОЛЬ ЖЕЛАТИНАЗ У РЕАЛІЗАЦІЇ ІНВАЗИВНО-МІГРАЦІЙНИХ ПРОЦЕСІВ

В огляді літератури загострюється увага на тому, що з сучасних позицій онкогенез є багаторічним процесом, у якому поряд з численними ініціюючими факторами різного походження чільне місце займає стрес. Стрес запускає механізми, які призводять до активації таких програм як проліферація, інвазія, міграція пухлинних клітин на різних етапах формування новоутворення. Завдяки інтеграції таких дій відбувається розповсюдження злоякісно трансформованих клітин в організмі, рецидивування видалених пухлин та метастазування. Останнім часом показано, що внаслідок хронічного стресу спостерігається поляризація більшості пухлинних клітин до мезенхімального фенотипу. Крім того, відбувається вивільнення протеаз, зокрема желатиназ MMP-2 та MMP-9, які здійснюють руйнування та ремоделювання позаклітинного матриксу, що сприяє метастазуванню злоякісно трансформованих клітин. Наведені об'єктивні показники змін під впливом стресу, які після перевірки їх значущості можуть бути використані у якості прогностичних критеріїв та мішеней для персоналізованого вирішення лікувальної тактики щодо хворих на РМЗ.

РАК МОЛОЧНОЇ ЗАЛОЗИ ТА СТРЕС: СУЧАСНІ ПОГЛЯДИ ЩОДО ВПЛИВУ ОСТАНЬОГО НА РІВНІ ПУХЛИНИ, ЇЇ МІКРООТОЧЕННЯ, ОРГАНІЗМУ

Нові підходи до вирішення тієї чи іншої проблеми в галузі онкології завжди вселяють надію на неминучий успіх, особливо, коли це стосується найбільш розповсюджених злоякісних новоутворень, зокрема раку молочної залози (РМЗ) у жінок. У той же час, широке впровадження сучасних молекулярно-генетичних методів діагностики, а також застосування новітніх лікарських засобів таргетної терапії не принесли бажаних результатів. Щорічне зростання кількості вперше виявлених випадків хвороби [1] та метастатичне прогресування пухлинного процесу свідчать про необхідність більш виваженого погляду на особливості виникнення РМЗ, а також більш поглибленого вивчення механізмів біологічних взаємозв'язків не лише на рівні злоякісно-трансформованих клітин самої пухлини та стромы, але і позапухлинного матриксу у тісній кооперації між кожним з цих складових та деякими факторами зовнішнього середовища, які можуть стати драйверами метастатичної прогресії. Взаємозв'язок між психо-емоціональними факто-

рами та раком цікавить людей протягом століть. Здавна в соціумі існувала думка, що онкологічні захворювання пов'язані з “нервами”, тобто важким психо-емоціональним перевантаженням, яке зараз розглядається як різний за походженням стрес. З недавнього часу такий погляд поширився і став предметом наукових досліджень, особливо у зв'язку з військовими діями, які за силою впливу на психіку людини є найбільш небезпечними чинниками. Відомо, що тривалий вплив будь-яких подразників, факторів хронічного стресу може сприяти виникненню злоякісних новоутворень або стати причиною генералізації пухлинного процесу. Оскільки в пухлині та її мікрооточенні відбувається безліч (різноманітня) метаболічних процесів, молекулярно-генетичних, епігенетичних перебудов, деякі з них можуть розглядатися як стресові ситуації, а окремі з них — як фактори ризику прогресії РМЗ.

Відомо, що стрес є невід'ємною частиною життя. Гостра реакція на стрес, як правило, вважається корисною для боротьби з безпосередніми загрозами, триває від кількох хвилин до годин і пов'язана із зміцненням імунітету та стійкістю до раку. Хронічний стрес відноситься до безперерв-

ної, неспецифічної адаптаційної реакції організму, викликаній активацією класичної гіпоталамо-гіпофізарно-надниркової осі, яка порушує імунну відповідь і сприяє росту пухлини. Таким чином, хронічна дія негативних подразників має шкідливий вплив і може бути або сприяючим, або обтяжуючим фактором для багатьох хронічних захворювань, включаючи рак [2–4].

Встановлено, що реакція на стрес в основному опосередковується симпатичною нервовою системою (sympathetic nervous system, SNS) і вже згаданою віссю гіпоталамус-гіпофіз-наднирки (hypothalamus-pituitary-adrenal glands, HPA). Поряд з цим все більше доклінічних і клінічних спостережень свідчать про роль нейроендокринної системи в модуляції біології та прогресії пухлини. Порушення регуляції SNS і осі HPA сприяють ангіогенезу, проліферації та виживанню пухлинних клітин, зміні імунної відповіді та загостренню запальних мереж у мікрооточенні пухлини. Активність SNS та осі HPA призводить до вивільнення нейромедіаторів і гормонів, таких як катехоламіни та глюкокортикоїди, які викликають багато біохімічних і фізіологічних змін. Крім того, катехоламіни, що вивільняються при активації симпатичної нервової системи (зокрема адреналін і норадреналін), здатні зв'язуватися з рецепторами на поверхні або всередині імунних клітин через активацію α - і β -адренергічних рецепторів. Саме тривала активація SNS і HPA осі, відома як хронічний стрес [3].

Згідно сучасним уявленням про виникнення раку, канцерогенез — це процес, який тісно пов'язаний із стресом, а вивільнені стресом нейромедіатори, норадреналін і адреналін, а також їхні споріднені рецептори можуть брати участь у регуляції мікрооточення пухлини або сприяти системним змінам. Вважають, що адренергічна передача сигналів у фазі ініціації асоціюється з неопластичною трансформацією епітеліальних клітин молочної залози, тоді як під час прогресування раку — сприяє метастатичному потенціалу клітин РМЗ. Адренергічна передача сигналів є сприятливою для ангіогенезу та лімфангіогенезу і системно може індукувати утворення передпухлинних ніш, пов'язану з раком кахексію та зміни в імунній системі, що сприяє погіршенню якості життя хворих на РМЗ [5].

Ключові шляхи впливу стресу на прогресування раку включають: клітинну імунну відповідь, запалення, ангіогенез, розвиток метастазів з основним акцентом на посередницьку роль симпатичної нервової системи. Крім того, наслідком впливу стресу є також поляризація пухлинних клітин до більш мезенхімального фенотипу та вивільнення протеаз, таких як матричні металопротеїнази (matrix metalloproteinases, MMP), або матриксинів, які сприяють руйнуванню та ремоделюванню по-

заклітинного матриксу, забезпечуючи як локальне, так і дистальне поширення пухлини [6].

Одним із основних механізмів, за допомогою яких хронічний стрес впливає на прогресування раку, є зміни гуморального та клітинного імунітету. Хронічний стрес може призвести до зміни проліферативної здатності лімфоцитів і пригнічення імунної активності, що має відношення до клітинно-опосередкованого імунітету (тобто природних кілерів, цитотоксичних Т-лімфоцитів, дендритних клітин, макрофагів) [7, 8].

Слід зазначити, що бінарно поляризовані макрофаги M1 та M2, особливо пухлиноасоційовані макрофаги (tumor-associated macrophages, TAMs), є життєво важливим компонентом пухлинного мікрооточення, яке впливає на численні аспекти біології пухлинної клітини. TAMs сприяють запальним процесам у мікрооточенні пухлини шляхом прискорення ангіогенезу, індукування міграції та інвазії пухлинних клітин, а також епітеліально-мезенхімальному переходу (epithelial-mesenchymal transition, EMT) [9]. Ці клітини підтримують процес створення у пухлині нової судинної мережі і забезпечення злосудно трансформованих клітин поживними речовинами, киснем та шляхами для метастазування завдяки секреції проангіогенних факторів (зокрема, фактору росту ендотелію судин (vascular endothelial growth factor, VEGF), фактору росту тромбоцитів (platelet-derived growth factor, PDGF) та MMP). Доведено, що MMP, які секретують TAMs, відіграють подвійну роль у прогресуванні пухлини, сприяючи як ангіогенезу, так і метастазуванню. Так, MMP-9 і MMP-2 беруть участь в індукції ангіогенного перемикання, тоді як вісь MMP-9/VEGF контролює інтравазацію ракових клітин. Поряд з цим, спричинені стресом імунні зміни сприяють посиленню утворення та міграції у мікрооточенні пухлини багатьох прозапальних факторів, таких як IL-6, фактор некрозу пухлини (tumor necrosis factor, TNF- α). [3, 10].

Хронічний стрес загострює процес запалення та спричиняє порушення обміну речовин, що ускладнює підтримання гомеостазу організму та підвищує його сприйнятливості до раку. Викликана хронічним стресом дисрегуляція імунної системи призводить до прозапального стану як у центральній нервовій системі, так і на периферії. Збільшення кількості прозапальних цитокінів є сприятливим фактором для пухлиногенезу, індукуює пошкодження ДНК або пригнічує її відновлення через утворення активних форм кисню (reactive oxygen species, ROS) [11].

Багатьма дослідженнями підтверджується, що хронічний стрес може викликати стійке збільшення циркулюючих прозапальних факторів, таких як IL-6, IL-1 β і С-реактивний білок, і зрушувати баланс цитокінів з цитокінів Т-хелперів 1 типу (T-helper 1, Th1), які забезпечують захист від пух-

лини, на цитокіни Th2, які сприяють активації гуморального імунітету. Вважається, що хронічне запалення є критичним фактором ініціації, прогресування та метастазування пухлини і здійснюється кількома шляхами, включаючи підвищене окислювальне пошкодження та окислювальний стрес, мутації ДНК, вивільнення факторів, які сприяють інвазії пухлини, та факторів, що індують ангіогенез і метастазування. Індуковані стресом пропухлинні фактори, зокрема MMP і VEGF, можуть суттєво впливати на прогресування раку, стимулюючи виживання пухлинних клітин і, завдяки цьому, активний ріст новоутворення, метастазування та ухилення від контролю імунної системи [3, 12–15].

Існують докази, які ґрунтуються на клінічних спостереженнях, що хронічний психогенний стрес бере участь у різноманітних фізіологічних і патологічних процесах організму, сприяє прогресуванню захворювання, послаблюючи здоров'я пацієнта. Встановлено, що хворі на РМЗ, порівняно з особами з іншими типами раку, відчувають більший психо-емоціональний стрес. Це пов'язано не тільки із загрозливим для життя діагнозом, а також з побічним ефектом лікування — фізичними змінами, які можуть спричинити дисфункцію сімейного та соціального життя. Наслідком більш сильного стресу є безперервне вивільнення нейромедіаторів, що справляє негативний вплив на прогноз РМЗ [4].

На сьогодні хронічним стресом вважають безперервні емоційні зміни та психологічний тиск, які відчувають люди коли не можуть пристосуватися та стабілізувати внутрішнє середовище протягом тривалого періоду. Це може збільшити тиск на ендокринні медіатори та цитокіни в кровообігу, а також на тканини осі НРА та SNS. Вважають, що таким чином відбувається ініціація розвитку пухлини [16]. Доведено, що безперервна стимуляція НРА осі та SNS внаслідок хронічного стресу ініціює декілька процесів, що характеризують розвиток онкологічної патології, а саме: пухлиногенез, прогресування, метастазування і резистентність до багатьох лікарських засобів шляхом зміни мікрооточення пухлини.

В останнє десятиліття у багатьох дослідженнях акцентується увага на важливій ролі нейтрофілів у розвитку раку, зокрема на формуванні позаклітинних пасток нейтрофілів (extracellular traps of neutrophils, NET). Встановлено, що NET — це павутиноподібні структури, які вивільняються у позаклітинний простір активованими нейтрофілами і слугують потенційним антимікробним механізмом для захоплення та знищення мікроорганізмів. Накопичені дані, які свідчать, що у хворих на РМЗ NET беруть участь на різних стадіях розвитку раку, особливо на етапі метастазування. Роль NET у метастазуванні РМЗ розглядають як: сприяння

системній дисемінації ракових клітин; ініціацію запалення, пов'язаного з пухлинним процесом; полегшення асоційованого з ним тромбозу; сприяння утворенню передметастатичних ніш; активацією “сплячих” злоякісно трансформованих клітин [17].

Вважають, що NET є стрес-індукуючим фактором, що пов'язаний з кількома етапами прогресування пухлини, включаючи первинний ріст і метастазування [18]. Однією з ключових умов для набуття здатності до метастазування є ЕМТ, який являє собою складну клітинну програму. На клітинній лінії MCF7 було показано зміну під впливом ізольованого NET типової епітеліальної морфології клітин на мезенхімальний фенотип, який супроводжується посиленням міграційних властивостей. Спостерігали специфічні ознаки ЕМТ: підвищення експресії N-кадгерину та фібронектину, пригнічення експресії E-кадгерину. Отже, дослідження показали, що NET керують прометастатичним фенотипом у клітинах РМЗ через активацію програми ЕМТ. Крім того, NET позитивно регулюють експресію генів кількох факторів, пов'язаних із прозапальними та прометастатичними властивостями клітин РМЗ, включаючи IL-1 β /IL1B, IL-6/IL6, IL-8/CXCL8, CXCR1, MMP-2, MMP-9 і CD44. Загалом, модуляція утворення NET у мікрооточенні пухлини може представляти привабливу терапевтичну мішень для зменшення або навіть запобігання поширенню метастатів [18].

Яскравим підтвердженням того, що під впливом хронічного стресу відбувається ремоделювання мікрооточення пухлини є виникнення суттєвих змін останнього, зокрема, накопичення фібронектину, зниження інфільтрації Т-клітин і суттєве збільшення інфільтрації нейтрофілів. Деякі дослідники вважають, що нейтрофіли мають вирішальне значення для поширення раку у легені. Зниження чисельності нейтрофілів усуває спричинене стресом метастазування. Повідомляють, що хронічний стрес змінює нормальний циркадний ритм нейтрофілів і викликає посилене утворення NET через вивільнення глюкокортикоїдів. Проте, в експериментах у мишей з делецією специфічного для нейтрофілів глюкокортикоїдного рецептора хронічний стрес не сприяв збільшенню NET і метастазуванню. Крім того, розщеплення NET за допомогою ДНКазі I запобігало метастазуванню, спричиненому стресом. Отже, глюкокортикоїди, які виділяються під час хронічного стресу, викликають утворення NET і створюють мікросередовище для метастазування [19].

Згідно з сучасними поглядами основні механізми, за допомогою яких хронічний стрес регулює мікрооточення пухлини, включають: функціональну регуляцію пухлинних клітин гормонами стресу (набуття властивостей стовбурових клітин, мета-

стазування, ангиогенез, накопичення пошкоджень ДНК, резистентність до апоптозу), перебудову підмножини імунних клітин, метаболічне перепрограмування, імуносупресію і перипухлинну нейромодуляцію. Епідеміологічні та клінічні дослідження засвідчили, що стрес суттєво впливає на рецидив раку, метастазування та ефективність лікування хворих [20].

В експериментальних дослідженнях на моделі РМЗ у мишей, які зазнали хронічного стресу, встановлено, що процес метастазування характеризувався вираженою інтенсивністю з особливим проявом у легневих структурах. Поряд з цим, на клінічному матеріалі показано, що експресія білка холінацетилтрансферази ChAT у тканинах легень хворих на РМЗ з метастазами була значно вищою, ніж у пацієнтів з непухлинними захворюваннями легень. Хронічний стрес призводив до зміни субпопуляційного складу імунних клітин в легенях із вражаючим збільшенням вмісту нейтрофілів та сприяв посиленню утворення NET. На підставі зазначеного автори стверджують, що хронічний стрес сприяє продукції хемокіна CXCL2, який рекрутує нейтрофіли в легені і спонукає легеневі епітеліальні клітини виробляти ацетилхолін, що посилює NETosis нейтрофілів. Також вважають, що ацетилхолін епітеліальних клітин, викликаний хронічним стресом, відіграє ключову роль у ремоделюванні передметастатичної ніші РМЗ в легенях [21]. Висловлюються сподівання, що розуміння зв'язку між NET та метастазами РМЗ дасть важливу інформацію для розробки нових терапевтичних стратегій щодо хворих на РМЗ, а також, що NET можуть бути мішенями у боротьбі з метастатичним процесом [17].

СТРЕС-ІНДУКОВАНІ ЖЕЛАТИНАЗИ МІКРООТОЧЕННЯ ПУХЛИНИ ЯК ВАЖЛИВИЙ ФАКТОР МЕТАСТАТИЧНОЇ ПРОГРЕСІЇ РМЗ

Перш за все слід звернутись до загальновідомих фактів, що формування метастазів, як і розвиток первинної пухлини, є не автономною програмою, а поетапним процесом, який пов'язаний із мутаційними змінами пухлинних клітин і взаємодією між злоякісно трансформованими та нетрансформованими клітинами. За даними літератури в такій взаємодії приймають участь транскрипційні фактори (NF- κ B, ETS-1, Twist, Snail, AP-1, Zeb), хемокіни, цитокіни (зокрема, TGF- β), металопротеїнази (а саме MMP-9 і MMP-2) [22].

Доведено, що метастатичний процес у хворих на РМЗ характеризується складним механізмом каскаду перебудов, які полягають у втраті міжклітинної адгезії з наступним від'єднанням клітин від первинної маси пухлини, руйнуванні як базальної мембрани, так і позаклітинного матриксу під впливом MMP (зокрема MMP-2 та MMP-9),

а також посиленні рухливості клітин як однієї з умов метастатичного розповсюдження пухлини. Існують повідомлення, що активну участь у переліченому каскаді приймає комплекс Гольджі, а саме у секретії MMP, регуляції рухливості клітин і підтримці апіко-базальної полярності [23, 24].

Останнім часом збільшується кількість доказів, що вирішальну роль у прогресуванні РМЗ (перш за все, в інвазії та метастазуванні) відіграють макромоллекули позаклітинного матриксу (extracellular matrix, ECM), ферменти деградації та жорсткості — MMP. Крім того, сформований пухлиною ECM призводить до створення імуносупресивного мікрооточення і, таким чином, діє як бар'єр для захисту пухлини та підтримує її прогресування. Існуюча в пухлині мережа регулювання ремоделювання ECM перешкоджає розробці індивідуального протипухлинного лікування. У більшості злоякісних пухлин молочної залози ремоделювання ECM характеризується посиленням синтезу та відкладення колагену, що зазвичай супроводжується експресією ремоделюючих ферментів, таких як MMP, лізілоксидаза (LOX), лізілоксидазоподібні білки (LOXL), WNT1-білки індукційного сигнального шляху (WISP) та ін. На думку деяких фахівців, обсяг змін рівня експресії MMP у пухлинному мікрооточенні асоціюється зі ступенем злоякісності пухлини, що відображає значення структурного ремоделювання MMP у прогресуванні новоутворень епітеліального генезу, зокрема РМЗ [25].

Численними дослідженнями доведено, що першим сигналом метастазування є епітеліально-мезенхімальний перехід за участю різних факторів транскрипції, таких як Snail, Twist і Zeb1. Відомо, що ремоделювання ECM є основною подією, яка сприяє інвазії та метастатичній прогресії, де матриксини (MMP-2, -9, -11, -14) визнані головними компонентами, що руйнують матричні білки. У той же час, встановлені антиметастатичні властивості β -D маннуронової кислоти через інгібування MMP-2 і -9, яка може бути використана як потенційний терапевтичний засіб. Існують повідомлення, що прогресування РМЗ регулює ряд ферментів: LOXL2, LOXL4, проколаген-лізіл гідроксилаза-2 і гепараназа. Крім того, у розвитку РМЗ активну участь приймають білки ECM, зокрема інтегрини (b1-, b5- і b6-інтегрини), білок ECM1 і білок Hic-5. Розвитку раку та процесам метастазування сприяють також клітини строми, а саме TAMs та пухлиноасоційовані фібробласти. У зазначеному комплексі TAMs стають проангіогенними факторами через секретію VEGF-A та створення мережі судин для живлення і прискорення процесу інвазії пухлинних клітин [26].

Слід зосередити увагу на тому, що головні “гравці” у метастатичному процесі — матриксини (MMP), за походженням являють собою сі-

мейство цинк-залежних ендопептидаз, які здатні руйнувати різні білки позаклітинного матриксу. Як правило, MMP мають пропептидну послідовність, каталітичний металопротеїназний домен з каталітичним цинком, лінкерний пептид і домен гемопексину. MMP зазвичай класифікують на основі їх субстратів і організації структурних доменів на 6 основних класів, включаючи желатинази, колагенази, стромелізени, матрилізени, MMP мембранного типу та ін. MMP секретуються багатьма клітинами, включаючи фібробласти, гладкі м'язи судин (vascular smooth muscle, VSM) і лейкоцити. MMP регулюються на рівні експресії мРНК і шляхом активації за рахунок видалення пропептидного домену з їх латентної зимогенної форми. MMP часто секретуються в неактивній формі (проMMP), яка розщеплюється до активної форми різними протеїназами. MMP руйнують білкові субстрати ЕСМ, включаючи колаген і еластин. Протеолітична деградація ЕСМ генерує біоактивні речовини, завдяки дії MMP, вивільняє пов'язані з матриксом VEGF, підтримуючи ріст, міграцію та метастазування злоякісно трансформованих клітин [27, 28].

Встановлено, що MMP можуть впливати на функцію ендотеліальних клітин, а також на міграцію, проліферацію, передачу сигналів Ca^{2+} і скорочення клітин VSM. Ці ендопротеази відіграють важливу роль у ремоделюванні судинної тканини під час різних біологічних процесів, зокрема ангіогенезу, морфогенезу. MMP регулюються ендогенними тканинними інгібіторами металопротеїназ (tissue metalloproteinase inhibitors, TIMP), а співвідношення MMP/TIMP часто визначає ступінь деградації білка ЕСМ та ремоделювання тканини. Завдяки цим властивостям вважають, що MMP можуть використовуватись у якості біомаркерів та потенційних терапевтичних мішеней [27].

Поряд з участю у широкому спектрі біологічних процесів, як у фізіологічних умовах, так і при патологічних станах, MMP відіграють важливу роль на різних етапах пухлиногенезу. Одним із важливих представників MMP, що активно задіяні у процесі метастазування на його початкових етапах, є сімейство желатиназ, яке складається із двох членів MMP-2 і MMP-9. Вони мають три повтори домену фібронектину II типу в каталітичному домені, який зв'язується з желатином, колагенами та ламініном [29]. Назва “желатиназа” походить від здатності розкласти денатурований колаген/желатин. Встановлено, що MMP-2 (але не MMP-9) може розщеплювати фібрилярний колаген. Слід зазначити, що MMP-2 відома як желатиназа А, яка сприяє ремоделюванню ЕСМ, особливо в нормальній кістці, а також під час розвитку, загоєння ран, ангіогенезу та пухлинної інвазії. MMP-2 спочатку секретується як неактивний зимоген, відомий як про-MMP-2, який активується шля-

хом утворення потрійного комплексу з MMP-14 і TIMP-2. Підвищення рівнів циркулюючих MMP-2 і MMP-9 спостерігали у пацієнтів із ожирінням, більшість яких хворіла на РМЗ. Інший матриксин — MMP-9, відомий як желатиназа В, секретується клітинами запалення та фібробластами. Встановлено, що MMP-9, яку секретують нейтрофіли, відіграє вирішальну роль у деградації ЕСМ та подальшому вивільненні проангіогенних факторів. Взагалі нейтрофіли, що рекрутуються до пухлини в умовах гіпоксії, вважаються основним джерелом MMP-9. Ця желатиназа індукує ангіогенез і є особливо потужною молекулою, оскільки не утворює комплекс з інгібітором TIMP-1, який секретують інші типи клітин [30, 31].

Інфільтруючі пухлину макрофаги також продукують MMP-9 і сприяють ремоделюванню ЕСМ. MMP-9 спочатку синтезується як неактивний зимоген про-MMP-9. Активація останнього відбувається через розщеплення його продомену протеазами, включаючи плазмін, активатори плазміногену урокіназного та тканинного типу. Для підтримки гомеостазу ЕСМ активність MMP-9 жорстко регулюється шляхом зв'язування з TIMP [32].

Інші нещодавні дослідження підтверджують пухлиногенні функції MMP шляхом модуляції мікрооточення пухлини. Порушення регуляції MMP/TIMP викликає дисбаланс у ключових клітинних сигналах і призводить до серйозних патологічних станів, пов'язаних із деградацією ЕСМ, запаленням, неконтрольованим ростом трансформованих клітин, їх резистентністю до загибелі, та, як наслідок, реплікативним безсмертям і розвитком метастатичних ніш. Встановлений кореляційний зв'язок між вищою експресією активних MMP та агресивністю перебігу пухлинного процесу, що можна розглядати як терапевтичний потенціал у лікуванні хворих на рак [33].

В експериментах *in vivo* на моделі РМЗ з метастазами в легені у тварин, які зазнали стресу, показано, що рівні експресії MMP-2 і -9 були тісно пов'язані з метастатичним процесом, оскільки MMP-2 є основним протеолітичним ферментом серед желатиназ та стимулятором інвазії і розповсюдження клітин шляхом руйнування базальної мембрани, а MMP-9 спрямований на руйнування компонентів ЕСМ та базальної мембрани. Застосування в цьому експерименті відволікаючого від стресу механічного фактору (жування твариною дерев'яних паличок) призводило до пригнічення розповсюдження метастазів РМЗ у легенях завдяки нормалізації підвищеної експресії VEGF, TNF- α , TGF- β , MMP-2 і MMP-9 [34].

На сьогодні хронічний стрес і рак вважають взаємопов'язаними процесами, що мають двосторонній зв'язок, особливо при застосуванні антиоксидантних засобів [2]. В експериментах *in vitro*

на моделі активованих ліпополісахаридом диференційованих макрофагів THP-1, які зазнавали впливу низки біологічних речовин (екстракту зеленого чаю, ресвератролу, куркуміну та екстракту плодів оливи), показано, що всі застосовані сполуки проявляли антиоксидантну активність. Крім того, всі речовини характеризувались здатністю протидіяти утворенню ROS, індукованих H_2O_2 у пухлинних клітинах. Згідно з оцінкою зимографічного аналізу супернатантів клітин THP-1 і “зимографії в гелі” пулу сироваток пацієнток з РМЗ, досліджені антиоксидантні сполуки пригнічували активність та експресію стрес-індукованих MMP-2 і MMP-9 за допомогою механізмів, пов'язаних з їх структурою та здатністю руйнувати активні форми кисню. Це свідчить, що використані антиоксиданти можуть слугувати перспективними засобами для профілактики та додаткового лікування хворих на РМЗ, у яких MMP відіграють ключову роль [35].

Існує думка, що процес пролонгованого виникнення та набуття агресивного фенотипу пухлиною слід розглядати як хронічний стрес, а всі задіяні у його реалізацію системи та їх “фігуранти” на кожному етапі — як стрес-індукуючі фактори (включно сигнальні шляхи). Крім того, деякі дослідники вважають, що хронічний стрес є регулятором експресії MMP, який вибірково підвищує активність MMP-9 у пухлинних клітинах паренхіми, а MMP-2 — у стромальних клітинах мікрооточення [22, 36].

Доведено, що при надзвичайній активації нейро-ендокринної системи пов'язані зі стресом гормони сприяють підвищенню експресії онкогенів, загостренню хронічного запалення та порушенню імунологічної функції. Існують повідомлення, що катехоламіни та глюкокортикоїди сприяли ініціації, росту та метастазуванню пухлини, це асоціювалось з низькою виживаністю хворих на РМЗ. Крім того, зазначається, що в умовах стресу активація сигнальних шляхів ARs і GRs може прискорити прогресування захворювання. Викликане хронічним стресом вивільнення епінефрину посилює у хворих на РМЗ LDHA-залежний гліколіз, сприяючи стовбуровим властивостям злоякісно трансформованих клітин. Індукований стресом епінефрин здатен призводити до активації адренергічного рецептора β_2 , що може сприяти прогресуванню РМЗ через поляризацію макрофагів M2 у мікрооточенні пухлини. Поряд з цим, показано, що подібним чином індукована стресом активація симпатичної нервової системи сприяла інвазії пухлинних клітин через збільшення рівнів MMP-2, MMP-9, VEGF. Згідно спостережень клініцистів, у пацієнток з РМЗ, із стрес-індукованими депресивними симптомами, поряд зі зростанням вмісту вище зазначених цитокінів у сироватці крові було виявлено підвищення рівнів TNF- α , IL-1 β та IL-6.

У осіб з великим депресивним розладом рівні IL-6 були суттєво більшими. [37–44].

Заслугує на увагу думка, що важливим аспектом прогресування РМЗ є активація стрес-запальних процесів. Так, активація лімфоцитів CD8⁺/Th1, природних кілерних клітин і макрофагів M1 призводить до руйнування пухлини. Навпаки, протизапальна відповідь, опосередкована CD4⁺/Th2 і макрофагами M2, сприяє прогресуванню пухлини. Запалення також стимулює вироблення медіаторів (таких як ROS), що сприяють міграції та інвазії злоякісно трансформованих клітин. При хронічному запаленні ROS активує окислювальний стрес і ендотеліальну дисфункцію. Проте при виникненні злоякісного новоутворення ROS відіграють подвійну роль з протипухлинними та пропухлинними ефектами за допомогою різних сигнальних шляхів: PI3/Akt/mTOR, PTEN, MAPK, VEGF/VEGFR та MMPs, які контролюють проліферацію, виживання, апоптоз і запалення. Як відомо, активну участь у прогресуванні РМЗ приймають мікроРНК, які можуть регулюватися ROS. У той же час, мікроРНК регулюють експресію генів, що модулюють окислювальний стрес [45].

Підсумовуючи наведені дані, слід ще раз акцентувати увагу на тому, що онкогенез — це складний багаторівневий процес забезпечення виникнення та розвитку злоякісного новоутворення, у якому, згідно сучасним уявленням, важливе місце займає стрес у різних його проявах. Зокрема, це стрес-індукуючі фактори на рівні організму, тобто ті, які пов'язані з психо-емоціональним станом людини, а також на тканинному рівні, власне у самій пухлині, її мікрооточенні та позапухлинному матриксі. Не зважаючи на походження, стрес запускає механізми, які призводять до активації таких програм як проліферація, інвазія, міграція пухлинних клітин на різних етапах формування новоутворення, і завдяки інтеграції цих дій, відбувається розповсюдження злоякісно трансформованих клітин в організмі, рецидивування видалених пухлин та метастазування [46].

У численних дослідженнях доведено, що у стрес-індукуючих механізмах, пов'язаних із розвитком раку, задіяні різні системи, компоненти яких можуть виступати у ролі стрес-індукуючих, або стрес-індукованих факторів. Вважається, що найбільш шкідливим чинником є хронічний стрес. Загальновідомо, що на прогресування раку впливає зміна гуморального та клітинного імунітету. Під впливом стресу пухлиноасоційовані макрофаги ініціюють запальні процеси у мікрооточенні пухлин, сприяючи утворенню та міграції у мікрооточення прозапальних факторів. Показано, що внаслідок хронічного стресу відбувається поляризація більшості пухлинних клітин до мезенхімального фенотипу та вивільнення протеаз, зокрема желатиназ

MMP-2 та MMP-9, які здійснюють руйнування та ремоделювання позаклітинного матриксу, і це сприяє метастазуванню злоякісно трансформованих клітин.

Враховуючи наведені в огляді численні докази існування відповіді різних біологічних систем на стрес протягом росту та метастазування пухлини, стає важливим інтегрувати об'єктивні показники змін під впливом стресу для перевірки їх значущості щодо можливості використання у якості прогностичних критеріїв та мішеней для персоналізованого лікування хворих на РМЗ.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Fedorenko Z, Soumkina O, Gorokh Ye, *et al.* Cancer in Ukraine 2021–2022: Incidence, mortality, prevalence and other relevant statistics. *Bulletin of the National Cancer Registry of Ukraine* 2023; **24**: 145 p.
2. Petrinović SV, Milošević MS, Marković D, Momčilović S. Interplay between stress and cancer—A focus on inflammation. *Front Physiol* 2023; **14**: 1119095. doi: 10.3389/fphys.2023.1119095.
3. Colon-Echevarria CB, Lamboy-Caraballo R, Aquino-Acevedo AN, Armaiz-Pena GN. Neuroendocrine regulation of tumor-associated immune cells. *Front Oncol* 2019; **9**: 1077. doi: 10.3389/fonc.2019.01077.
4. Hui-min Liu, Le-le Ma, Chunyu Li, *et al.* The molecular mechanism of chronic stress affecting the occurrence and development of breast cancer and potential drug therapy. *Transl Oncol* 2022; **15** (1): 101281. doi: 10.1016/j.tranon.2021.101281.
5. Silva D, Quintas C, Gonçalves J, Fresco P. Contribution of adrenergic mechanisms for the stress-induced breast cancer carcinogenesis. *J Cell Physiol* 2022; **237** (4): 2107–27. doi: 10.1002/jcp.30707.
6. Chang A, Sloan EK, Antoni MH, *et al.* Biobehavioral pathways and cancer progression: insights for improving well-being and cancer outcomes. *Integr Cancer Ther* 2022; **21**: 15347354221096081. doi: 10.1177/15347354221096081.
7. Bellinger DL, Millar BA, Perez S, *et al.* Sympathetic modulation of immunity: relevance to disease. *Cell Immunol* 2008; **252** (1–2): 27–56. doi: 10.1016/j.cellimm.2007.09.005.
8. Reiche EMV, Morimoto HK, Nunes SMV. Stress and depression-induced immune dysfunction: implications for the development and progression of cancer. *Int Rev Psychiatry* 2005; **17** (6): 515–27. doi: 10.1080/02646830500382102.
9. Qian BZ, Pollard JW. Macrophage diversity enhances tumor progression and metastasis. *Cell* 2010; **141** (1): 39–51. doi: 10.1016/j.cell.2010.03.014.
10. Dhabhar FS, Malarkey WB, Neri E, McEwen BS. Stress-induced redistribution of immune cells — from barracks to battlefields: a tale of three hormones — Curt Richter Award winner. *Psychoneuroendocrinology* 2012; **37** (9): 1345–68. doi: 10.1016/j.psyneuen.2012.05.008.
11. Zhang L, Jun Pan J, Chen W, *et al.* Chronic stress-induced immune dysregulation in cancer: implications for initiation, progression, metastasis, and treatment. *Am J Cancer Res* 2020; **10** (5): 1294–307. eCollection 2020.
12. Guin JP, Glaser R, Malarkey WB, *et al.* Chronic stress, daily stressors, and circulating inflammatory markers. *Health Psychol* 2012; **31** (2): 264–8. doi: 10.1037/a0025536.
13. Elliot AJ, Mooney CJ, Infurna FJ, Chapman BP. Associations of lifetime trauma and chronic stress with C-reactive protein in Adults ages 50 years and older: Examining the moderating role of perceived control. *Psychosom Med* 2017; **79** (6): 622–30. doi: 10.1097/PSY.0000000000000476.
14. Elenkov IJ, Chrousos GP. Stress hormones, proinflammatory and antiinflammatory cytokines, and autoimmunity. *Ann N Y Acad Sci* 2002; **966**: 290–303. doi: 10.1111/j.1749-6632.2002.tb04229.x.
15. Antoni MH, Dhabhar FS. Impact of psychosocial stress and stress management on immune responses in cancer patients. *Cancer* 2019; **125** (9): 1417–31. doi: 10.1002/cncr.31943.
16. Chen X, Wang M, Yu K, *et al.* Chronic stress-induced immune dysregulation in breast cancer: Implications of psychosocial factors. *J Transl Int Med* 2023; **11** (3): 226–33. doi: 10.2478/jtim-2021-0050.
17. Xu X, Wang X, Zheng Z, *et al.* Neutrophil extracellular traps in breast cancer: Roles in metastasis and beyond. *J Cancer* 2024; **15** (11): 3272–83. doi: 10.7150/jca.94669.
18. Martins-Cardoso K, Almeida VH, Bagri KM, *et al.* Neutrophil extracellular traps (NETs) promote pro-metastatic phenotype in human breast cancer cells through epithelial-mesenchymal transition. *Cancers (Basel)* 2020; **12** (6): 1542. doi: 10.3390/cancers12061542.
19. He X-Y, Gao Y, Ng D, *et al.* Chronic stress increases metastasis via neutrophil-mediated changes to the microenvironment. *Cancer Cell* 2024; **42** (3): 474–86.e12. doi: 10.1016/j.ccell.2024.01.013.
20. Yan J, Chen Y, Luo M, *et al.* Chronic stress in solid tumor development: from mechanisms to interventions. *J Biomed Sci* 2023; **30**: 8. <https://doi.org/10.1186/s12929-023-00903-9>.
21. Pan J, Zhang L, Wang X, *et al.* Chronic stress induces pulmonary epithelial cells to produce acetylcholine that remodels lung pre-metastatic niche of breast cancer by enhancing NETosis. *J Exp Clin Cancer Res* 2023; **42** (1): 255. doi: 10.1186/s13046-023-02836-5.
22. Aggarwal V, Tuli HS, Varol A, *et al.* Role of reactive oxygen species in cancer progression: Molecular mechanisms and recent advancements. *Biomolecules* 2019; **9** (11): 735. doi: 10.3390/biom9110735.
23. Fares J, Fares MY, Khachfe HH, *et al.* Molecular principles of metastasis: A hallmark of cancer revisited. *Signal Transduct Target Ther* 2020; **5** (1): 28. doi: 10.1038/s41392-020-0134-x.
24. Giudice SD, De Luca V, Parizadeh S, *et al.* Endogenous and exogenous regulatory signaling in the secretory pathway: Role of Golgi signaling molecules in cancer. *Front Cell Dev Biol* 2022; **10**: 833663. doi: 10.3389/fcell.2022.833663.
25. Yuan Z, Li Y, Zhang S, *et al.* Extracellular matrix remodeling in tumor progression and immune escape: from mechanisms to treatments. *Mol Cancer* 2023; **22** (1): 48. doi: 10.1186/s12943-023-01744-8.
26. Jena MJ, Janjanam J. Role of extracellular matrix in breast cancer development: a brief update. *F1000Res* 2018; **7**: 274. doi: 10.12688/f1000research.14133.2.
27. Wang X, Khalil RA. Matrix metalloproteinases, vascular remodeling, and vascular disease. *Adv Pharmacol* 2018; **81**: 241–330. doi: 10.1016/bs.apha.2017.08.002.
28. Ritter A, Kreis N-N, Hooock SC, *et al.* Adipose tissue-derived mesenchymal stromal/stem cells, obesity and the tumor microenvironment of breast cancer. *Cancers (Basel)* 2022; **14** (16): 3908. doi: 10.3390/cancers14163908.
29. De Almeida LGN, Thode H, Eslambolchi Y, *et al.* Matrix metalloproteinases: From molecular mechanisms to physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacol Rev* 2022; **74** (3): 714–70. doi: 10.1124/pharmrev.121.000349.
30. Jackson HW, Defamie V, Waterhouse P, Khokha R. TIMPs: versatile extracellular regulators in cancer. *Nat. Rev. Cancer* 2017; **17** (1): 38–53. doi: 10.1038/nrc.2016.115.
31. Winkler J, Abisoye-Ogunniyan A, Metcalf KJ, Werb Z. Concepts of extracellular matrix remodelling in tumour progression and metastasis. *Nat Commun* 2020; **11**: 5120. doi: 10.1038/s41467-020-18794-x.

32. Molière S, Jaulin A, Tomasetto C-L, Dali-Youcef N. Roles of matrix metalloproteinases and their natural inhibitors in metabolism: insights into health and disease. *Int J Mol Sci* 2023; **24** (13): 10649. doi: 10.3390/ijms241310649.
33. Siddhartha R, Garg M. Molecular and clinical insights of matrix metalloproteinases into cancer spread and potential therapeutic interventions. *Toxicol Appl Pharmacol* 2021; **426**: 115593. doi: 10.1016/j.taap.2021.115593.
34. Zhang J-H, Wang K-Y, Kubo K-Y, Azuma K. Chewing behavior attenuates lung-metastasis-promoting effects of chronic stress in breast-cancer lung-metastasis model mice. *Cancers (Basel)* 2022; **14** (23): 5950. doi: 10.3390/cancers14235950.
35. Latronico T, Petraglia T. Inhibition of MMP-2 and MMP-9 by dietary antioxidants in THP-1 macrophages and sera from patients with breast cancer. *Molecules* 2024; **29** (8): 1718. <https://doi.org/10.3390/molecules29081718>.
36. Kim-Fuchs C, Le CP, Pimentel MA, et al. Chronic stress accelerates pancreatic cancer growth and invasion: A critical role for beta-adrenergic signaling in the pancreatic microenvironment. *Brain Behav Immun* 2014; **40**: 40–7. doi: 10.1016/j.bbi.2014.02.019.
37. Cui B, Peng F, Lu JX, et al. Cancer and stress: NextGen strategies. *Brain Behav Immun* 2021; **93** (3): 68–83. doi: 10.1016/j.bbi.2020.11.005.
38. Eckerling A, Ricon-Becker I, Sorski L, et al. Stress and cancer: mechanisms, significance and future directions. *Nat Rev Cancer* 2021; **21** (12): 767–85. doi: 10.1038/s41568-021-00395-5.
39. Qiao GX, Chen MH, Bucsek MJ, et al. Adrenergic signaling: A targetable checkpoint limiting development of the anti-tumor immune response. *Front Immunol* 2018; **9**: 164. doi: 10.3389/fimmu.2018.00164.
40. Cui B, Luo YY, Tian PF, et al. Stress-induced epinephrine enhances lactate dehydrogenase a and promotes breast cancer stem-like cells. *J Clin Invest* 2019; **129** (3): 1030–46. doi: 10.1172/Jci121685.
41. Qin JF, Jin FJ, Li N, et al. Adrenergic receptor beta 2 activation by stress promotes breast cancer progression through macrophages M2 polarization in tumor microenvironment. *Bmb Rep* 2015; **48** (5): 295–300. doi: 10.5483/BMBRep.2015.48.5.008.
42. Powell ND, Tarr AJ, Sheridan JF. Psychosocial stress and inflammation in cancer. *Brain Behav Immun* 2013; **30**: S41–7. doi: 10.1016/j.bbi.2012.06.015.
43. Bouchard LC, Antoni MH, Blomberg BB, et al. Postsurgical depressive symptoms and proinflammatory cytokine elevations in women undergoing primary treatment for breast cancer. *Psychosom Med* 2016; **78** (1): 26–37. doi: 10.1097/Psy.0000000000000261.
44. Liu Y, Tian S, Ning B, et al. Stress and cancer: The mechanisms of immune dysregulation and management. *Front Immunol* 2022; **13**: 1032294. doi: 10.3389/fimmu.2022.1032294.
45. Villarreal-García V, Estupiñán-Jiménez JR, Vivas-Mejía PE, et al. A vicious circle in breast cancer: The interplay between inflammation, reactive oxygen species, and microRNAs. *Front Oncol* 2022; **12**: 980694. doi: 10.3389/fonc.2022.980694.
46. Tian W, Liu Y, Cao C, et al. Chronic Stress: Impacts on Tumor Microenvironment and Implications for Anti-Cancer Treatments. *Front Cell Dev Biol* 2021; **9**: 777018. doi: 10.3389/fcell.2021.777018.

THE DRIVING FORCE OF EXOGENOUS AND ENDOGENOUS STRESS AS AN IMPORTANT FACTOR OF METASTATIC PROGRESSION OF BREAST CANCER. THE ROLE OF GELATINASES IN IMPLEMENTATION OF INVASIVE AND MIGRATION PROCESSES

V.F. Chekhun, L.A. Naleskina, L.M. Kunska, N.Y. Lukianova

R.E. Kavetsky Institute of Experimental Pathology, Oncology and Radiobiology, NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine

Summary. The review of the literature draws attention to the fact that, from the modern point of view, oncogenesis is a multistage process in which, along with numerous factors of various origins, stress occupies a prominent place. It has been established that stress triggers mechanisms that lead to the activation of programs such as proliferation, invasion, migration of tumor cells at various stages of neoplasm formation, and due to the integration of these actions, the spread of malignantly transformed cells in the body occurs, namely the recurrence of removed tumors and metastasis. In addition, it has recently been shown

that as a result of chronic stress, the polarization of tumor cells towards a more mesenchymal phenotype and the release of proteases, in particular the gelatinases MMP-2 and MMP-9, which carry out the destruction and remodeling of the extracellular matrix, and this promotes the metastasis of malignantly transformed cells. Objective indicators of changes under the influence of stress are given, which, after checking their significance, can be used as prognostic criteria and targets for personalized treatment tactics for patients with breast cancer.

Keywords: chronic stress, stress-induced factors, breast cancer, tumor microenvironment, malignantly transformed cells, tumor progression, invasion, metastatic process, matrixins, gelatinases.

Адреса для листування:

Налєскіна Л.А.
03022, Київ, вул. Васильківська 45
Інститут експериментальної патології,
онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького
НАН України
E-mail: naleskina@ukr.net

Одержано: 20.09.2024