

MICROAMBIENTUL TUMORAL-ELEMENT DE PATOGENITATE AL PROLIFERĂRII TUMORALE

TUMORAL MICROENVIRONMENT – PATHOGENIC ELEMENT OF TUMORAL DEVELOPMENT

MIHAIL ALECU*,**, GABRIELA COMAN*, MONICA COSTESCU*,***, IONICĂ RĂDULESCU**,
ALINA MUȘETESCU*,**, OANA ANDREIA COMAN*,***

Rezumat

Microambientul celular reprezintă spațiul redus din jurul unei celule sau al unei structuri biologice pluricelulare în care se găsesc celule, matrix extracelular, enzime, proteine de semnal. Între celule și elementele din microambientul celular este posibil un schimb permanent de semnale.

Prin extindere la tumori solide, se consideră spațiul din jurul unei tumori ca un microambient tumoral format din aceleași elemente ca microambientul celular.

Microambientul celular asigură și favorizează evoluția normală a celulelor.

Microambientul tumoral asigură și promovează dezvoltarea tumorală, în toate stadiile de evoluție a acesteia inclusiv metastazarea și pregătirea locului de atașare a celulei metastatice (nișă premetastatică). S-a observat că microambientul tumoral și în special celulele, capătă proprietăți protumorale importante.

Astfel fibroblastele devin fibroblaste asociate cancerului care au proprietăți protumorale, macrofagele își schimbă profilul secretor devenind macrofage asociate cancerului cu secreție de citokine protumorale, adipocitele secretă factori protumorali favorizând invazia.

Mai mult, s-a observat că microambientul tumoral acționează ca o adevărată barieră biologică care protejează tumora de acțiunea mecanismelor de apărare ale gazdei

Summary

Cellular microenvironment is the reduced space around a cell or a biological multicellular structure in which there are cells, extracellular matrix, enzymes, signal proteins. Between the cells and cellular microenvironment elements a regular exchange of signals is possible.

By expanding to solid tumors the space around the tumor is considered as a tumor microenvironment formed by the same elements as the cell microenvironment.

Cellular microenvironment provides and promotes normal cell development.

Tumor microenvironment provides and promotes tumor development at all stages of its development including metastasation, site preparation of metastatic cell attachment situs (premetastatic niche).

It was observed that the tumor microenvironment, in particular cells, gain important protumoral properties.

Moreover, it was observed that the tumor microenvironment acts as a true biological barrier that protects tumor action of host defense mechanisms (immunological and non-immunological) or the action of antitumor drugs.

There are presented the main causes modifications of microenvironment of tumor cells to become protumoral, suppression of adoptive and innate immune response and therapeutic prospects by the action of the cellular elements that compose the tumor microenvironment.

* Spitalul Clinic de Boli Infecțioase și Tropicale „Dr. Victor Babeș”, București.
„Dr. Victor Babeș” Hospital for Infectious and Tropical Diseases, Bucharest.

** Universitatea de Medicină „Titu Maiorescu” București.
„Titu Maiorescu” University of Medicine, Bucharest

*** Universitatea de Medicină și Farmacie „Carol Davila” București.
„Carol Davila” University of Medicine and Pharmacy, Bucharest.

(imunologice și neimunologice) sau de acțiunea medicamentelor antitumorale.

Sunt prezentate principalele modificări ce determină celulele din microambientul tumoral să devină protumorale, supresia răspunsului imun adaptativ și înăscut de către microambientul tumoral precum și perspectivele terapeutice prin acțiunea asupra elementelor celulare ce compun microambientul tumoral.

Cuvinte cheie: microambient tumoral, imunitate, perspective terapeutice.

Key words: tumor microenvironment, immunity, therapeutic perspectives.

Intrat în redacție: 29.10.2018

Acceptat: 3.12.2018

Received: 29.10.2018

Accepted: 3.12.2018

Microambientul reprezintă un spațiu redus din jurul unei celule sau structuri biologice multicelulare, spațiu în care este posibil un schimb de semnale între elementele care se găsesc în acest spațiu și structura biologică. În acest spațiu o serie de semnale cu origini variate sunt procesate, cuplate și pot influența direct evoluția normală a celulei sau structurii biologice multicelulare.

Există o serie de factori fizico chimici care constituie elementele esențiale ale microambientului unei structuri biologice. Printre aceștia cei mai importanți sunt: vâscozitatea, temperatura, concentrația de O₂, pH, polaritatea, factori cu potențial electrostatic [1].

In vitro, microambientul unei singure celule este compus din: matrixul extracelular, celule de același tip sau de alte tipuri care înconjoară o singură celulă, substanțe bioactive (citokine, hormoni, factori de creștere) cu rol autocrin, endocrin sau paracrin, forțe mecanice rezultând din mișcarea fluidelor organismului sau a organismului în totalitate la care se adaugă structuri de tipul nanopori, nanofibrile, nanocristale, substanțe care rezultă din metabolismul celular [2].

Microambientul celular sau al unui grup de celule trebuie privit ca un element cu o structură dinamică cu care celulele au un permanent schimb de semnale fizice, chimice, biologice. Structura microambientului celular este într-o continuă schimbare și chiar celulele sau structurile biologice pluricelulare contribuie prin propria evoluție și dezvoltare la apariția de modificări în microambient și chiar la apariția acestuia [1,2,3].

Microenvironment is a small space around a cell or multi-cellular biological structure, where there is a possible exchange of signals between elements of this area and the biological structure. In this space a series of signals of various origins are processed, coupled and can directly influence the normal evolution of the cell or multicellular biological structure.

There are a number of physical and chemical factors considered essential elements of a biological microenvironment. Among these, the most important are: viscosity, temperature, O₂ concentration, pH, polarity, electrostatic potential factors [1].

In vitro microenvironment of a single cell is composed of: extracellular matrix, cells of the same type or of other types, surrounding a single cell, bioactive substances (cytokines, hormones, growth factors), with autocrine, paracrine or endocrine role, mechanical forces resulting from the motion of the body fluids or entirely organism, plus structures as nanopores, nanofibers, nanocrystals, substances resulting from cellular metabolism [2].

Microenvironment of a cell or group of cells to be regarded as a dynamic element with a structure wherein the cells have a constant exchange of signals physical, chemical, biological. Cellular microenvironment structure is constantly changing and even cells / biological pluricellular structures, through its own evolution and development, contribute to the appearance of changes in the microenvironment and even its appearance [1,2,3].

Microambientul celular

Suportul material al microambientului celular îl reprezintă matrixul extracelular (ECM). Noțiunea de microambient al unei celule sau structuri biologice cuprinde și celulele cu care aceste structuri interacționează fără ca aceste celule să fie elemente constitutive ale matrixului extracelular [4].

Matrixul celular se definește ca o rețea macromoleculară tridimensională, non celulară formată din collagen, proteoglicani, elastină, fibronectină, laminină ca și o multitudine de macromolecule [5].

La acestea se adaugă o serie de proteine cu rol de receptor dar și de adeziune cum ar fi integrinele. Fiecare proteină care compune matrixul extracelular are funcții diferite: structurale, (colagen, elastină), de adeziune, mecanice, biochimice. Integrinele, în special $\beta 1$ integrina funcționează ca o legătură între ECM și citoscheletul celular. Semnalul primit prin intermediul integrinelor poate duce în interiorul celulelor la activarea kinazelor Rho și MAP care afectează proliferarea, diferențierea, polaritatea precum și expresia genelor. Există și procesul invers în sensul că o serie de modificări intracelulare (proteine ca FAK și LLK) pot induce modificări conformaționale ale integrinei și activarea altor liganzi extracelulari [5,6].

Există o permanentă remodelare ECM, prin acțiunea metaloproteinazelor matriceale, collagenul fiind substratul acestor enzime. De asemenea ECM suferă modificări sub influența citokinelor stresului oxidativ dar și a factorilor mecanici. Modificările biomecanice ale ECM influențând morfologia și diferențierea celulelor cu care interacționează [1].

Glicozilarea este un proces esențial în activitatea proteinelor din matrixul extracelular. Funcționarea deficitară a acestui proces duce la modificări de structură, producere și funcționare a proteinelor de adeziune intercelulară cu perturbarea microambientului celular. Există o relație bidirecțională celulă-ECM. Celula produce și remodelarea ECM iar ECM transmite semnale ce influențează activitatea celulei [7].

Microambientul celular format din ECM, celule și diverși agenți biologici este esențial pentru viața celulei. Absența microambientului și

Cellular microenvironment

Material support of cellular microenvironment is the extracellular matrix (ECM). The concept of the microenvironment of a cell or biological structure comprises cells that these structures interact with, without being extracellular matrix constituents.

The cell matrix is defined as a three-dimensional macromolecular network, non cellular, formed of collagen, proteoglycan, elastin, fibronectin, laminin, and a plurality of macromolecules [5].

To these is added a number of proteins acting as receptors but also as adhesion molecules such as integrins. Each protein which comprises extracellular matrix, has different functions: structural (collagen, elastin), adhesion, mechanical, biochemical. Integrins, especially $\beta 1$ integrin acts as a link between ECM and the cell cytoskeleton. The signal received by the integrins may lead to the activation of MAP and Eco kinases within the cells, affects proliferation and polarity, differentiation and gene expression. There is also the reverse process in the sense that a number of changes in intracellular (as FAK protein and LLK) may induce conformational changes in integrin structure and activation of other extracellular ligands [5,6].

There is a permanent reshaping of ECM by matriceal metalloproteinases action, with collagen as the substrate of these enzymes. ECM may suffer changes under the influence of cytokines and oxidative stress but mechanical factors also. ECM biomechanical changes are affecting the morphology and differentiation of cells which they interact with [1].

Glycosylation is an essential process in the activity of extracellular matrix proteins. Malfunction of this process result in changes to the structure, production and function of intercellular adhesion proteins with disruption of the cellular microenvironment. There is a bidirectional relationship cell-ECM. The cell produces ECM remodeling and ECM signals influence cell activity [7].

Microenvironment consists of ECM, cells and various biological agents and is essential for the life of the cell. The absence of microenvironment, especially of cell adhesion, induces cell death by apoptosis. The composition of micro-

în special a adeziunii celulare induce moartea celulelor prin apoptoză .

Componența microambientului poate varia de la celulă la celulă în funcție de specificul activității fiecărui tip de celulă.

În afară de funcția structurală micro-ambientul celular apare ca o adevărată entitate informațională ce integrează semnale structurale și funcționale în absența cărora celula nu poate supraviețui.

Pe de altă parte microambientul poate deveni „teren” de desfășurare a unor procese patologice sau poate participa activ la desfășurarea acestor procese. În cazul procesului inflamator, micro-ambientul este direct implicat în inițierea, desfășurarea dar și „stingerea” răspunsului inflamator. În cazul proliferației tumorale microambientul celular devenit microambientul tumoral participă activ la dezvoltarea tumorală [8].

Microambientul celulelor stem. Un micro-ambient special îl reprezintă microambientul ce se formează în jurul celulelor stem din diferite organe ale corpului: regiunea nișei localizată la nivelul foliculului pilos, nișa pentru celulele hematopoietice, nișa de la nivelul criptelor intestinale, pulpa dentară [9].

Aceste microambiente speciale au capacitatea de a menține celulele stem în stadiul G_0 al ciclului celular (celula stem nediferențiată) menținându-se un echilibru între celulele stem și celulele care intră în diferențiere. În nișă, celulele stem se mențin cu un metabolism redus, sunt protejate de acumularea de mutații la nivelul genomului propriu. În esență, microambientul celulelor stem este format din celule stromale, matrixul extracelular și factori solubili. Diferența față de alte tipuri de microambiente o reprezintă factorii solubili, componența factorilor de creștere are o anumită specificitate în funcție de tipul de celule stem [9].

Există o interacțiune complexă între celulele stem și microambientul celular al nișei. Principalul mecanism îl reprezintă integrinele în special $\beta 1$ integrinele care pot activa sau inhiba o serie de kinaze (kinaze de adeziune) prin care se controlează activitatea celulelor stem [9].

Cea mai cunoscută și mai bine conturată anatomic „nișă” o reprezintă nișa de la nivelul foliculului pilos (bulge region) care cuprinde celule stem melanocitare și celule stem

environment may vary from cell to cell depending on the specific activity of each cell type.

Apart from structural function cellular microenvironment appears as a real informational entity integrating structural and functional signals without which the cell cannot survive.

On the other hand microenvironment can become "ground" deployment of pathological processes or participate actively in carrying out these processes. In inflammatory process microenvironment is directly involved in the initiation, conduct and "stopping" inflammatory response. In case of the tumoral growth, microenvironment become tumoral micro-environment, actively involved in tumor development [8].

Stem cells microenvironment. A particular microenvironment is the microenvironment formed around stem cells in various organs of the body, the bulge region, located in the hair follicle, hematopoietic cells niche, the niche cells from the intestinal crypts level, dental pulp [9]. These specific micro-environments have the ability to maintain stem cells in G_0 of the cell cycle stage (undifferentiated stem cell) keeping a balance between stem cells and cells that enter into differentiation. Niche stem cells are maintaining a low metabolism, are protected by genes mutation accumulation. In essence, the stem cell micro-environment consists of stromal cells, the extracellular matrix and soluble factors. The difference from the other types of micro-environments is the soluble factors. The composition of growth factors has some specificity according to the type of stem cells [9].

There is a complex interaction between stem cells and the cellular microenvironment niche. The main mechanism is the integrins especially $\beta 1$ integrins that can activate or inhibit a number of kinases (adhesion kinases) which controls the activity of stem cells [9].

The most well-known and well-defined anatomical "niche" is the bulge region, in the hair follicle, composed of melanocytic stem cells and epidermal stem cells, separated from each other by a seria of proteins like tenascin-C protein, collagen VI, collagen XVIII, fibrillin, all are better

epidermice, separate între ele. O serie de proteine ca tenascina-c, collagen VI, collagen XVIII, fibrilina, sunt mai bine exprimate decât în cazul keratinocitelor diferențiate [10].

Microambientul tumoral

Proliferarea tumorală este rezultatul acumulării progresive a modificărilor genetice și epigenetice care face ca celulele canceroase să capete o serie de caracteristici care le diferențiază de celulele normale (proliferație nelimitată, răspuns slab la factori supresori, rezistență la apoptoză, evitarea distrucției de către sistemul imun, stimularea angiogenezei, metastazarea și exacerbarea tumorală datorată inflamației [11].

Toate aceste caracteristici nu ar putea să se exprime și să ducă în final la formarea tumorilor solide fără să existe un microambient favorabil acestui proces.

Astfel, pe măsură ce tumora evoluează și produce propriul microambient, transformă microambientul normal în microambient tumoral (TME).

O caracteristică a microambientului tumoral este faptul că nu conține elemente noi, diferite de structurile microambientului normal (matrix extracelular, celule, citokine) ci elementele microambientului normal capătă proprietăți protumorale importante care asigură creșterea tumorală [12].

Microambientul tumoral este format în cazul tumorilor solide din matrixul extracelular împreună cu o serie de celule nontumorale care se găsesc în matrix, fibroblaste asociate cancerului (CAF), adipocite activate, celule stem mezenchimale, miofibroblaste) celule infiltrate cu funcții imune (plachete, mastocite, neutrofile, monocite, celule mioeloide supresoare derivate din măduvă (MDSC), macrofage, limfocite T CD8⁺, celule NK, limfocite T CD4⁺, limfocite B. [13].

În funcție de tipul tumorii și de localizare, componentele microambientului tumoral pot varia atât ca structură propriu zisă cât și ca importanță în dezvoltarea tumorii.

Matrixul extracelular tumoral. Din cauza semnalelor provenite de la celulele tumorale, celulele stromale, fibroblastele, miofibroblastele secretă o serie de citokine, chemokine, factori de creștere și proteine care modifică profund

expressed than in differentiated keratinocytes [10].

Tumor microenvironment

Tumor development is the result of the gradual accumulation of genetic and epigenetic changes that cause cancer cells to acquire a number of characteristics that distinguish them from normal cells (unlimited proliferation, poor response to suppressive factors, resistance to apoptosis, avoiding destruction by the immune system, stimulating angiogenesis, metastasis and exacerbation of the tumor due to inflammation) [11]. All these features would not be able to express and ultimately lead to the formation of solid tumors without a microenvironment favorable to the process. Thus, as the tumor progresses, it produces its own microenvironment transforming the normal microenvironment in tumoral microenvironment (TME).

A characteristic of the tumor microenvironment is that TME does not contain new elements different from normal microenvironment (extracellular matrix, cells, cytokine) but normal microenvironment acquires protumoral important properties which promote tumor growth [12].

Tumor microenvironment is formed in the case of solid tumors, of extracellular matrix with a number of non tumoral cells present in matrix (cancer associated fibroblasts CAF), activated adipocytes, stem cells, (mesenchymal, myofibroblasts), infiltrate cells with immune functions (platelets, mast cells, neutrophils, monocytes, myeloid marrow derived suppressor cells macrophages, T CD8⁺ lymphocytes, NK cells, CD4⁺ T lymphocytes, B lymphocytes) [13].

Depending on the type and location of tumor, tumor microenvironment components can vary both in structure and actual importance in tumor development.

Tumor extracellular matrix. Because signals from stromal tumoral cells, fibroblasts, myofibroblasts secrete a number of cytokines, chemokines, growing factors that deeply modify the extracellular matrix. There is a metabolic reprogramming, transcription activation and alteration of reparatory protein synthesis[12].

matrixul extracelular . Are loc o reprogramare a metabolismului, activarea transcripției și alterarea sintezei proteinelor reparatorii [12].

Matrixul extracelular conține o rețea fibrilară formată din fibre de colagen, laminină, fibronectină, proteoglicani, acid hialuronic, într-o organizare specifică [14]. În cursul proliferării tumorale rețeaua de fibre a EMC suferă o condensare remodelare și realiniere. S-a demonstrat că fibrele de colagen din jurul tumorii se diferențiază în trei categorii : fibre de colagen, care sunt foarte dense, de lângă tumoră, (tumor associated collagen signature) (Tacs 1) fibre de colagen întinse care înconjoară tumora (Take 2) și fibre de colagen normale aliniat cu marginile tumorii. (Tacs3). Există o interacțiune intimă în primele stadii ale tumorii între celulele tumorale și fibrele de colagen dense [15].

Privite în totalitate, anomaliile ECM care apar în cursul dezvoltării tumorale au fost denumite desmoplazie și reprezintă o creștere a numărului de fibre de colagen, fibronectină și proteoglicani, tenascină C. La cele mai multe cancere desmoplazia este asociată cu o agresivitate tumorală crescută [16].

Celulele constituate ale microambientului tumoral. Microambientul tumoral conține numeroase celule non tumorale (celule stromale, imune, vasculare) a căror funcție este convertită în promovarea proliferării tumorale. Pe de altă parte, din interacțiunea dintre aceste celule tumorale se formează microambientul tumoral.

Fibroblastele reprezintă celulele de bază ale țesutului conjunctiv fiind situate în matrixul extracelular având capacitatea de a produce și secreta elementele care constituie microambientul celular. Prin acțiunea celulelor tumorale, fibroblastele devin fibroblaste asociate cancerelor (CAF), care sunt diferite de fibroblastele normale. CAF au capacitatea de a remodela matrixul extracelular și a-l transforma în microambient tumoral și prin secreția de factori de creștere, citokine, recrutarea de celule inflamatorii inducerea imunodepresiei, activarea factorilor de transcripție YAP, NF- κ B, ca și secreția de factori cu acțiune activatoare generală (TGF- β , CXCL12) sau vasculară VEGF.

Activarea fibroblastelor și transformarea lor în CAF are loc prin comunicarea celulă-celulă (celulă tumorală-fibroblast?) factori de creștere, molecule de adeziune, microARN [17].

Extracellular matrix contains a fibrillar network of collagen, laminin, fibronectin, proteoglycan, hyaluronic acid, in a specific organization [14]. In the course of tumor growth the ECM network of fibrils undergo condensation, remodeling and realignment. It has been demonstrated that the collagen fibers are very dense near the tumor (tumor-associated collagen signature) (Tacs 1) large collagen fibers surrounding the tumor (Tacs 2) and the normal collagen fibers aligned with the edges of the tumor (Tacs3). There is an intimate interaction in early stages of tumor, between the tumor cells and dense collagen fibers [15].

Taken in its entirety, ECM abnormalities that occur during the tumor growth were termed desmoplasia and represents an increase in the number of collagen, fibronectin and proteoglycans, tenascin C fibers. In most cancers desmoplasia is associated with increased tumor aggressiveness [16].

The constituent cells of the tumor microenvironment. Tumor microenvironment contains many non tumor cells (stromal cells, immune, vascular) the function of which is converted in promoting tumor growth. On the other hand, the interaction of the tumor cells creates tumor microenvironment.

Fibroblasts are basic connective tissue cells located in the matrix, having the ability to produce and secrete the elements constituting the cellular microenvironment. By activating the tumor cells, the fibroblasts become cancer associated fibroblasts (CAF), which are different from normal fibroblasts. CAF present ability to remodel the extracellular matrix and turn it into tumor microenvironment by secretion of factors (VEGF, TGF β , CXCL12) secretion of growth factors, cytokines, inducing immunosuppression, inflammatory cell recruitment, activation of transcription factors YAP, NF/ κ B as general activating factors release (TGF β , CX-CL12) or vascular factors.

Fibroblast activation and converting them into CAF, occurs by cell to cell communication (tumor cell-fibroblast?) growth factors, adhesion molecules, microRNAs [17]. An important factor in the operation of a CAF is the transmembrane serine protease, fibroblast activatory protein (FAP). In normal tissues, FAP is slightly expressed. FAP is expressed in stromal fibroblasts,

Un factor important în funcționarea CAF îl reprezintă o serin protează transmembranală, proteina activatoare a fibroblastelor (FAP). În țesuturile normale, FAP este puțin exprimată. FAP este exprimată pe fibroblastele stromale din carcinoame în proporții foarte mari și în afară de rolul de a activa CAF are și rol de protează favorizând metastazarea [18].

CAF diferă esențial de fibroblastele normale. În timp ce fibroblastele normale se opun creșterii tumorale, CAF induce și sprijină dezvoltarea tumorală atât in vivo cât și in vitro [19].

CAF provin în special din fibroblaste dar prin intermediul tranziției endotelial mezenchimale pot proveni din celule endoteliale sau epiteliale [18].

Celulele endoteliale. Formarea de noi vase de sânge este esențială pentru dezvoltarea tumorală. Vascularizația tumorală necesită o cooperare multiplă între celulele din microambientul tumoral inclusiv celulele endoteliale, pericitele și celulele derivate din măduva osoasă. [18].

Principalul stimul pentru neoangiogeneza tumorală îl reprezintă hipoxia. La aceasta se adaugă factori solubili ce se găsesc în TME ca VEGF, FGF, factori de creștere derivați din plachete (PDGF). Acești factori ca și alți factori proangiogenici sunt produși prin cooperarea celulelor tumorale cu celulele din microambientul tumoral: CAF, macrofage asociate tumorii, celule stem mezenchimale [18].

Limfangiogeneza tumorală se dezvoltă după același model ca angiogeneza tumorală. Macrofagele activate ca și populațiile de celule mieloide acționează asupra celulelor endoteliale limfatice prin intermediul factorilor de creștere VEGF-C și VEGF-D. De menționat că VEGF (sau VEGF-A) este produs atât de către celulele tumorale cât și de celulele inflamatorii [18,19]. Producerea de noi vase de sânge în cursul dezvoltării tumorale are la bază și recrutarea de către celulele endoteliale preexistente, activate a celulelor progenitoare endoteliale provenite din măduva osoasă [20].

Adipocitele. Țesutul adipos conține două tipuri de celule (adipocite) respectiv adipocitele albe, univacuolare și adipocitele brune, plurivacuolare. Culoarea adipocitelor brune este dată de numărul mare de mitocondrii din citoplasmă.

În general ambele tipuri de adipocite sunt asociate cu dezvoltarea tumorală sub formă de

in large scale carcinomas and in addition to the role of the CAF it activates proteases with role in promoting the metastasis [18].

CAF differs significantly from normal fibroblasts. As opposed to normal fibroblasts that are stopping tumor growth, CAF supports tumor growth both in vivo and in vitro [19]. CAF derive mainly from fibroblasts but by endothelial mesenchymal transition can be derived from endothelial or epithelial cells [18].

The endothelial cells. The formation of new blood vessels is essential for tumor development. Tumor vascularisation requires cooperation between the microenvironment of tumor cells including endothelial cells, pericytes and cells derived from bone marrow [18].

The main stimulus for tumor neovascularization is the hypoxia. To this was added soluble factors that are in TME as VEGF, FGF, platelet derived growth factors (PDGF). These and other proangiogenic factors are produced by the cooperation of tumor cells with cells in the tumor microenvironment: CAF, tumor associated macrophages, mesenchymal stem cells [18].

The tumor lymphangiogenesis presents the same pattern as tumor angiogenesis. Activated macrophages as well as myeloid cell populations acting on lymphatic endothelial cells via growth factors VEGF-C and VEGF-D. Note that the VEGF (or VEGF-A) is produced by both tumor cells and inflammatory cells [18,19]. The production of new blood vessels in the tumor is based on the development and recruitment of preexistent endothelial cells, activated endothelial cells and progenitor cells from the bone marrow [20].

Adipocytes. Adipose tissue contains two types of cells (adipocytes) or white adipocytes, (univacuolars) and brown adipocytes (plurivacuolar). The brown color of adipocytes is given by the large number of mitochondria in the cytoplasm.

Generally both types of adipocytes are associated with tumor development as cancer associated adipocytes (CAAs) present especially in the tumor invasion front. CAAs secrete many protumoral factors involved in matrix remodeling and induce epithelial mesenchymal transition [21]. In addition to these mature adipocytes there are adipocyte stem cells that, in

adipocite asociate cancerului (CAAs) care se găsesc în special pe frontul de invazie al tumorii. CAAF secretă o multitudine de factori protumorali implicați în remodelarea matrixului și induc tranziția epitelial mezenchimală [21]. În afara acestor adipocite mature există celule stem adipocitare care în condițiile proliferării tumorale pot fi considerate asociate creșterii tumorale. Aceste celule contribuie la remodelarea microambientului tumoral se pot diferenția în celule stromale asociate cancerului și pot promova tranziția epitelial mezenchimală [22].

Celule cu rol imun. Dintre celulele implicate în imunitatea înăscută și în imunitatea adaptativă care se găsesc tranzitoriu în microambientul tumoral cele mai importante sunt: macrofagele, celulele NK, celulele Langerhans, limfocitele T și B, celulele T reglatoare.

Macrofagele. Sunt celule rezidente în microambientul tumoral sau pot proveni din sângele periferic. Au multiple roluri în răspunsul inflamator cele mai importante fiind: fagocitoza, secreția de citokine ca și menținerea homeostaziei tisulare. Au capacitatea de a funcționa ca celule prezentatoare de antigen. S-au identificat până în prezent două subseturi de macrofage. Primul subset (M1) include macrofage activate clasic, care secretă citokine proinflamatorii (IL-12, IL-23, TNF α) și au activitate de prezentare a antigenului și un rol antitumoral. Subsetul doi, macrofage asociate tumorii (TAM) respectiv (M2) produc citokine antiinflamatorii (IL-10, TGF β) cu activitate protumorală [22]. De asemenea TAM produc VEGF, EGF (cu acțiune asupra celulelor tumorale, activează NF-kB, cresc secreția de exozomi).

În tumori, macrofagele M2 au capacitatea de a recruta monocite, promovează angiogeneza, limfangiogeneza și metastazarea [18]. Trecerea de la stadiul M1 la stadiul M2 pare să fie datorată hipoxoiei de la nivelul microambientului tumoral [22].

Celulele NK. Aceste celule au capacitatea de a distruge celulele tumorale, în special atunci când acestea sunt în circulația generală. În interiorul tumorilor solide activitatea citotoxică a celulelor NK este mult redusă deși celulele NK se găsesc în interiorul tumorii ca și în microambientul tumoral. Activitatea citotoxică a celulelor NK este dependentă de gradul de activare a acestora prin

terms of tumor growth, can be considered associated with tumor growth. These cells contribute to the remodeling of the tumor microenvironment can differentiate the cancer stromal cells and can promote epithelial mesenchymal transition [22].

Immune competent cells. There are cells involved in innate immunity and adoptive immunity, transient in tumor microenvironment, the most important being: macrophages, NK cells, Langerhans cells, T cells and B cells, T regulatory.

Macrophages. They are cells resident in tumor microenvironment or come from peripheral blood. They have multiple roles in inflammatory response such as: phagocytosis, secretion of cytokines and tissue homeostasis.

They have the ability to function as antigen presenting cells. There were identified till now two subsets of macrophages. First subset (M1) includes classical activated macrophages which secrete proinflammatory cytokines (IL-12, IL-23, TNF) and have antigen-presenting activity and anti-tumor role. Second subset, tumor-associated macrophages (TAM) or (M2) produce anti-inflammatory cytokines (IL-10, TGF β) present protumoral activity [22]. TAM also produce VEGF, EGF (acting on tumor cells, activating NF-kB, to enhance secretion of exosomes).

In tumors, M2 macrophages, recruit monocytes, have the ability to promote angiogenesis, lymphangiogenesis and metastasis [18]. Switching from state M1 to state M2 appears to be due to hypoxia from tumor microenvironment [22].

NK cells. These cells have the ability to kill tumor cells, especially when these are in general circulation. Inside solid tumors NK cell cytotoxic activity is greatly reduced even NK cells may be seen in the tumor microenvironment as in the tumor. Cytotoxic activity of NK cells is dependent on the degree of their activation by various cytokines (eg. IL-2) which is reduced in the tumor microenvironment due to immunosuppressive factors or cells action (tumor-associated fibroblasts) [23,24].

T lymphocytes. Within the tumor, several subpopulations of lymphocytes may be present: CD8⁺ cytotoxic T lymphocytes, memory T lymphocytes (CD8⁺ CD45⁺ RO), Th1 and Th2

diverse citokine (ex. IL-2) care însă în microambientul tumoral este redusă datorită unor factori imunosupresori sau acțiunii celulelor (fibroblaste asociate tumorii) [23,24].

Limfocitele T. În interiorul tumorii s-au pus în evidență mai multe subpopulații de limfocite: limfocitele T citotoxice CD8⁺, limfocitele T de memorie (CD8⁺CD45 RO), limfocitele Th1 și Th2, Treglatoare (CD25⁺FoxP3⁺). Numărul mare de limfocite T reglatoare este asociat cu un prognostic prost [19,25].

Funcțiile limfocitelor T și în special al limfocitelor T citotoxice sunt reduse prin acțiunea microambientului tumoral. Astfel imunogenicitatea scăzută a antigenelor tumorale ca și prezentarea inadecvată a antigenelor tumorale determină ineficiența răspunsului anitumoral. Se cunosc trei mecanisme imunosupresoare: Indolamin-2,3 dioxigenază (IDO), PD-L1/B7-H1, recrutarea de celule T reglatoare. Toate aceste mecanisme în care este implicat microambientul tumoral determină în cazul tumorilor solide supresia activității celulelor T [26,27].

Limfocitele T reglatoare. Reprezintă un subset de limfocite T care exprimă factorul de transcripție FoxP3. Au un rol important în menținerea homeostaziei imune, controlează autoimunitatea, inflamația și imunitatea tumorală. Au capacitatea de a elibera citokine cu rol supresor (TGFβ, IL-10, IL-35), controlează o serie de puncte de control al ciclului celular și de receptori cu rol supresor, supresează prezentarea antigenelor tumorale de către celulele dendritice ca și funcția citotoxică a limfocitelor T.

În microambientul tumoral aceste celule se găsesc în număr mare și au capacitatea de a supresa răspunsul imun antitumoral și de a contribui la progresia tumorii. Pe modele murine TGFβ și IL-10 contribuie în mod esențial în transformarea limfocitelor CD25⁺FoxP3⁺ în celule supresoare ale răspunsului anitumoral [19,28].

Celulele MDSC. Reprezintă o categorie de celule derivate din măduva osoasă (BMDC) cu rol puternic în inhibarea mecanismelor de imunosupraveghere antitumorală dar promovând activ proliferarea tumorală. Celulele MDSC (myeloid derived supresor cells) migrează din măduva osoasă înspre tumoră unde se transformă în celule stromale componente ale microambientului tumoral [29].

lymphocytes, T regulatory (CD25⁺ FoxP3⁺). The large number of regulatory T-lymphocytes is associated with a poor prognosis [19,25]. The functions of T-lymphocytes and cytotoxic T-lymphocytes in particular are reduced by the action of tumoral microenvironment. Decreased tumor antigens immunogenicity as the inappropriate presentation of tumor antigens determine the inefficiency of anitumoral response.

Some immunosuppressive mechanisms were determined. Indoleamine-2,3 dioxygenase (IDO), PD-L1 / B7-H1, recruitment of regulatory T cells [26,27]. All of these mechanisms with tumoral microenvironmental involvement determine, in case of solid tumors, the suppression of T-cells activity [26,27].

Regulatory T lymphocytes. It is a subset of T lymphocytes expressing the transcription factor FoxP3 which plays an important role in the maintenance of immune homeostasis, controlling autoimmunity, inflammation and tumor immunity. They have the ability to release cytokines with suppressor role (TGFβ, IL-10, IL-35), controlling a number of checkpoints of the cell cycle and receptors with suppressor roles, suppress the presentation of tumor antigens by dendritic cells as well as cytotoxic function the T lymphocytes.

In the tumor microenvironment these cells are found in large numbers and have the ability to suppress antitumor immune response and contribute to tumor progression. In murine models TGFβ and IL-10 contributes essentially to the transformation of CD25⁺ FoxP3⁺ lymphocytes in suppressor cells of antitumoral response [19,28].

MDSC cells. MDSC cells are a category of cells derived from bone marrow (BMDC) with a strong role in the inhibition of anti-tumor immune surveillance mechanisms but actively promoting the proliferation of tumor. MDSC cells (myeloid derived suppressor cells) migrate from the bone marrow to tumor where it is converted into stromal cells components of tumor microenvironment [29].

Several tumors secrete chemokines which recruit these cells and reach the tumor. Immunosuppressive activities of these cells is performed at different levels of anti-tumor immune

Mai multe tipuri de tumori secretă chemokine prin care se recrutează aceste celule și ajung la nivelul tumorii. Acțiunea imunosupresoare a acestor celule se realizează la diverse niveluri ale răspunsului imun antitumoral: prezentarea antigenelor, activarea T, inhibarea celulelor T citotoxice, inhibarea NK precum și transformarea macrofagelor în TAM. Realizarea acestor efecte se face prin intermediul citokinelor și chemokinelor din microambientul tumoral. Acțiunea imunosupresoare a MDSC este conjugată cu acțiunea celulelor T reglatoare și reprezintă unul dintre mecanismele principale de „scăpare” a tumorii .

Microambientul tumoral în procesul de metastazare. Metastazarea reprezintă procesul de detașare al celulelor tumorale din tumora primară și localizarea lor la distanță, formând noi mase tumorale. Este un proces multifazic ce cuprinde invazia locală, trecerea în circulație, supraviețuirea celulelor detașate în circulație, trecerea în țesuturi și colonizarea propriu-zisă. Microambientul tumoral participă aproape la toate aceste faze. Astfel prin componentele sale celulare (TAM, CAF) și componentele umorale (VEGF-A, TGFβ, TNFα) favorizează proliferarea tumorală, invazia locală, activarea celulelor endoteliale și adeziunea celulelor mioide derivate din măduva osoasă la endoteliul vascular, traversarea endoteliului și formarea nișei premetastatice (nișa pretumorală sau nișa protumorigenică). Nișa premetastatică reprezintă un situs în care celulele detașate se pot localiza. [18] Acest situs este format prin secreția de factori extracelulari care sunt formați la nivelul microambientului celular. Cel mai important este trombospondina 1 secretată de celulele derivate din măduva osoasă teoria „seed and soil” /celula canceroasă/sol fertil, (Paget 1889 citat de Bahrami A) [45]. Se poate spune că tumora primară pregătește situsul de formare a metastazei după modelul „seed and soil” – nișa premetastatică [29,30].

O a doua ipoteză presupune că celulele stem metastatice care colonizează noi situsuri induc periostina în fibroblastele locale care în final vor reface microambientul tumoral [31]. Compoziția microambientului premetastatic diferă de microambientul tumoral propriu-zis prin faptul că se găsesc mult mai multe celule derivate din măduvă VEGFR1⁺. De asemenea micro-

response: antigen presentation, T activation, inhibition of cytotoxic T-cells, inhibition of NK and macrophage TAM transformation. The achievement of these effects is via cytokines and chemokines within the tumor microenvironment. The immunosuppressive action of MDSC is conjugated with T regulatory cells action this being one of the most important mechanism of "escape" of the tumor.

Microenvironment in tumor metastasis. Metastasis is the detachment of tumor cells from the primary tumor and their location at other sites, forming new tumor masses. It is a multistage process which includes local invasion, circulation passage, survival of detached cell in circulation and transition in tissue and colonization itself. Tumor microenvironment participates in almost all these phases. By its cell components (TAM, CAF) and humoral components (VEGF-A, TGFβ, TNF) it promotes proliferation of the tumor, local invasion, endothelial cell activation and adhesion of myeloid cells derived from the bone marrow to vascular endothelium, crossing the endothelium and the formation of the premetastatic niche (pre-tumoral niche or protumorigenic niche).

Premetastatic niche is a site where detached cells may locate [18] The site is formed by secretion of extracellular factors which are formed in the cellular microenvironment. Thrombospondin 1 is the most important and is secreted by the cells derived from the bone marrow, theory of "seed and soil" Paget(cancer cell / tissue favorable soil) (Paget 1889 cited by Bahrami A [45]. It can be said that the primary tumor is preparing the site for metastasis by "seed-and-soil" –premetastatic niche [29,30].

A second hypothesis, assume that the stem cells colonize new metastatic sites induce periostine in local fibroblasts that ultimately restore tumor microenvironment [31]. Composition of premetastatic microenvironment differs from tumor microenvironment itself by the fact that there are many more VEGFR1 + cells derived from bone marrow. The microenvironment of the premetastatic niche by its various factors maintain the metastatic cells in the G₀ phase of the cell cycle for a limited period [12,18].

ambientul din nișa premetastatică prin intermediul diversilor factori secretați are capacitatea de a menține celulele metastatice în faza G_0 a ciclului celular pe o perioadă limitată [12,18].

Imunitatea înnăscută și adaptativă în microambientul tumoral. În afară de capacitatea de a promova proliferarea tumorală, microambientul tumoral poate avea o acțiune de supresie a răspunsului imun adaptativ sau înnăscut dar și un rol de susținere a răspunsului imun antitumoral.

În cele mai multe cazuri mecanismele imunosupresive predomină [30]

Tumorile exprimă pe suprafața lor antigene care pot fi recunoscute de sistemul imun ce duc la elaborarea unui răspuns imun specific cu rol în a distruge celulele tumorale. Microambientul tumoral dispune de numeroase mecanisme care împiedică desfășurarea răspunsului imun adaptativ la toate nivelurile. Astfel, celulele tumorale pierd sau „ascund” antigenele tumorale care ar putea fi recunoscute de celulele imuno-competente, scad activitatea celulelor prezentatoare de antigen și chiar îndepărtează celulele tumorale de limfocitele T citotoxice. Prin intermediul a numeroși factori solubili (ex. Citokine Th2) celulele stromale devin celule asociate tumorii (macrofage, fibroblaste, adipocite) care secretă factori protumorali dar au și o acțiune imunosupresoare [32].

Mecanismele de inhibare a răspunsului imun antitumoral la nivelul microambientului tumoral constau în prezența unui număr crescut de factori reglatori negativi la acest nivel cum ar fi: PD-L1, IDO, celule TregFoxP3+.

PD-L1 și IDO sunt induse de $IFN\gamma$ iar Treg sunt recrutate de chemokine CC222, ambele fiind produse de limfocitele T efectoare $CD8^+$ activate [33]. Pe de altă parte oxigenul și potasiul au acțiune imunosupresoare asupra limfocitelor T [34].

În cazul imunității înnăscute microambientul tumoral convertește mecanismele antitumorale în mecanisme protumorale ca și în cazul imunității adaptative. Astfel metaloproteinazele 2 (MMP2) secretate de celulele de melanom și de către celulele stromale, scindează receptorul R1 al $IFN\alpha$, stimulează TLR2 de pe celulele dendritice ceea ce face ca celulele dendritice să promoveze

Innate and adoptive immunity in tumoral microenvironment. In addition to the ability to promote the proliferation, tumor micro-environment may suppress innate and adoptive immune response, but also present a supportive role in antitumor immune responses. In most cases immunosuppressive mechanisms predominate [30].

Tumors express antigens on their surface which may be recognized by the immune system leading to the development of a specific immune response involved in destroying tumor cells. Tumor microenvironment has many mechanisms that oppose adoptive immune response at all levels. So, tumor cells loose or “hide” tumor antigens that may be recognized by immune cells, decrease the activity of antigen presenting cells, and even remove the tumoral cells from T cytotoxic lymphocytes.

Through various soluble factors (eg. Th2 Cytokines) cells become tumor-associated stromal cells (macrophages, fibroblasts, adipocytes) secrete protumoral factors having also immunosuppressive action [32].

The mechanisms of inhibition of anti-tumor immune response in the tumor micro-environment are due to the presence of an increased number of negative regulatory factors at this level such as PD-L1, IDO, TregFoxP3+ cells.

PD-L1 and IDO are induced by $IFN\alpha$ and Treg are recruited by chemokines and CC222, both produced by activated $CD8^+$ effector T lymphocytes [33]. On the other hand the oxygen and potassium have immunosuppressive action on T lymphocytes [34].

In innate immunity the tumor micro-environment converts antitumoral mechanisms in protumoral mechanisms as in adoptive immunity. The secretion of metalloproteinase 2 (MMP-2) secreted by melanoma cells and stromal cells cleaves R1 $IFN\alpha$ receptor, stimulate TLR2 on dendritic cells making them to promote the differentiation of Th2 lymphocytes that secrete proinflammatory cytokines [35].

The response to the aggression of pathogens in the case of innate immunity is the direct destruction of the pathogen, inflammation, cell recruitment and stimulation of adaptive immunity.

diferențierea limfocitelor Th2 care secretă citokine proinflamatorii [35].

Răspunsul la agresiunea agenților patogeni în cazul imunității înnăscute constă în distrugerea directă a agentului patogen, inflamație, recrutare de celule și stimularea imunității adaptative.

Elementele celulare ale imunității înnăscute (celule NK, macrofage, celule prezentatoare de antigen) recunosc un grup de molecule de pe suprafața agentului patogen denumit PAMP (pathogen associated molecular pattern, tipar molecular asociat agentului patogen), urmat de declanșarea răspunsului imunității înnăscute. Recunoașterea PAMP se face prin receptorii specializați (PRR, pathogen recognition receptor) cel mai important fiind TLR (Tall Like Receptor). Receptorii TLR sunt o familie de proteine transmembranale (TLR1-TLR10) care după cuplarea cu PAMP se asociază cu o moleculă adaptor citoplasmatică MyD88 și activează în final NF- κ B [36].

Activarea TLR are un rol antitumoral important. Se activează producția de IFN (TLR3) se induc semnale proapoptotice (TLR4) se stimulează celulele dendritice (TLR7) se stimulează răspunsul imun adaptativ (TLR9). TLR se găsesc pe numeroase tipuri de celule inclusiv pe celulele tumorale [37].

Micromediul tumoral convertește și în cazul imunității adaptative mecanismele antitumorale ale imunității înnăscute în mecanisme protumorale. Astfel, liganzii TLR cresc producția de citokine imunosupresoare (IL-10, TGF β) blochează apoptoza celulelor tumorale, activează Treg, inhibă recunoașterea celulelor tumorale de către sistemul imun adaptativ. Cu toate acestea, agoniști de TLR7 au o acțiune antitumorală puternică și sunt folosiți în terapeutică (Imiquimod) [37].

În afară de cuplarea receptorilor de pe suprafața agenților patogeni (PAMP) receptorii imunității înnăscute (TLR, NOD-like receptors) recunosc și o serie de molecule care apar în cursul distrucțiilor celulare sau în cursul proliferării tumorale (proteine de matrix extracelular, componente ale antigenelor asociate tumorii - TAA) proteine de șoc termic. Recunoașterea acestor molecule de către celule purtătoare de TLR sau NLR duce la stimularea imunității înnăscute dar care prin intermediul microambientului tumoral favorizează proliferarea tumorală [38].

Elements of innate immunity (NK cells, macrophages, antigen presenting cells) recognize a group of molecules on the surface of the pathogen called "PAMP" (Pathogen Associated Molecular Pattern) followed by the onset of innate immune response. Recognition of PAMP is done by specialized receptors (PRR, Pathogen Recognition Receptor) the most important being TLR (Tall-Like Receptor). TLR receptors are a family of transmembrane proteins (TLR1-TLR10), which after coupling with PAMP is associated with a cytoplasmic adapter molecule MyD88 and finally activate NF- κ B [36].

TLR activation plays an important antitumoral role. It enables the production of IFN (TLR3) induction of pro-apoptotic signals (TLR4) stimulate dendritic cells (TLR7) stimulate the adoptive immune response (TLR9). TLR are found on many cell types including tumor cells [37]. The tumor microenvironment converts also adaptive antitumoral immunity mechanisms in protumoral mechanisms. Thus, TLR ligands increase the production of immunosuppressive cytokines (IL-10, TGF β) block tumor cell apoptosis, activate Treg, inhibit tumor cell recognition by the adoptive immune system. However, the agonists of TLR7 have a strong anti-tumor activity and are used in therapy (Imiquimod) [37].

In addition to binding to receptors on the surface of pathogens (PAMP) receptors in innate immunity (TLR, NOD-like receptors) recognize and series of molecules that appear in the cell destruction or in the tumor growth (proteins from the extracellular matrix, components of tumor-associated antigens (TAA) heat shock proteins. Recognition of these molecules by cells carrying TLR or NLR results in the stimulation or innate immunity, but which promotes tumoral proliferation by tumor microenvironment [38].

Tumor infiltrating lymphocytes (TIL). Cells that infiltrate the tumor: macrophages, neutrophils, dendritic cells, NK cells, naive and memory T lymphocytes, B lymphocytes, cytotoxic T lymphocytes, that leave the blood stream and localize within the tumor [31].

Viewed from the point of view of the microenvironment, which contains fibroblasts, endothelial cells, fundamental substance, TIL can be considered a component of the tumor microenvironment. Clinical observations have

Infiltratul tumoral (TIL-Tumor infiltrating lymphocytes). Infiltratul tumoral este format din celule: macrofage, neutrofile, celule dendritice, celule NK, limfocite T naive și de memorie, limfocite B, limfocite T citotoxice care părăsesc curentul sanguin și se localizează în interiorul tumorii [31].

Privit din punctul de vedere al microambientului, care conține și fibroblaste, celule endoteliale, substanța fundamentală, TIL poate fi considerat o componentă a microambientului tumoral. Observațiile clinice au arătat că prezența unui infiltrat abundent este asociată cu un prognostic bun, după imunoterapie sau excizia chirurgicală [39].

Astfel, celulele componente ale TIL au capacitatea de a ajunge în intimitatea celulelor tumorale [40]. Nu este însă exclusă acțiunea ulterioară a microambientului tumoral de a proteja proliferarea tumorală, cum nu este exclusă nici posibilitatea ca răspunsul imun adaptativ să fie inițiat în microambientul tumoral independent de organele limfatice secundare [41].

Perspective terapeutice

Înțelegerea faptului că microambientul tumoral reprezintă o parte importantă a fiziologiei, structurii și proliferării tumorale a făcut ca să apară, cel puțin teoretic, noi abordări, în terapia antitumorală.

În afară de proliferarea tumorală TME este implicat major în supresia mecanismelor biologice de apărare ale gazdei precum și în rezistența la mijloacele terapeutice antitumorale. Practic TME formează o barieră biologică în jurul tumorii reducând numărul de celule imune antitumorale și limitând acțiunea medicației antitumorale [32, 42, 43].

În interiorul acestei bariere biologice, respectiv TME formată în jurul tumorii, numărul de celule T citotoxice sau de celule NK este redus, stimularea antigenică este redusă, atât prin slaba prezentare a antigenelor tumorale cât și prin acțiunea directă asupra limfocitelor T prin intermediul citokinelor ducând în final la epuizarea acestora [32, 43, 44].

Metodele terapeutice antitumorale care vizează TME au ca scop în primul rând transformarea microambientului tumoral în microambient normal. În acest mod se speră la un

shown that the presence of an abundant infiltration is associated with a good prognosis, after immunotherapy or surgical excision [39].

Thus, cells composing TIL have the ability to reach near tumor cells [40]. However, it is not ruled out further action of microenvironment to protect tumor proliferation, as it is not excluded the initiation of adaptive immune response in the microenvironment, independently from the secondary lymphoid organs [41].

Therapeutic perspectives

Understanding the fact that tumor microenvironment is an important part of physiology, structure, and tumor growth, made to appear, at least in theory, new approaches in tumor therapy.

Apart from tumor proliferation, TME is involved in suppression of the host defense biological mechanisms as well as resistance to antitumor therapeutic means. Basically TME forms a biological barrier surrounding the tumor by reducing the number of anti-tumor immune cells and limiting the action of anti-tumor medication [32, 42, 43].

Inside the biological barriers or TME formed around the tumor, the number of cytotoxic T cells or NK cells is low, antigen stimulation is reduced both by the poor presentation of tumor antigens as well as through direct effects of T cells via cytokines, finally resulting in their exhaustion [32, 43, 44].

TME antitumor therapeutic methods aimed primarily the conversion of the tumor microenvironment in normal microenvironment. In this way it is hoped to a normal status of the malignant cells, and of the extracellular matrix which permit antitumor mechanisms of the host to intervene effectively destroying or restricting the proliferation of tumor cells and metastasis [43].

The main research targeted immunotherapy. Thus it tried to block the immunosuppressive checkpoints respectively through the chimeric antigen receptors, or T-cells that express tumor-specific antigens. Monoclonal antibodies were directed against these checkpoints or changing the profile of cytokines (chemokines) in TME [45]. Another theoretical way targeted non-tumor cell component of TME. Thus it was attempted TAF destruction by blocking tumor associated FAP

status normal al celulelor maligne, a matrixului extracelular care să permită mecanismelor antitumorale ale gazdei să intervină eficient , distrugând celulele tumorale sau limitând proliferarea sau metastazarea [43].

Principalele cercetări au vizat imunoterapia. Astfel s-a încercat blocarea punctelor de control a mecanismelor imunosupresoare respectiv prin receptori himerici pentru antigen, sau celule T care exprimă antigene tumorale specifice. Anticorpii monoclonali dirijați împotriva acestor puncte de control sau schimbarea profilului de citokine (chemokine) în TME [45].

O altă direcție teoretică a vizat componenta celulară netumorală a TME. Astfel s-a încercat distrugerea fibroblastelor asociate tumorii prin blocarea FAP (serinprotează care promovează creșterea tumorală și metastazarea).

De asemenea s-a încercat inducerea apoptozei în TAM (macrofage asociate tumorii). S-a încercat distrugerea TAM prin intermediul acidului zoledronic sau a unei cistein proteaze-legumaină- care generează un răspuns împotriva TAM prin intermediul limfocitelor T CD8⁺ [44, 45].

Alte celule din microambientul tumoral cum ar fi pericitele sau adipocitele sunt deopotrivă ținte terapeutice.

Studiile efectuate până în prezent sugerează faptul că terapia antitumorală nu trebuie să se focalizeze numai pe distrucția directă a celulelor tumorale dar și pe distrugerea factorilor care întrețin proliferarea și metastazarea tumorii. Rezultatele obținute până în prezent, experimentale și clinice, în terapia dirijată împotriva elementelor TME evidențiază faptul că această terapie este absolut necesară pentru distrugerea tumorii sau transformarea acesteia într-o „boală cronică”.

(serine protease that promote tumor growth and metastasis).

The induction of apoptosis has also been attempted in the TAM (tumor associated macrophages). TAM was attempted to be destructed by zoledronic acid or a cysteine protease- legumain- that generate a response against TAM via CD8⁺ T cells [44, 45].

Other cells in the tumor microenvironment such as pericytes or adipocytes, both are therapeutic targets.

Studies, so far, suggest that antitumor therapy should not focus only on the direct destruction of tumor cells and the destruction of the factors that maintain the proliferation and metastasis of tumor. The results obtained so far, experimental and clinical, in therapy directed against TME elements shows that this therapy is absolutely necessary for the destruction of the tumor or its transformation into a „chronic disease”.

Bibliografie/Bibliography

1. Barthes J., Ozcelik H., Hindie M., et al. Cell microenvironment engineering and monitoring for tissue engineering and regenerative medicine: the recent advances. *Biomed. Res. International*, vol. 2014, ID 921905 .
2. Liroy P., Weissel C., Microenvironment in exposure science: research design. Basic principles and application. Edt. Elsevier INC. 2014, 5, 57-69.
3. Bersini S., Yazdi I., Talo G., et al. Cell-microenvironment interactions and architectures in microvascular systems. *Biotechnology Advances*, vol. 34, 6, 2016, 1113-1130.
4. Theocharis A.D., Skandalis S.S., Gialelic C., Karamanos N.K. Extracellular matrix structure, *Advanced Drug Delivery Rev.* , 2016, 97, 4-27.

5. Yue B. Biology of the Extracellular Matrix: an Overview, *J. Glaucoma* 2014, Oct.-nov., S20-S23.
6. Wolfenson N., Levelin I., Geiger B. Dynamic regulation of the structure and functions of integrin adhesion. *Rev. Cell*, 2013, 11, 447-458.
7. Zhang L., Ten Hagen K. The cellular microenvironment and cell adhesion: a role for O-glycosylation. *Biochem. Soc. Trans* 2011, Jan 39(1), 378-382
8. Chang C., Qiu J., O'Sullivan D., et al. Metabolic competition in the tumor microenvironment is a driver of cancer progression. *Cell*, 2015, 162, 1229-1241
9. Gatazzo F., Urciuolo A., Bonaldo P., Extracellular matrix. A dynamic microenvironment for stem cell niche., *Biochem. Biophys. Acta* 2014, 1840, 2506-2519
10. Boehne K., Falkowska-Hansen B., Stark H-J. Stem cells of the human epidermis and their niche: composition and function in epidermal regeneration and carcinogenesis. *Carcinogenesis*, vol. 33, 7, 2012, 1247-1258
11. Hanahan D., Weinberg R.A., Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*, 2011, 144, 646-674
12. Chen F., Zhuang X., Lin L., Yu P., et al., New horizons in tumor microenvironment biology: challenges and opportunities, *BMC Medicine* 2015, 13, 45.
13. Hanahan D., Coussens L.M., Accessories to the crime: functions of the cell recruits to the tumor microenvironment, *Cancer Cells*, 2012, 21, 309-322.
14. Wang M., Zhao J., Zhang L., et al., Role of tumor microenvironment in tumorigenesis *Journal of Cancer* 2017, 8(5), 761-773.
15. He X., Lee Byoungkoo, Jiang Li, Cell/EMC interactions in tumor invasion. Systems biology of tumor microenvironment, advance in experimental medicine and biology 936, K.A. Regniak (ed), Springer IP Swizerland, 2016, 4, 73-77.
16. Gretschi V., Stylianou A., Papageorgis P et al. Remodeling components of the tumor microenvironment to enhance cancer therapy. *Front Oncol.* 2015, 5, 214-235.
17. Hamson E.J., Keane F.M., Tholen S., et al. Understanding fibroblast activation protein (FAP): substrate activities, expression and targeting for cancer therapy. *Proteomics Clin. Appl.* 2014, 8(5-6), 454-463.
18. Quail D.F., Joyce J.A., Microenvironmental regulation of tumor progression and metastasis, *Nat. Med.* 2013, 19(11), 1423-1437.
19. Suhovskih A.V., Kasinuba V.I., Klein G. Prostate cancer specifically reorganize epithelial cells fibroblast communication through proteoglycan and junction pathways. *Cell Adh.Migr.* 2017, 11(1), 39-53.
20. Chouaih S., Kieda C., Benlalam H. Et al/. Endothelial cells as key determinants of the tumor microenvironment: interaction with tumor cells, extracellular matrix and immune killer cells. *Crit. Rev. Immunol.* 2010, 30(6) 529-545.
21. Bussard K.M., Matkus L., Stumpt K et al. Tumor associated stromal cells as key contributors to the tumor microenvironment *Breast Cancer Research* 2016, 18, 84-99.
22. Gehmert S., Gehmert SW., Prantl L, et al. Breast cancer cells attract the migration of adipose tissue-derived stem cells via PDGF-BB/ PDGFR- β signaling pathway. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2010, 398/601-603.
23. Hao N-B., Lu M-H., Fan Y-H., Macrophage in tumor microenvironment and the progression of tumor. *Clinical and Developmental Immunology* 2012, 10, 1-11.
24. Vitale M., Cantoni C., Pietra G., et al. Effect of tumor cells And tumor microenvironment on NK-cell function. *Eur. J. Immunol.* 2014, 44(16), 1582-1592.
25. Larsen S.K., Gao Y., Basse P. NK cells in the tumor microenvironment *Crit. Rev. Oncog.* 2014, 19, 91-105.
26. Gholami M.D., Kardar G.A., Saeedi Y. Exhaustion of T lymphocytes in the tumor microenvironment Significance and effective mechanism. *Cell Immunol.*, 2017, 322, 1-4.
27. Spranger S., Spaapen R.M., Zha Y., et al. Up-regulation of PD-L1 IDO and Treg in the melanoma tumor microenvironment is driven by CD8+ T cells. *Science Translational Medicine* 2013, 5, (200), 200-216.
28. Chaudhry B. Elkord E. Regulatory T cells in the tumor microenvironment and cancer progression: role in the therapeutic targeting. *Vaccines (Basel)* 2016, 4(3), 28-40.
29. Catena R., Bhattachaya N.B., Rayes T. et al. Bone/marrow derived G(H) cells congregate a metastases resistant via induced secretion of trombospodin a. *Cancer Discov.* 2013, 3578-3589.
30. Paget S., The distribution of secondary growth in cancer of the breast 1898 *Cancer metastasis Rev.* 1989, 98-101
31. Malanchi I., SantaMaria- Martinez A., Susanto E. et al. Interaction between cancer stem cells and their niche govern metastatic colonization. *Nature*, 2012, 481, 85-89.
32. Tang H., Qiao J., Fu YX., Immunotherapy and tumor microenvironment. *Cancer Cell* 2016, 370 (1) 85-90.
33. Gayewski T. Innate immune sensing in antitumor immunity and cancer immunotherapy. *Blood* 2016, 128: Sci-27.
34. Gurusamy D., Clever D., Eil R. Et al. Novel elements of immune suppression within the tumor microenvironment. *Cancer Immunology Research* 2017, 5 (6), 426-440.

35. Gonzales-Gugel E., Sasena M., Bhardwag N. Modulate of innate immunity in tumor microenvironment . *Cancer. Immunol. Immunotherapy* 2010, 65 (10), 1261-1268.
36. Tacheuchi O., Akira S. Pattern Recognition Receptors and Inflammation. *Cell* 2010, 140(6), 805-820.
37. Wolska A., Lech-Maranda E., Robak T. Toll-Like Receptors and their Role in Cancerogenesis and Anti Tumor Treatment. *Cellular and Molecular Biology Letters* 2009, 14, 248-272.
38. Liu Y., Zeng G., Cancer and innate immune system interaction: translational potentials for cancer immunotherapy. *J. Immunother.* 2012, 35 (4), 299-308.
39. Bremnes R.M., Busund L-T., Kilvaer T.L. et al. The role of tumor infiltrating lymphocytes in development, progression and prognosis of non-small cell lung cancer. *Journal of Thoracic Oncology*, 2016, 11(6), 789-800.
40. Rahir G., Moser M., Tumor microenvironment and lymphocyte infiltration. *Cancer Immunol. Immunotherapy* 2012, 61(6), 751-759.
41. Tessar B.M., Chalasani G., Smith-Diggs et al. Direct antigen presentation by xenograft induces immunity independently of secondary lymphoid structures. *J. Clin. Oncol.* 2018, 26, 4410-4417.
42. Wang J., Lei K-F, Han F. Tumor microenvironment: recent advances in various cancer treatments. *Eur.Rev. for Medical and Pharmacol. Sciences*, 2018, 22, 3855-3864.
43. Sun Yu. Tumor microenvironment and cancer therapy resistance. *Cancer Letters*, 2016, vol. 380, 205-215.
44. Pitt J.M., Marabelle A., Eggermont A., et al. Targeting the tumor microenvironment: removing obstruction to anticancer immune responses and immunotherapy. *Ann.of Oncol.* 27, 2016, 1482-1492.
45. Bahrami A., Hassanian S.M., Khazaei M, et al. The therapeutic potential of targeting tumor microenvironment in breast cancer: rational strategies and recent progress. *Journal of Cellular Biochemistry*, 2018, 119, 111-122.

Conflict de interese
NEDECLARATE

Conflict of interest
NONE DECLARED

Adresa de corespondență: Oana Andreia Coman
Universitatea de Medicină și Farmacie „Carol Davila“ București
E-mail: andreia.coman@gmail.com

Correspondance address: Oana Andreia Coman
University of Medicine and Pharmacy „Carol Davila“ Bucharest, Romania
E-mail: andreia.coman@gmail.com