

*А.Г. Голубев, В.Н. Анисимов*

## **Системные факторы противодействия вкладу обратимых переходов злокачественных клеток между фенотипическими состояниями в резистентность к терапии**

ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России, Санкт-Петербург

Развитие резистентности опухолей к химио- радио- и иммунотерапии серьезно ограничивает эффективность лечения. Из обзора литературы по фенотипической пластичности трансформированных клеток с учетом основных характеристик эпителиального, мезенхимального, стволового и сенесцентного фенотипов следует, что ключевым фактором терапевтической резистентности является обратимость переходов злокачественных клеток между этими фенотипами. Такие переходы зависят от среды, где это происходит, а значит от возраста опухоленосителя и от его гормонально-метаболического статуса. Воздействия на метаболические параметры организма могут влиять на эффективность противоопухолевой терапии без изменений жизнеспособности и пролиферации опухолевых клеток в любом из возможных для них состояний. С таких позиций рассмотрены данные о противоопухолевых эффектах антидиабетических бигуанидов. Сделан вывод, что если анализировать в терминах обратимости фенотипических состояний трансформированных клеток противоопухолевые эффекты воздействий, цитотоксические или цитостатические последствия которых неочевидны, это может не только помочь в понимании того, каким образом такие воздействия могут влиять на опухоли, но и расширить круг критериев для поисков новых противоопухолевых средств.

**Ключевые слова:** резистентность к противоопухолевой терапии, фенотипическая пластичность, метаболизм, старение, антидиабетические бигуаниды

### **Введение**

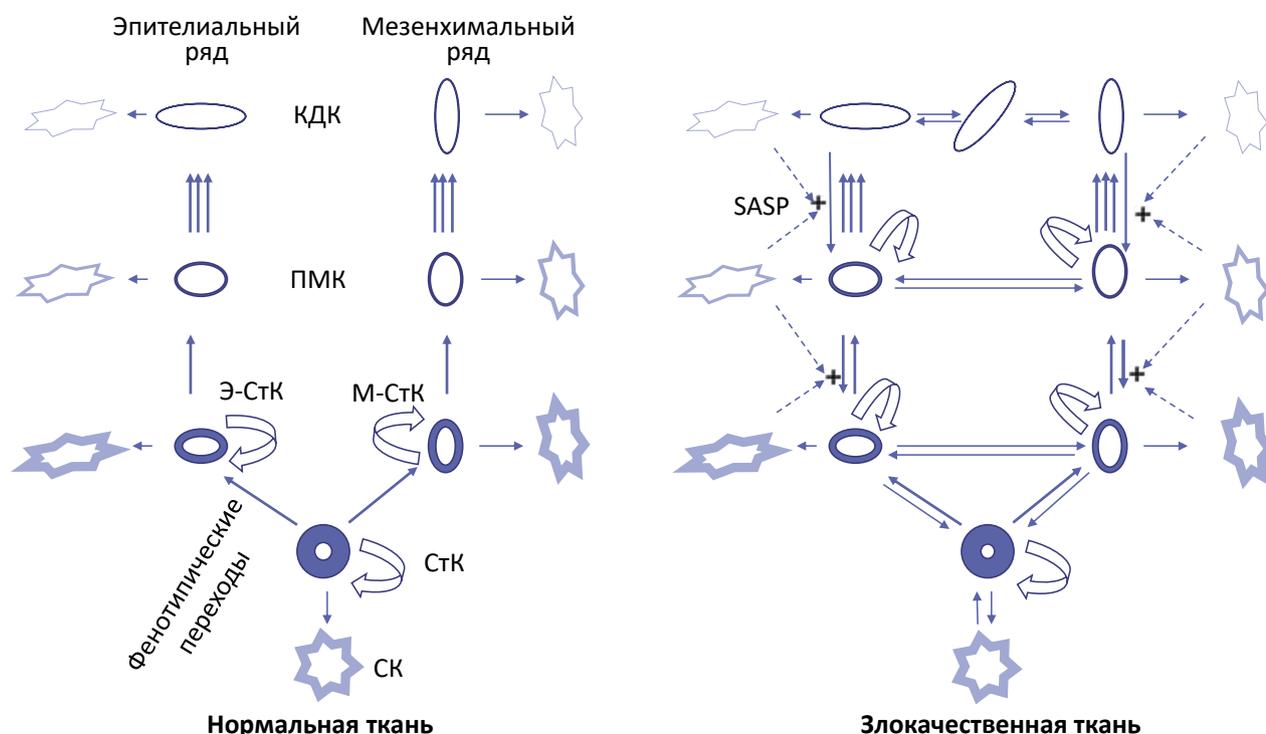
Главные проблемы химио- радио- и иммунотерапии злокачественных новообразований связаны с развитием резистентности к лечению. Некоторые из изменений в злокачественных клетках делают их более жизнеспособными в условиях лечения. Даже если такие изменения

редки, их носители становятся доминирующими в опухолевой ткани.

Поскольку трансформация нормальной клетки в злокачественную происходит в результате мутаций, дальнейшие изменения в потомстве таких клеток тоже могут быть результатом последующих мутаций — в соответствии с клонально-эволюционной теорией прогрессии злокачественных опухолей [1]. Описаны изменения генотипа клеток опухолей, сопряженные с повышением резистентности к лекарственным воздействиям. Выявлены генетические сигнатуры терапевтической резистентности. Разрабатываются средства против продуктов конкретных мутантных генов [2, 3].

Но попытки найти генетические сигнатуры метастазов, отличающие их от исходного очага, во многих случаях безуспешны при том, что клетки, попавшие при метастазировании в новые условия и, тем не менее, успешно прижившиеся там, должны иметь существенные отличия от клеток первичного очага [4]. Кроме того, сроки развития терапевтической резистентности часто слишком малы и стабильны, чтобы можно было приписать ее случайным редким мутациям, но соответствуют тому, что можно ожидать от эпигенетических изменений.

Эпигенетическими именуют различия и переходы между разными фенотипами у генетически идентичных клеток, обусловленные дифференциальной экспрессией имеющихся генов без изменения нуклеотидных последовательностей ДНК. Такие явления обычны и при нормальном гистогенезе, когда клетки-потомки приобретают отличия от клеток-предков. Любая нормальная ткань представляет собой систему клеток, в которой отмирание одних, выполняющих нужные организму функции, к числу которых способность к пролиферации, как правило, не относится, компенсируется пролиферацией других, которые не выполняют функции отмирающих, но зато своей пролиферацией не только поддерживают собственную численность, но и дают начало линиям клеток, выполняющим функции, несовместимые с пролиферацией, то есть клеток, отличных в эпигенетическом отношении от исходных.



Клеточные иерархии в нормальной и злокачественной ткани.

КДК — конечно-дифференцированные клетки; ПМК — переходные множасьи клетки; СтК — стволовые клетки (Э — эпителиальные, М — мезенхимальные); СК — сенесцентные клетки. Изогнутыми стрелками обозначена способность клеточных популяций к самоподдержанию. СК, происходящие из разных типов клеток, обладающая существенными общими свойствами, могут различаться, в частности, по составу секретируемых продуктов (SASP — см. раздел 4). Схема не отражает количественные соотношения между различными типами клеток

Клетки, поддерживающие своей пролиферацией численности всех клеток в ткани, называют стволовыми. Клетки, выполняющие функции, несовместимые с пролиферацией, называют конечно-дифференцированными. Стволовые клетки (СтК) одного типа могут давать начало клеточным линиям, приводящим к нескольким типам конечно-дифференцированных клеток (КДК).

Обычно выход СтК в дифференцировку реализуется не сразу, а через несколько последовательных делений, каждое из которых сопровождается эпигенетическими изменениями. Таким путем редкие в клеточном ряду события деления СтК могут восполнять численность неограниченно большого множества КДК. Промежуточные клетки в ряду от СтК к КДК называют переходными множасьими (ПМК).

Такая же система отношений существует и в опухолях. Структура карцином, например, воспроизводит структуру исходных железистых тканей, но в виде, все более искажаемом опухолевой прогрессией. Чем тогда различается поведение клеток в нормальной и злокачественной ткани? Если дело только в нарушенных соотношениях между пролиферацией и дифференцировкой на пути от СтК к КДК, это может сопровождаться либо инволюцией, либо гиперплазией, но и только. Однако, если переходы от одних эпигенетических состояний к следующим,

в норме однонаправленные, становятся обратимыми, это может изменить всю ситуацию в корне (рисунок).

Достаточно сказать, что мутации в КДК, составляющих большинство клеток как в нормальных тканях, так и в опухолях, останутся единичными в норме. Но если дифференцировка мутантной клетки обратима, мутация, повышающая резистентность к терапии, может от потомства такой клетки распространиться на всю опухоль.

Более того, если переходы между эпигенетическими состояниями обратимы, и одни состояния чувствительны к терапии против пролиферирующих клеток, а другие нет, потому что такие клетки не пролиферируют, терапия не приведет к элиминации опухоли. Опухоль станет нечувствительной к лечению. Его отмена приведет к восстановлению выбитой популяции из оставшейся и, соответственно, к возобновлению чувствительности к терапии. Этот эффект получил название drug holidays «лекарственные каникулы» [5]. Уничтожение непролиферирующих клеток тоже не приведет к полному успеху, потому что возможны обратные переходы от пролиферирующих клеток к непролиферирующим. К тому же в опухолях сохраняется, пусть ослабленный, но все равно контроль численности одних клеточных популяций другими. Уничтожение одной из популяций опасно утерей

такого контроля и ускорением опухолевого роста и метастазирования [6].

Таким образом, терапевтическая резистентность, возникшая в результате мутации, оказывается свойством всего лишь клона мутантных клеток. А если это результат обратимых переходов клеток между фенотипическими состояниями, то это уже системное свойство всей опухоли, и против него нужны системные меры.

Уничтожение всех фенотипов сразу — это радикальная операция. А если это терапия, то она может включать только комбинации препаратов, направленные лишь на некоторые из возможных фенотипов злокачественных клеток и, соответственно, оказывающие побочное действие лишь на некоторые фенотипы нормальных клеток, а действие на все возможные фенотипы злокачественных клеток, распространяясь на соответствующие фенотипы клеток нормальных, может привести в негодность вообще все, что есть в организме.

А что, если действовать на то, чего в нормальных тканях нет — на обратимость переходов клеток между состояниями, более и менее близкими к КДК? Можно ли блокировать такие переходы или хотя бы снижать их вероятность? Зависят ли такие переходы от системных факторов в организме, то есть от уровней метаболитов и гормонов? Если да, какие последствия в онкологическом плане могут быть у воздействий на такие факторы?

Чтобы определиться с ответами на эти вопросы, следует учесть, что известно об обратимости переходов между разными фенотипическими состояниями, включая эпителиально-мезенхимальные переходы (ЭМП), и об основных характеристиках состояний, в которых находятся СтК, ПМК и клетки, потерявшие способность к пролиферации, но без приобретения свойств КДК, обеспечивающих понятные функции. Клетки последнего типа именуется сенесцентными (senescent). Они будут рассмотрены в разделе 4, а сейчас надо отметить, что доля таких клеток в клеточных популяциях опухолей растет в условиях терапии, что вносит свой вклад в резистентность к ней [7].

### Опухолевые стволовые клетки

Если вводить животным суспензии клеток, полученных из опухолей, начало неопластического роста дает совсем незначительная пропорция (малые доли процента) введенных клеток. Их и посчитали стволовыми [8, 9]. При попытках выявить маркеры таких клеток и вводить реципиентам клеточные суспензии, обогащенные носителями маркеров, доля клеток, дающих начало опухолям, оставалась прежней, но она менялась при изменении условий трансплантации или состояния реципиентов. Это зна-

чит, что стволовое состояние является не свойством определенных злокачественных клеток, а возможностью, существующей в их популяции, где их переходы между стволовым и иными состояниями приводят к зависящему от условий равновесию между численностями клеток в разных состояниях, включая стволовое. После нарушения этого равновесия удалением или внесением клеток, оказавшихся в период проведения этих процедур стволовыми, оно через некоторое время восстанавливается до исходно свойственного данным условиям.

Как и у СтК в нормальных тканях, пролиферативная активность у опухолевых СтК относительно низкая, то есть интервалы между последовательными делениями длительные. Это удлинение обусловлено не замедлением прохождения СтК через стадии клеточного цикла G1, S, G2 и M, а выходом в особое состояние G0 [10]. В состоянии G0 чувствительность к цитостатическим и цитотоксическим препаратам снижена, что относится и к опухолевым СтК.

Сколь бы ни были редкими выходы СтК в фазу S клеточного цикла, она связана с возможностью ошибочного спаривания нуклеотидов, приводящего к мутациям. Накопление неисправленных мутаций приводит нормальные СтК либо к апоптозу, либо к переходу в состояние неспособности к дальнейшей пролиферации, к сенесценции (см. раздел 4), что позволяет снизить возможность пролиферации злокачественно перерожденных клеток. Если перерождение уже произошло, обе опции, апоптоз и сенесцентность, остаются в силе, хотя и редуцированной. Терапевтические воздействия могут сопровождаться накоплением сенесцентных клеток в опухолях, что может способствовать развитию резистентности к этим же самым воздействиям.

### Эпителиально-мезенхимальные переходы

Ткани состоят из клеточных слоев и масс. В слоях положение каждой из уплощенных эпителиальных клеток (ЭК) фиксировано контактами по краям с соседними клетками, и всем им свойственны различия между сторонами, формирующими две поверхности слоя. В массе, состоящей из внеклеточного матрикса и мезенхимальных клеток (МК), которые его производят, клетки могут перемещаться. Их форма может быть веретенообразной, или же клетки бесформенны и способны перемещаться с помощью псевдоподий. Восполнение эпителиальных или мезенхимальных клеточных потерь может происходить за счет специализированных эпителиальных или мезенхимальных и/или общих для ткани СтК, генерирующих клетки того или иного фенотипа в зависимости от ситуации [11–12].

Инвазия и метастазирование злокачественных опухолей происходит вследствие способности злокачественных ЭК превращаться в МК. Попавшие из первичного очага в кровоток или лимфу такие МК способны образовывать опухоли в иных органах, а это означает, что возможны переходы злокачественных клеток еще и между мезенхимальным и стволовым состоянием с последующими переходами к эпителиальному состоянию. Возможность не только эпителиально-мезенхимальных, но и обратных переходов обозначена термином *epithelial-mesenchymal plasticity* (эпителиально-мезенхимальная пластичность — ЭМП).

ЭМП у злокачественных клеток включает несколько промежуточных состояний [13, 14]. По мере прохождения через них клетки теряют все меньше эпителиальных и приобретают все больше мезенхимальных признаков (или наоборот), причем последовательности потерь и приобретений могут быть разными, так что в популяции таких клеток устанавливается зависящее от условий равновесие между крайними и промежуточными вариантами при возможности практически любых переходов между ними, но крайние состояния наиболее устойчивы и поэтому преобладают.

В нормальной ткани пропорция между ЭК и МК поддерживается соотношением между интенсивностями образования мезенхимальных и эпителиальных ПМК стволовыми клетками, но в популяциях трансформированных клеток эта пропорция зависит еще и от ЭМП, причем промежуточные состояния между ЭК и МК могут быть приближенными к СтК в смысле способности популяций таких клеток как к самоподдержанию и даже экспансии, так и к генерации более дифференцированных клеток [15].

ЭМП возможны и в нормальных тканях, где они складываются в скоординированный упорядоченный процесс, включающийся в определенных обстоятельствах, например, при регенерации поврежденной ткани. У трансформированных клеток с неустойчивым фенотипом отдельные составляющие этого процесса могут реализоваться спонтанно случайным образом и приводить к тому, что проявления ЭМП происходят сами по себе, оказываются растянутыми во времени, и в популяции создают континуум всевозможных состояний.

Для переходов клеток между эпигенетическими состояниями должны быть каждый раз разрушены белки, обеспечивавшие прежнее состояние, и наработаны белки, нужные для нового состояния. Первое обеспечивается подавлением активности белкового комплекса mTOR (mammalian target of rapamycin) и активацией аутофагии, второе — активацией mTOR и син-

теза белка и подавлением аутофагии. Вся эта цепь событий получила название «палигеноз» (paligenosis) [16–17]. По ходу палигеноза наличие детерминантов какого бы то ни было дифференцированного состояния может оказывается в клетках минимальным: одних детерминантов становится меньше, чем было, а других — еще не столько, сколько надо. С этим может быть связано то, что клетки на промежуточных этапах ЭМП могут приобретать повышенную резистентность к воздействиям, направленным на маркеры того или иного типа дифференцировки. Например, ЭМП у клеток карциномы молочной железы сопровождаются снижением экспрессии HER2 и, соответственно, чувствительности к трастузумабу [18].

Потеря специфических признаков ЭК, МК, КДК, ПМК и СтК происходит и при их переходах в сенесцентное состояние. Это случается с опухолевыми клетками при терапевтических воздействиях.

### Сенесцентные клетки

Такие клетки были впервые описаны в 1960-х годах в старых (senescent) клеточных культурах, которые прекратили рост после достаточно большого числа пересевов, достигнув так называемого лимита Хейфлика — максимально возможного числа удвоений численности клеток определенного типа в данных условиях. Позже переход клеток в такое состояние был увязан с достижением критически малой длины теломер, которые укорачиваются при каждом удвоении ДНК для последующего митоза, а преодоление лимита Хейфлика — со злокачественным перерождением [20]. Сенесцентные клетки (СК) накапливаются в тканях при старении [21, 22]. Но лучше не называть их старыми, чтобы отличать переход в их состояние от старения постмитотических дифференцированных клеток.

К числу признаков СК относят экспрессию ингибиторов циклин-зависимых киназ и соответственно неспособность к пролиферации, распластанную форму, высокий уровень нейтральной β-галактозидазы, секрецию характерного набора цитокинов, высокий уровень гетерохроматизации, наличие маркеров повреждения ДНК, характерные изменения в ядерной мембране и в митохондриях [23]. Но любой такой признак можно найти и в других типах клеток, а те, что считаются сенесцентными, не обязательно имеют их полный набор.

Вероятность переходов клеток в сенесцентное состояние повышается при активации некоторых онкогенов, и накопление СК при старении считают обратной стороной действия молекулярных механизмов, препятствующих злокачественному

росту [24], чему соответствует и повышение вероятности перехода в сенесцентность по мере накопления повреждений ДНК, некоторые из которых могут приводить клетки к злокачественному перерождению.

Но известно, что повреждение ДНК в клетке может сопровождаться ее полной ликвидацией путем апоптоза или другими вариантами регулируемой клеточной смерти [25]. В ряде случаев медиаторы передачи сигнала о повреждении ДНК к механизмам задержки клеток в клеточном цикле способствуют конечной дифференцировке [26, 27]. В обоих этих случаях злокачественный рост предотвращается. Какой тогда смысл у переходов клеток в сенесцентное состояние, которому свойственна повышенная устойчивость к апоптозу [23]? Чтобы пустых мест в ткани не было?

Но СК не просто занимают место. Они секретируют целый спектр продуктов — от медиаторов воспаления до ростовых факторов. Это их свойство получило название ассоциированный с сенесценцией секреторный фенотип — Senescence-Associated Secretory Phenotype, SASP. Даже если доля СК в ткани мала, на ткань влияет SASP. СК способствуют воспалению, а это фактор патогенеза ряда возрастных заболеваний, включая рак [28]. Ожидается, что селективные воздействия на СК могут оказаться полезными в онкологии [29].

Однако представления о природе мишеней таких воздействий остаются невнятными.

СК в эмбриональных и регенерирующих тканях появляются на определенных этапах в конкретных структурах задолго до старения организма [30, 31]. Принудительная ликвидация СК в таких случаях не помогает, а препятствует гистогенезу и регенерации.

Прекращение пролиферации у СК считалось необратимым. Однако показано, что СК эмбрионов могут давать потомство, которое включается в нормальные ткани взрослого организма [32].

Разные авторы выделяют разные типы сенесцентности, например, репликативную (при укорочении теломер), индуцированную онкогеном, накоплением повреждений ДНК, стрессом в неадекватных условиях, например, в культуре клеток [33, 34]. Общим для всех таких вариантов может быть то, что клетка получает стимул к дифференцировке в отсутствие условий, определяющих ее направление [35]. Изменения фенотипического состояния таких «дезорientированных» клеток могут включать варианты, маловероятные в норме, в том числе злокачественные, и реализация такой возможности в злокачественный рост предотвращается прекращением пролиферации в сочетании с секрецией сигналов о попадании клетки в неадекватные условия, то есть переходом клеток в состояние,

которое по историческим причинам получило дезориентирующее название «сенесцентное».

### **Системные метаболические факторы фенотипической пластичности злокачественных клеток**

Фенотипическая пластичность злокачественных клеток делает их взаимоотношения с организмом аналогичными отношениям между организмами и экосистемой [36, 37]. В обоих случаях возникают взаимодействия типа хищник-жертва между опухолевыми клетками и иммунной системой в организме и между растительноядными и хищными видами в экосистеме, фенотипические переходы в популяциях злокачественных клеток играют ту же роль, что и переходы между активным состоянием и паузой у беспозвоночных, метастазирующие клетки ведут себя так же, как организмы инвазивных видов, а терапевтическая резистентности у опухолей развивается так же, как устойчивость к пестицидам у вредителей. В клинических испытаниях предложенные на экологических основаниях терапевтические режимы оказались эффективней традиционных [38, 39].

С таких позиций противоопухолевое действие может быть не только у того, что вызывает цитотоксические или цитостатические эффекты, или дифференцировку злокачественных клеток, но и у того, что влияет на равновесие между численностями злокачественных клеток в разных фенотипических состояниях и на переходы между ними. Из математического моделирования таких ситуаций следует, что к сдвигу от полного провала цитотоксической терапии к полному успеху могут приводить даже небольшие изменения в равновесии между фенотипическими состояниями [40].

Такое равновесие зависит от условий существования клеток. В организме эти условия создаются метаболитами и гуморальными факторами, содержащимися во внутренней среде. Ее состояние изменяется при старении. Но о влиянии возраста опухоленосителей на фенотипическую пластичность опухолевых клеток практически ничего не известно. Доклинические испытания противоопухолевой терапии проводятся на молодых животных, тогда как онкологические проблемы возникают по большей части в старших возрастных группах [41, 42]. То же относится к клиническим испытаниям [43]. Как результат, недоучитываются особенности той среды, в которой опухоли развиваются чаще всего, и это ограничивает или смещает направления поисков противоопухолевых средств и сказывается на эффективности лечения большинства онкологических больных.

При старении снижается толерантность к глюкозе и, соответственно, возрастает экспозиция клеток ее действию. Гипергликемия повышает риск развития злокачественных новообразований и снижает эффективность их лечения [44]. Глюкоза способствует эпителиально-мезенхимальным переходам [45–47].

Для контроля уровня глюкозы применяют антидиабетические бигуаниды. Известны их противоопухолевые эффекты [48–50]. Какой-то вклад в них могут вносить системные факторы, в том числе метаболические и иммунологические [51]. Но метформин оказывает и прямое действие на опухолевые клетки. Его нельзя без оговорок отнести ни к цитотоксическому, ни к цитостатическому, зато показано, что метформин препятствует развитию хеморезистентности при лечении карцином молочной железы, что может быть связано с его влиянием на фенотипические переходы клеток [52]. Метформин стабилизирует эпителиальное состояние клеток гепатокарциномы [53], а у клеток рака ротовой полости он стабилизирует стволовое состояние [54] и ингибирует ЭМП [55]. У клеток рака ободочной кишки метформин подавляет переходы в стволовое состояние [56] и ЭМП [57]. У клеток аденокарциномы поджелудочной железы метформин сдвигает распределение между сенесцентным и стволовым состоянием в пользу первого [58]. Метформин увеличивает долю стволовых злокачественных клеток, находящихся в состоянии G0 [59]. Метформин и фенформин ингибируют ЭМП хеморезистентных линий клеток рака прямой кишки и повышают их чувствительность к облучению и фторурацилу [60].

Число клинических испытаний антидиабетических бигуанидов в онкологии приблизилось к четырёмстам [61]. При этом множатся сообщения о том, что фенформин может быть эффективней, чем метформин [62–64]. Изъятие фенформина из клинической практики было когда-то вызвано случаями лактатного ацидоза у диабетиков. Но у онкологических больных диабет не обязателен. В НИИ онкологии им. проф. Н.Н. Петрова полвека назад были проведены первые исследования применения антидиабетических бигуанидов для коррекции метаболического состояния онкологических больных, причем именно с фенформинном, и лактатный ацидоз у пациентов не отмечался [65].

Есть мнение, что действие антидиабетических бигуанидов имитирует эффекты ограничения калорийности питания и усиления физической активности [66]. Независимо от того, насколько оно оправдано [67, 68], противоопухолевые эффекты наблюдаются как при голодании, так и при физических нагрузках [69]. В этих случаях также возможно влияние не на жизнеспособность или пролиферацию определенного

фенотипа опухолевых клеток, а на их переходы между разными фенотипами. Показано, что у голых мышей с перевиваемой аденокарциномой легких повышение аэробной физической активности ослабляет развитие резистентности к гефитинибу, которая обусловлена переходами опухолевых клеток в стволовое состояние [70].

В целом можно сделать вывод, что, если описывать в терминах обратимости фенотипических состояний клеток противоопухолевые эффекты воздействий, цитотоксические или цитостатические последствия которых неочевидны, это может способствовать не только пониманию того, каким образом такие воздействия могут влиять на опухоли, но и расширению круга критериев для поисков новых противоопухолевых средств.

#### *Конфликт интересов*

Авторы заявляют об отсутствии в статье конфликта интересов.

#### *Финансирование*

Исследование не имело спонсорской поддержки.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Nowell PC. The clonal evolution of tumor cell populations // *Science*. 1976;194:23–8.
2. Nussinov R, Tsai C-J, Jang H. Anticancer drug resistance: An update and perspective // *Drug Resist Updates*. 2021;59:100796. doi:10.1016/j.drug.2021.100796
3. Aleksakhina SN, Kashyap A, Imyaninov EN. Mechanisms of acquired tumor drug resistance // *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*. 2019;1872:188310. doi:10.1016/j.bbcan.2019.188310
4. Welch DR, Hurst DR. Defining the hallmarks of metastasis // *Cancer Res*. 2019;79:3011–27.
5. Settleman J, Neto JMF, Bernards R. Thinking differently about cancer treatment regimens // *Cancer Discov*. 2021;11:1016–23.
6. Viossat Y, Noble R. A theoretical analysis of tumour containment // *Nat Ecol Evolut*. 2021;5:826–35.
7. Karabicici M, Alptekin S, Firtina Karagonlar Z, Erdal E. Doxorubicin-induced senescence promotes stemness and tumorigenicity in EpCAM-/CD133- nonstem cell population in hepatocellular carcinoma cell line, HuH-7 // *Mol Oncol*. 2021;15:2185–202.
8. Welte Y, Adjaye J, Lehrach HR, Regenbrecht CRA. Cancer stem cells in solid tumors: elusive or illusive? // *Cell Communicat Signal*. 2010;8:6. doi:10.1186/1478-811X-8-6
9. Quintana E, Shackleton M, Foster HR et al. Phenotypic heterogeneity among tumorigenic melanoma cells from patients that is reversible and not hierarchically organized // *Cancer Cell*. 2010;18:510–23.
10. Rumman M, Dhawan J, Kassem M. Concise review: Quiescence in adult stem cells: Biological significance and relevance to tissue regeneration // *Stem Cells*. 2015;33:2903–12.
11. Thiery JP, Acloque H, Huang RYJ, Nieto MA. Epithelial-mesenchymal transitions in development and disease // *Cell*. 2009;139:871–90.

12. Sheng G. Defining epithelial-mesenchymal transitions in animal development // *Development*. 2021;148(8). doi:10.1242/dev.198036
13. Pastushenko I, Brisebarre A, Sifrim A et al. Identification of the tumour transition states occurring during EMT // *Nature*. 2018;556:463–8.
14. Emert BL, Cote CJ, Torre EA et al. Variability within rare cell states enables multiple paths toward drug resistance // *Nat Biotechnol*. 2021;39:865–76.
15. Sahoo S, Ashraf B, Duddu AS et al. Interconnected high-dimensional landscapes of epithelial–mesenchymal plasticity and stemness in cancer // *Clin Exper Metastasis*. 2022. doi:10.1007/s10585-021-10139-2
16. Willet SG, Lewis MA, Miao Z-F et al. Regenerative proliferation of differentiated cells by mTORC1-dependent paligenesis // *EMBO J*. 2018;37:e98311. doi:10.15252/embj.201798311
17. Mills JC, Stanger BZ, Sander M. Nomenclature for cellular plasticity: are the terms as plastic as the cells themselves? // *EMBO J*. 2019;38:e103148. doi:10.15252/embj.2019103148
18. Nami B, Ghanaeian A, Black C, Wang Z. Epigenetic silencing of HER2 expression during epithelial-mesenchymal transition leads to trastuzumab resistance in breast cancer // *Life*. 2021;11:868. doi:10.3390/life11090868
19. Nami B, Ghanaeian A, Black C, Wang Z. Epigenetic silencing of HER2 expression during epithelial-mesenchymal transition leads to trastuzumab resistance in breast cancer // *Life*. 2021;11:868. doi:10.3390/life11090868
20. Shay JW, Wright WE. Senescence and immortalization: role of telomeres and telomerase // *Carcinogenesis*. 2004;26:867–74.
21. Krishnamurthy J, Torrice C, Ramsey MR et al. Ink4a/Arf expression is a biomarker of aging // *J Clin Invest*. 2004;114:1299–307.
22. Wolf AM. The tumor suppression theory of aging // *Mech Ageing Develop*. 2021;200:111583. doi:10.1016/j.mad.2021.111583
23. Hernandez-Segura A, Nehme J, Demaria M. Hallmarks of Cellular Senescence // *Trends Cell Biol*. 2018;28:436–53.
24. Sharpless NE, Sherr CJ. Forging a signature of in vivo senescence // *Nat Rev Cancer*. 2015;15:397–408.
25. Prokhorova EA, Egorshina AY, Zhivotovsky B, Kopeina GS. The DNA-damage response and nuclear events as regulators of nonapoptotic forms of cell death // *Oncogene*. 2020;39:1–16.
26. Inomata K, Aoto T, Binh NT et al. Genotoxic stress abrogates renewal of melanocyte stem cells by triggering their differentiation // *Cell*. 2009;137:1088–99.
27. Schneider L, Pellegatta S, Favaro R et al. DNA damage in mammalian neural stem cells leads to astrocytic differentiation mediated by BMP2 signaling through JAK-STAT // *Stem Cell Rep*. 2013;1:123–38.
28. Golomb L, Sagiv A, Pateras IS et al. Age-associated inflammation connects RAS-induced senescence to stem cell dysfunction and epidermal malignancy // *Cell Death Differ*. 2015;22:1764–74.
29. Wang L, Lankhorst L, Bernards R. Exploiting senescence for the treatment of cancer // *Nat Rev Cancer*. 2022. doi:10.1038/s41568-022-00450-9
30. Demaria M, Ohtani N, Youssef Sameh A et al. An essential role for senescent cells in optimal wound healing through secretion of PDGF-AA // *Develop Cell*. 2014;31:722–33.
31. Storer M, Mas A, Robert-Moreno A et al. Senescence is a developmental mechanism that contributes to embryonic growth and patterning // *Cell*. 2013;155:1119–30.
32. Li Y, Zhao H, Huang X et al. Embryonic senescent cells re-enter cell cycle and contribute to tissues after birth // *Cell Res*. 2018;28:775–8.
33. Tripathi U, Misra A, Tchkonja T, Kirkland JL. Impact of senescent cell subtypes on tissue dysfunction and repair: Importance and research questions // *Mech Ageing Develop*. 2021;198:111548. doi:10.1016/j.mad.2021.111548
34. Sikora E, Bielak-Zmijewska A, Mosieniak G. A common signature of cellular senescence; does it exist? // *Ageing Res Rev*. 2021;71:101458. doi:10.1016/j.arr.2021.101458
35. Golubev AG, Khrustalev S, Butov AA. An in silico investigation into the causes of telomere length heterogeneity and its implications for the Hayflick limit // *J Theor Biol*. 2003;225:153–70.
36. Adler FR, Amend SR, Whelan CJ, Baratchart E. From Ecology to Cancer Biology and Back Again // *Frontiers Media SA*. 2022.
37. Голубев АГ. Общие принципы взаимоотношений живых организмов с экосистемой и злокачественных клеток с живым организмом // *Биосфера*. 2022;14:61–74 [Golubev AG. Common principles of interrelationships between living organisms and an ecosystem and between malignant cells and a living organism // *Biosfera*. 2022;14:61–74 (In Russ.)].
38. Denmeade S, Antonarakis ES, Markowski MC. Bipolar androgen therapy (BAT): A patient's guide // *Prostate*. 2022;82:753–62.
39. Zhang J, Cunningham J, Brown J, Gatenby R. Evolution-based mathematical models significantly prolong response to abiraterone in metastatic castrate-resistant prostate cancer and identify strategies to further improve outcomes // *Life*. 2022;11:e76284.
40. Gunnarsson EB, De S, Leder K, Foo J. Understanding the role of phenotypic switching in cancer drug resistance // *J Theor Biol*. 2020;490:110162. doi:10.1016/j.jtbi.2020.110162
41. Fane M, Weeraratna AT. How the ageing microenvironment influences tumour progression // *Nat Rev Cancer*. 2020;20:89–106.
42. Boulefour W, Magne N. Aging preclinical models in oncology field: from cells to aging // *Aging Clin Exper Res*. 2021. doi:10.1007/s40520-021-01981-1
43. Habr D, McRoy L, Papadimitrakopoulou VA. Age is just a number: Considerations for older adults in cancer clinical trials // *J Natl Cancer Inst*. 2021;113:1460–4.
44. Golubev AG, Anisimov VN. Aging and cancer: Is glucose a mediator between them? // *Oncotarget*. 2019;10:6758–67.
45. Li S, Zhu H, Chen H et al. Glucose promotes epithelial-mesenchymal transitions in bladder cancer by regulating the functions of YAP1 and TAZ // *J Cell Mol Med*. 2020;24:10391–401.
46. Li W, Zhang L, Chen X et al. Hyperglycemia promotes the epithelial-mesenchymal transition of pancreatic cancer via hydrogen peroxide // *Oxid Med Cell Longev*. 2016. doi:10.1155/2016/5190314
47. Wu J, Chen J, Xi Y et al. High glucose induces epithelial-mesenchymal transition and results in the migration and invasion of colorectal cancer cells // *Exper Therap Med*. 2018;16:222–30.
48. Anisimov VN. Metformin for cancer and aging prevention: is it a time to make the long story short? // *Oncotarget*. 2015;6:39398–407.
49. Dilman VM, Anisimov VN. Potentiation of antitumor effect of cyclophosphamide and hydrazine sulfate by treat-

- ment with the antidiabetic agent, 1-phenylethylbiguanide (phenformin) // *Cancer Lett.* 1979;7:357–61.
50. Alexandrov VA, Anisimov VN, Belous NM et al. The inhibition of the transplacental blastomogenic effect of nitroso-methylurea by postnatal administration of buformin to rats // *Carcinogenesis.* 1980;1:975–8.
  51. Dilman VM, Revskoy SY, Golubev AG. Neuroendocrine-ontogenetic mechanism of aging: toward an integrated theory of aging // *Int Rev Neurobiol.* 1986;28:89–156.
  52. Samuel SM, Varghese E, Koklesová L et al. Counteracting chemoresistance with metformin in breast cancers: Targeting cancer stem cells // *Cancers.* 2020;12. doi:10.3390/cancers12092482
  53. Di Matteo S, Nevi L, Overi D et al. Metformin exerts anti-cancerogenic effects and reverses epithelial-to-mesenchymal transition trait in primary human intrahepatic cholangiocarcinoma cells // *Sci Rep.* 2021;11:2557. doi:10.1038/s41598-021-81172-0
  54. Patil S. Metformin treatment decreases the expression of cancer stem cell marker CD44 and stemness related gene expression in primary oral cancer cells // *Arch Oral Biol.* 2020;113:104710. doi:10.1016/j.archoralbio.2020.104710
  55. Yin W, Liu Y, Liu X et al. Metformin inhibits epithelial-mesenchymal transition of oral squamous cell carcinoma via the mTOR/HIF-1 $\alpha$ /PKM2/STAT3 pathway // *Oncol Lett.* 2021;21:31. doi:10.3892/ol.2020.12292
  56. Seo Y, Kim J, Park SJ et al. Metformin suppresses cancer stem cells through AMPK activation and inhibition of protein prenylation of the mevalonate pathway in colorectal cancer // *Cancers.* 2020;12. doi 10.3390/cancers12092554:
  57. Zhang C, Wang Y. Metformin attenuates cells stemness and epithelial-mesenchymal transition in colorectal cancer cells by inhibiting the Wnt3a/ $\beta$ -catenin pathway // *Mol Med Rep.* 2019;19:1203–9.
  58. Deschênes-Simard X, Parisotto M, Rowell M-C et al. Circumventing senescence is associated with stem cell properties and metformin sensitivity // *Aging Cell.* 2019;18:e12889. doi:10.1111/ace1.12889
  59. Zahra MH, Afify SM, Hassan G et al. Metformin suppresses self-renewal and stemness of cancer stem cell models derived from pluripotent stem cells // *Cell Biochem Funct* 2021;39:896–907.
  60. Park JH, Kim YH, Park EH et al. Effects of metformin and phenformin on apoptosis and epithelial-mesenchymal transition in chemoresistant rectal cancer // *Cancer Sci.* 2019;110:2834–45.
  61. Zhao H, Swanson KD, Zheng B. Therapeutic repurposing of biguanides in cancer // *Trends Cancer.* 2021;7:714–30.
  62. Kuo CL, Hsieh Li SM, Liang SY et al. The antitumor properties of metformin and phenformin reflect their ability to inhibit the actions of differentiated embryo chondrocyte 1 // *Cancer Manag Res.* 2019;11:6567–79.
  63. García Rubiño ME, Carrillo E, Ruiz Alcalá G et al. Phenformin as an anticancer agent: Challenges and prospects // *Int J Mol Sci.* 2019;20. doi:10.3390/ijms20133316
  64. Vara-Ciruelos D, Dandapani M, Russell FM et al. Phenformin, but not metformin, delays development of T cell acute lymphoblastic leukemia/lymphoma via cell-autonomous AMPK activation // *Cell Rep.* 2019;27:690–8.e4. doi:10.1016/j.celrep.2019.03.067
  65. Дильман ВМ, Берштейн ЛМ, Цырлина ЕВ и др. Коррекция эндокринно-метаболических нарушений у онкологических больных. Эффекты бигуанидов (фенформин и адебита), мисклерона и дифенина // *Вопросы онкологии.* 1975;21(11):33–9 [Dilman VM, Bershtein LM, Tsyrlina YeV et al. Correction of endocrine-metabolic disorders in cancer patients. The effects of biguanides (phenformin and adebit), miscleron and diphenin // *Voprosy onkologii.* 1975;21(11):33–9 (In Russ.)].
  66. Vidoni C, Ferraresi A, Esposito A et al. Calorie restriction for cancer prevention and therapy: Mechanisms, expectations, and efficacy // *J Cancer Prevent.* 2021;26:224–36.
  67. Golubev AG. Commentary: Is life extension today a Faustian bargain? // *Front Med.* 2018;5. doi:10.3389/fmed.2018.00073
  68. Golubev AG. COVID-19: A challenge to physiology of aging // *Front Physiol.* 2020;11. doi:10.3389/fphys.2020.584248
  69. Голубев АГ, Семиглазова ТЮ, Ключе ВА и др. Три пандемии сразу: неинфекционная (онкологическая), инфекционная (CoVID-19) и поведенческая (гипокинезия) // *Вопросы онкологии.* 2021;67(2):163–80 [Golubev AG, Semiglazova TY, Klyuge VA et al. Three pandemics at once: noninfectious (cancer), infectious (COVID-19), and behavioral (hypokinesia) // *Voprosy onkologii.* 2021;67(2):163–80 (In Russ.)].
  70. Yang H, Liu Y, Kong J. Effect of aerobic exercise on acquired gefitinib resistance in lung adenocarcinoma // *Translat Oncol.* 2021;14:101204. doi:10.1016/j.tranon.2021.101204

Поступила в редакцию 25.04.2022 г.  
Получена после доработки 16.07.2022 г.

*A.G. Golubev, V.N. Anisimov*

**The systemic factors of mitigating the contribution of the reversible phenotypic transitions of malignant cells to therapeutic resistance**

N.N. Petrov National Medical Center of Oncology, Saint Petersburg, Russia

The development of cancer resistance to radio- chemo- and immunotherapy seriously compromises treatment outcomes. The present review of publications related to the phenotypic plasticity of malignant cells leads, with account of the principal characteristics of the stem-cell, epithelial, mesenchymal and senescent phenotypes, to the conclusion that the key factor of the therapeutic resistance of cancer is the reversibility of malignant cell transitions between these phenotypes. Such transitions depend on cells environment including host age and metabolic and endocrine conditions. Modulating the metabolic parameters of tumor host may significantly influence the efficacy of anticancer therapy without affecting the viability and/or proliferation of cancer cells in any of their particular phenotypic states. This stance is illustrated with data on the anticancer effects of antidiabetic biguanides. Analyzing in terms of reversibility of phenotypic states the effects of interventions having nonobvious cytostatic and/or cytotoxic consequences may help to understand the mechanisms of such interventions and to expand the scope of criteria useful in searching for novel anticancer therapies.

Key words: therapeutic resistance of cancer, phenotypic plasticity, metabolism, aging, antidiabetic biguanides

**Сведения об авторах**

*\*Голубев Алексей Георгиевич*, канд. биол. наук, ведущий научный сотрудник научной лаборатории канцерогенеза и старения, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России, ORCID: 0000-0002-2129-6205, 197758, Санкт-Петербург, Песочный-2, Ленинградская ул., 68, lxglbv@rambler.ru

*Анисимов Владимир Николаевич*, д-р мед. наук, профессор, чл.-кор. РАН, заведующий научным отделом канцерогенеза и онкогеронтологии, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России; ORCID: 0000-0002-3683-861X, 197758, Санкт-Петербург, Песочный-2, Ленинградская ул., 68, aging@mail.ru

*\*Aleksi Georgievich Golubev*, Candidate of Sciences / PhD (Biology), leading researcher of the Research Laboratory of Carcinogenesis and Aging, N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology, ORCID: 0000-0002-2129-6205, 68 Leningradskaya st., Pesochny, Saint Petersburg, 197758, Russia, lxglbv@rambler.ru

*Vladimir Nikolayevich Anisimov*, MD, Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Head of the Scientific Department of Carcinogenesis and Oncogerontology, N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology, ORCID: 0000-0002-3683-861X, 68 Leningradskaya st., Pesochny, Saint Petersburg, 197758, Russia, aging@mail.ru