

І.П. Несіна  
Н.П. Юрченко  
О.О. Горлакова  
Л.Г. Бучинська

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

**Ключові слова:** рак тіла матки,  
ендометріодна карцинома,  
серозна карцинома, CD44,  
CD24, віментин.

## ЕКСПРЕСІЯ МАРКЕРІВ МІЖКЛІТИННОЇ АДГЕЗІЇ CD44 ТА CD24 У КЛІТИНАХ КАРЦИНОМ ЕНДОМЕТРІЯ З ВИСОКИМ ПОТЕНЦІАЛОМ ЗЛОЯКІСНОСТІ

**Мета:** визначення експресії білків CD44 та CD24 у зразках ендометріодної карциноми (ЕК) тіла матки залежно від показників прогресії пухлинного процесу. **Об'єкт і методи:** зразки операційного матеріалу 66 хворих з ЕК (середній вік  $59,7 \pm 5,8$  року) і 13 хворих із серозною карциномою (СК; середній вік  $63,1 \pm 4,2$  року). Використано такі методи: морфологічний, імуногістохімічний, проточної цитометрії, статистичний. **Результати:** дослідження показали, що кількість пухлин з позитивною експресією CD44 становила 58 (87,9%), CD24 — 63 (95,5%). Експресія білка CD44 була достовірно вищою у G3-пухлинах порівняно з G2-пухлинами ( $25,4 \pm 2,3$  проти  $14,1 \pm 2,0\%$ ,  $p < 0,05$ ); експресія CD24 у G3- і G2-пухлинах була майже однаково високою (відповідно  $48,8 \pm 3,7$  і  $47,9 \pm 3,0\%$ ). В ЕК, що інвазували  $< 1/2$  міометрія, кількість клітин з експресією CD44 та CD24 становила відповідно  $18,5 \pm 2,4$  та  $52,4 \pm 3,0\%$ , а при глибокій інвазії у міометрії — відповідно  $21,2 \pm 2,1$  та  $46,6 \pm 3,3\%$ . Найбільша кількість пухлин, що глибоко інвазували міометрій і з анеуплоїдією, мала фенотип CD44<sup>low</sup>/CD24<sup>high</sup>; з високим індексом проліферації асоціювалися фенотипи CD44<sup>high</sup>/CD24<sup>high</sup> або CD44<sup>low</sup>/CD24<sup>high</sup>, тобто найбільш агресивні ознаки ЕК визначали переважно при високій експресії CD24. Частота СК з фенотипом CD44<sup>low</sup>/CD24<sup>low</sup> становила 53,8%, CD44<sup>high</sup>/CD24<sup>high</sup> — 38,5%, CD44<sup>high</sup>/CD24<sup>low</sup> — 7,7%. Зразків СК з негативною експресією CD44 і позитивною CD24 не виявлено. **Висновки:** високі значення експресії CD24 у ЕК асоціюються з такими показниками злоякісності раку, як глибока інвазія пухлини у міометрії, анеуплоїдія та висока проліферативна активність пухлин; у СК — з анеуплоїдією. Отримані дані дозволяють припустити, що адгезивні молекули CD44 та CD24 можуть бути використані у якості маркерів прогресії раку ендометрія.

Відомо, що молекули міжклітинної адгезії CD44 та CD24 не тільки забезпечують формування міжклітинних контактів, а задіяні в багатьох процесах життєдіяльності, у тому числі вони є маркерами пухлинних стовбурових клітин. Так, встановлено, що CD44 через адаптерні білки може зв'язуватися з цитоскелетом і низкою кіназ, є корецептором ряду поверхневих рецепторів (EGFR, Her2/neu, Met6, TGFβRI, TGFβRII, VEGFR-2) та складовою різноманітних сигнальних шляхів, які стимулюють ріст і рухливість пухлинних клітин. Зокрема, при зв'язуванні з TGFβRI та TGFβRII, анкірином і Smad-залежною кіназою CD44 активує епітеліально-мезенхімальний перехід [1–3]. Тобто CD44 може інтегрувати різноманітні сигнали від молекул позаклітинного матриксу, рецепторів і внутрішньоклітинних стимулів і брати участь у регуляції проліферації, міграції і диференціюванні клітин [4]. Роль CD44 була досліджена при таких онкологічних захворюваннях, як лейкози, рак товстої киш-

ки, молочної залози, яєчника тощо [5]. Вважається, що клітини з високою експресією CD44 мають онкогенні властивості, часто їх присутність розглядають як маркер проліферації пухлинних стовбурових клітин [6].

Білок CD24 є сильно глікозилізованим сіалоглікопротеїном, що «заякорений» на поверхні клітини глікозид-фосфатидилінозитолом. Функціонування CD24 змінюється залежно від ліганда, який здійснює його гліколіз, при цьому він забезпечує міжклітинну або клітинно-матричну взаємодію. CD24 відіграє важливу роль в адаптивній імунній відповіді, запаленні, при аутоімунних захворюваннях, контролює проліферацію, адгезію, інвазію, міграцію та метастазування злоякісно трансформованих клітин [3]. CD24 вважають онкобілком, оскільки з високою частотою він експресується у пухлинних клітинах яєчника, молочної, передміхурової та підшлункової залоз, шлунка тощо. Поряд з цим існують дані, що клітини раку яєчника і молочної залози

зи з фенотипом CD44<sup>+</sup>CD24<sup>-low</sup> характеризуються самовідновленням і значним туморогенним потенціалом [3, 7, 8]. Таким чином, на сьогодні вивчено різноманітність функціонування глікопротеїнів CD44 та CD24 у клітинних процесах як в нормі, так і при патологічних станах, зокрема при канцерогенезі, проте до цього часу немає однозначних даних щодо їх ролі в прогресуванні раку ендометрія.

Як свідчать дані літератури останніх років, варіабельність клінічного перебігу цього захворювання пов'язана не тільки з морфологічними особливостями пухлини, а великою мірою — з молекулярними характеристиками новоутворення. Зокрема, з активністю молекул, що забезпечують щільність міжклітинних контактів та контролюють інвазивність і метастазування [9, 10]. На сьогодні встановлено, що найбільш несприятливий прогноз перебігу PE характерний для новоутворень серозного типу або ендометріодних карцином (ЕК), так званого серозоподібного підтипу, до якого увійшли приблизно 25% ендометріодних G3-пухлин з високою частотою змін у копійності генів *c-MYC*, *ERBB2 (HER2/neu)*, *CCNE1*, *FGFR3*, *SOX17*, мутаціями у *TP53* [11]. Слід відмітити, що до цього часу молекули, які забезпечують щільність міжклітинних контактів пухлинних клітин, зокрема комбінована експресія CD44 та CD24, не розглядалися у якості можливих показників агресивності пухлинного процесу в ендометрії.

Враховуючи зазначене, мету дослідження становило визначення експресії білків CD44 та CD24 у зразках ЕК тіла матки залежно від показників прогресії пухлинного процесу.

## ОБ'ЄКТ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Об'єктом дослідження були зразки операційного матеріалу 66 хворих з ЕК тіла матки (вік пацієнток від 29 до 78 років, середній — 59,7 ± 5,8 року) і 13 хворих з серозною карциномою (СК) (вік пацієнток від 45 до 70 років, середній — 63,1 ± 4,2 року). Розподіл пацієнток з ЕК за стадіями захворювання (TNM, FIGO): 46 (66,2%) — I, 13 (22,5%) — II, 7 (11,3%) — III стадія пухлинного процесу. Пацієнтки не отримували передопераційної терапії. Усі хворі перебували на лікуванні у відділенні онкогінекології Національного інституту раку МОЗ України в період 2014 по 2018 р. і дали інформовану згоду на використання їх біологічного матеріалу для проведення наукових досліджень.

Морфологічний діагноз було верифіковано на гістологічних препаратах, забарвлених гематоксиліном та еозином. Ступінь диференціювання пухлин визначали згідно з критеріями BOO3 (2014 р.) при морфологічному аналізі гістологічних препаратів [12].

Виявлення білків імуногістохімічним (ІГХ) методом здійснювали на депарафінованих зрізах пухлин ендометрія з використанням наступних MkAT: до CD44, клон 196-3C11 (Thermo Fisher Scientific,

США); CD24, клон Ab-1 та віментину, клон V9 (Diagnostic BioSystems, Нідерланди). Для візуалізації зазначених білків використовували систему детекції PolyVue (DakoCytomation, Данія).

Результати ІГХ реакції оцінювали напівкількісним методом, шляхом підрахунку кількості забарвлених клітин у пухлинній тканині (індекс мітки — ІМ, %). Критерії оцінки CD44, CD24 і віментину були такими: відсутність експресії маркера у пухлині вважали негативною (–); показники менші або такі, що дорівнюють медіані ( $\leq$  Me), — низькими (low); більше медіани ( $>$  Me) — високими (high).

Для визначення кількості клітин у S + G2/M фазах мітотичного циклу — індексу проліферації (ІП, %) та плідності пухлинних клітин — індексу ДНК (іДНК) використовували метод лазерної ДНК-проточної цитометрії [13]. Дослідження проводили на проточному цитофлуориметрі EPICS-XL (Beckman Coulter, США).

Статистичну обробку даних проводили за допомогою пакета програм Statistica 8.0 (StatSoft, Inc.) з використанням непараметричних критеріїв (Mann — Whitney U Test, критерій  $\chi^2$ , точний критерій Фішера). Достовірними вважали розбіжності при  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

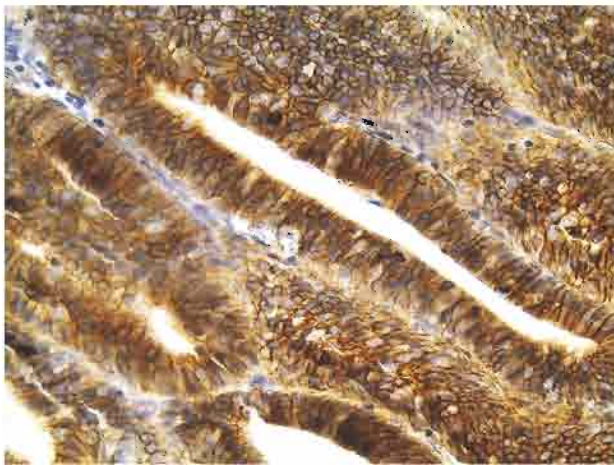
При морфологічному аналізі зразків операційного матеріалу встановлено, що досліджені пухлини були ЕК різного ступеня диференціювання: 4 випадки (6,1%) — високого (G1), 27 (40,9%) — помірного (G2) і 35 (53,0%) — низького (G3). Визначення глибини інвазії пухлини у міометрій показало, що 28 (42,4%) ЕК інвазували міометрій на глибину  $<$  ½ і 38 (57,6%) — більше ніж на ½ міометрія.

За допомогою методу проточної цитофлуориметрії проаналізували 46 випадків ЕК. Індивідуальні коливання ІП визначали у межах від 8,0 до 56,4%, що у середньому становило  $27,6 \pm 4,3\%$  (значення Me = 25,4%). З'ясовано, що більшість ЕК (38 випадків, 82,6%) були диплоїдними, а 8 (17,4%) — анеуплоїдними новоутвореннями (при індивідуальних коливаннях іДНК в діапазоні 0,63–2,66).

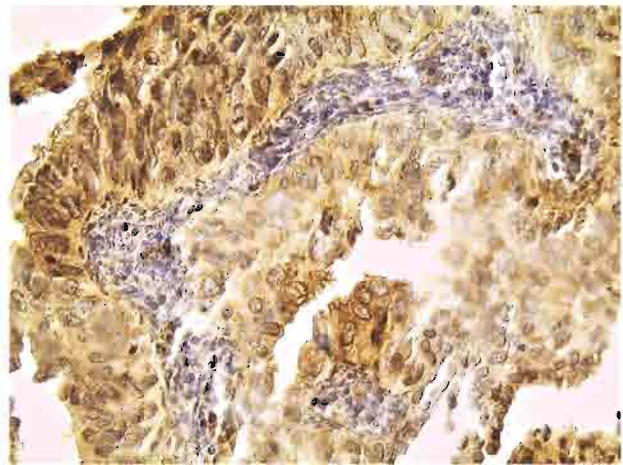
Оцінка експресії CD44 і CD24 показала, що локалізація глікопротеїну CD44 була переважно мембранною, а CD24 — мембранно-цитоплазматичною (рис. 1).

Кількість пухлин із позитивною експресією CD44 становила 58 (87,9%), CD24 — 63 (95,5%). Індивідуальні коливання CD44 були у межах 2,7–91,0% (Me = 15,0%), що у середньому становило  $22,4 \pm 2,6\%$ ; CD24 — у межах 2,6–94,5% (Me = 47,1%), середнє значення  $47,3 \pm 2,9\%$ .

Кількість пухлинних клітин ЕК з експресією досліджених білків змінювалася залежно від показників прогресії пухлинного процесу (ступінь диференціювання і глибина інвазії пухлини у міометрії) не однаковою мірою. Так, експресія CD44 достовірно ( $p < 0,05$ ) підвищувалася у G3-пухлинах



а

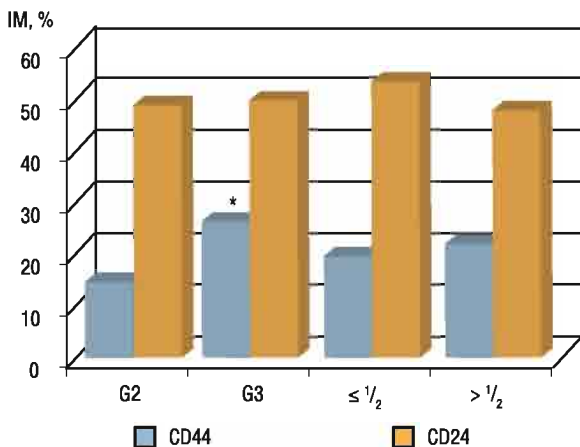


б

**Рис. 1.** Експресія CD44 (а) та CD24 (б) у клітинах ЕК: а — помірнодиференційована ЕК (зб. × 200); б — низькодиференційована ЕК (зб. × 400). ІГХ метод, забарвлення гематоксиліном Майєра

(25,4 ± 2,3%) у порівнянні з показником у G2-пухлинах (14,1 ± 2,0%), а експресія CD24 у G3- і G2-пухлинах була майже однаково високою, сягнувши відповідно 48,8 ± 3,7 і 47,9 ± 3,0%. У пухлинах, що інвазували < ½ міометрія, кількість клітин з експресією CD44 та CD24 становила відповідно 18,5 ± 2,4 та 52,4 ± 3,0%, а при глибокій інвазії — відповідно 21,2 ± 2,1 та 46,6 ± 3,6%. Тобто експресія CD44 в ЕК з глибокою інвазією у міометрій мала тенденцію до підвищення, а експресія CD24 — до зниження порівняно з пухлинами, що неглибоко інвазували міометрій (рис. 2).

Порівняльний аналіз кількості ЕК з певною експресією CD44 та CD24 з клініко-патологічними показниками хворих і плоідністю пухлин дозволив з'ясувати, що у новоутвореннях помірного і низького ступеня диференціювання кількість пухлин з високою і низькою експресією CD44 та CD24 була майже однаковою. Водночас більша кількість ЕК, що глибоко інвазували міометрій, та з наявністю анеуплоїдії мали негативну/низьку експресію CD44 (CD44<sup>-low</sup>) та високу експре-



**Рис. 2.** Експресія CD44 і CD24 в пухлинах із різним ступенем диференціювання і глибиною інвазії у міометрій. \*р < 0,05 порівняно з G2-пухлинами

сію CD24 (CD24<sup>high</sup>) (табл. 1). Залежність експресії досліджених білків від ІП практично була відсутня: середні значення ІП становили: підгрупи CD44<sup>high</sup> — 24,4 ± 2,3, CD44<sup>-low</sup> — 29,9 ± 2,6%; підгрупи CD24<sup>high</sup> — 28,0 ± 2,7, CD24<sup>-low</sup> — 27,3 ± 2,3%.

**Таблиця 1**  
Зіставлення кількості ЕК з певною експресією CD44 і CD24 з клініко-морфологічними показниками хворих та іДНК у пухлинах

Досліджені параметри	Кількість випадків ЕК з певною експресією маркерів, абс. знач. (%)			
	CD44 <sup>high</sup>	CD44 <sup>-low</sup>	CD24 <sup>high</sup>	CD24 <sup>-low</sup>
Ступінь диференціювання пухлини				
G1 (n=4)	4 (100)	0	2 (50,0)	2 (50,0)
G2 (n=27)	12 (44,4)	15 (65,6)	11 (40,7)	16 (59,3)
G3 (n=35)	18 (51,4)	17 (48,6)	15 (42,9)	20 (57,1)
Глибина інвазії пухлини у міометрій				
< ½ (n=28)	18 (64,3)	10 (35,7)	8 (28,6)	20 (71,4)
> ½ (n=38)	16 (42,1)	<b>22 (57,8)*</b>	<b>20 (52,6)**</b>	18 (47,4)
іДНК				
Диплоїдні (n=38)	18 (47,4)	20 (52,6)	16 (42,1)	22 (57,9)
Анеуплоїдні (n=8)	2 (25,0)	<b>6 (75,0)*</b>	<b>6 (75,0)**</b>	2 (25,0)

\*р < 0,05 порівняно з відносною кількістю пухлин з експресією CD44<sup>high</sup>; \*\*р < 0,05 порівняно з відносною кількістю пухлин з експресією CD24<sup>-low</sup>.

Наші попередні дослідження показали, що прогресування ЕК може відбуватися при різних молекулярних змінах, зокрема при зниженні експресії Е-кадгерину та β-катеніну і високій експресії маркера мезенхімальних тканин віментину (або при його відсутності та за участю інших механізмів регуляції проліферативного і метастатичного потенціалу) [14]. При цьому встановлено, що останнє корелює з більш агресивними формами ЕК. Зважаючи на ці дані, доцільно було проаналізувати експресію адгезивних молекул CD44 і CD24 у пухлинах ендометрія з різною частотою експресії віментину (рис. 3).

З'ясувалося, що у віментиннегативних ЕК кількість випадків з високою експресією білка CD44 була дещо меншою (38,0 ± 3,8%), а CD24 — більшою (54,8 ± 3,9%, р < 0,05), ніж у ЕК з високою експресією віментину (відповідно 41,1 ± 2,5 і 46,0 ± 2,7%).

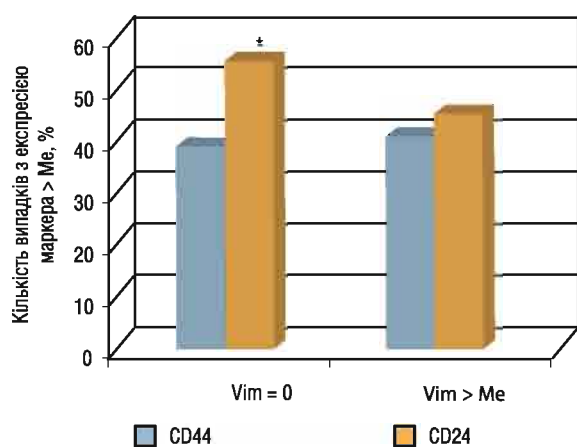


Рис. 3. Кількість випадків ЕК з високою експресією CD44 і CD24 та різною частотою експресії віментину (Vim). \* $p < 0,05$  порівняно з показником експресії Vim > Me

Напевно, саме відсутність або зниження експресії CD24 може сприяти послабленню міжклітинних контактів у ЕК і створенню умов для синтезу білків, властивих для клітин мезенхімального ряду, у тому числі віментину. Натомість високі значення експресії CD24 відповідають більш агресивним формам ЕК.

Враховуючи дані літератури, в якій приділяють значення фенотиповим особливостям пухлин за рівнем експресії CD44 і CD24, ми провели порівняльне дослідження експресії цих маркерів з показниками агресивності ЕК (табл. 2). Як видно з представлених даних, найчастіше (на рівні тенденції) ЕК, що глибоко інвазували міометрій, і пухлини з анеуплоїдією мали фенотип CD44<sup>-low</sup>/CD24<sup>high</sup>; з високим ІП — фенотипи CD44<sup>high</sup>/CD24<sup>high</sup> або CD44<sup>-low</sup>/CD24<sup>high</sup>, тобто найбільш агресивні ознаки ЕК асоціювалися з високою експресією глікопротеїну CD24.

Таблиця 2  
Порівняльний аналіз експресії CD44 та CD24 з показниками прогресії пухлинного процесу в ЕК

Рівень експресії маркерів	Кількість випадків, n (%)			
	Ступінь диференціювання пухлини G3 (n = 35)	Глибина інвазії пухлини у міометрій > ½ (n = 38)	Пухлини з анеуплоїдією (n = 8)	ІП > Me, %
CD44 <sup>-low</sup> CD24 <sup>-low</sup>	7 (20,0)	10 (26,3 4,5)	1 (16,7)	50,0
CD44 <sup>high</sup> CD24 <sup>high</sup>	6 (17,1)	8 (21,0)	1 (11,1)	66,7
CD44 <sup>-low</sup> / CD24 <sup>high</sup>	10 (28,6)	12 (31,6)	5 (35,7)	64,3
CD44 <sup>high</sup> CD24 <sup>-low</sup>	12 (34,3)	8 (21,0)	1 (9,1)	45,5

Це відрізняється від показників, отриманих іншими авторами при дослідженні раку молочної залози і яєчника, які вважають, що найгіршим фенотипом за експресією цих молекул є CD44<sup>+/high</sup>/CD24<sup>-low</sup>, який асоціюється з розвитком метастазів і виникненням рецидивів [6, 15]. У нашому дослідженні фенотип CD44<sup>high</sup>/CD24<sup>-low</sup> мала частина (34,3%) низькодиференційованих пухлин ендометрія.

Проте отримані нами результати узгоджуються з даними інших авторів, якими показано зв'язок між високими значеннями експресії CD24 і прогресією новоутворень різного генезу, у тому числі серозного і муцинозного раку яєчника [3, 7].

Для пошуку можливих аналогій в експресії CD44 і CD24 між ЕК з найбільш високим потенціалом злоякісності (низькодиференційовані, з глибокою інвазією у міометрій) і найбільш агресивними пухлинами ендометрія — СК (карциномах ендометрія серозного типу) — було проведено порівняльне дослідження експресії CD44 і CD24 в ЕК G3 і в СК.

У СК позитивна експресія CD44 і CD24 визначена у 6 (46,1%) і 4 (30,8%) випадках відповідно. Середні значення експресії CD44 становили  $26,6 \pm 3,9\%$ , CD24 —  $16,0 \pm 3,2\%$ . Кількість СК з негативною експресією обох маркерів (CD44<sup>-low</sup>/CD24<sup>-low</sup>) становила 7 (53,8%), з їх позитивною експресією (CD44<sup>high</sup>/CD24<sup>high</sup>) — 5 (38,5%), з фенотипом CD44<sup>high</sup>/CD24<sup>-low</sup> — 1 (7,7%). СК з негативною експресією CD44 і позитивною CD24 ми не виявили. Більшість (10, 76,9%) СК були анеуплоїдними пухлинами (табл. 3).

Таблиця 3  
Зіставлення молекулярно-біологічних особливостей ЕК (G3 ступінь диференціювання з глибокою інвазією у міометрій) та СК

Досліджені параметри	ЕК (G3-пухлини з інвазією > ½ міометрія) (n=24)	СК (n=13)
ІМ, %		
CD44	$26,0 \pm 2,8$	$26,6 \pm 3,9$
CD24	$45,0 \pm 3,2^{***}$	$16,0 \pm 3,2$
Кількість випадків, %		
ІДНК		
Диплоїдні	$66,7 \pm 8,2^{***}$	$23,1 \pm 9,4$
Анеуплоїдні	$33,3 \pm 10,2^{***}$	$76,9 \pm 8,4$

\* $p < 0,01$  порівняно з експресією CD44 у клітинах ЕК; \*\* $p < 0,01$  порівняно з експресією CD24 у клітинах СК; \*\*\* $p < 0,05$  порівняно з аналогічними показниками у клітинах СК.

У низькодиференційованих із глибокою інвазією у міометрій ЕК кількість клітин з позитивною експресією CD24 ( $45,0 \pm 3,2\%$ ) значно ( $p < 0,01$ ) перевищувала кількість пухлин з позитивною експресією CD44 ( $26,0 \pm 2,8\%$ ). Останній показник був майже однаковим з аналогічним показником в СК ( $26,6 \pm 3,9\%$ ). Натомість кількість пухлинних клітин з експресією CD44 в СК мала тенденцію до збільшення порівняно з експресією CD24 ( $16,0 \pm 3,2\%$ ),

Враховуючи відомості літератури, де було зазначено, що анеуплоїдія є характерною ознакою СК і може спостерігатися у ЕК серозоподібного підтипу [11], було проведено порівняльний аналіз експресії CD44 та CD24 в групі ЕК (G3-пухлин, з інвазією > ½ міометрія) та СК (рис. 4).

Встановлено, що анеуплоїдія в клітинах ЕК низького ступеня диференціювання і з глибокою інвазією пухлини у міометрій асоціюється зі зниженням (на рівні тенденції) експресії CD44 ( $15,6 \pm 3,7\%$ )

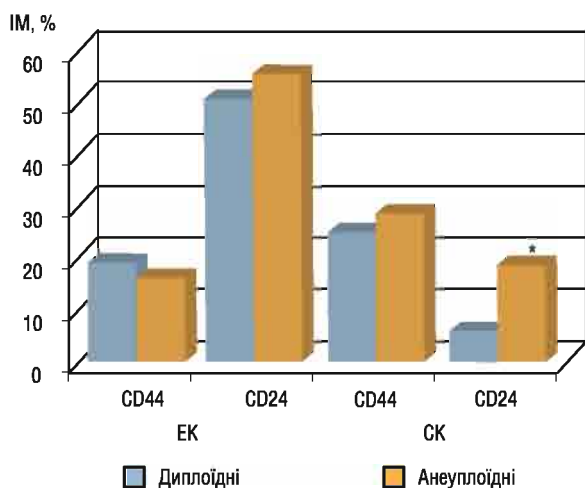


Рис. 4. Оцінка експресії CD44 і CD24 в клітинах диплоїдних і анеуплоїдних ЕК та СК. \* $p < 0,05$  порівняно з показником у диплоїдних СК

і підвищенням CD24 ( $53,9 \pm 6,4\%$ ) порівняно з показниками у диплоїдних ЕК (відповідно  $18,3 \pm 3,4$  та  $49,5 \pm 4,8\%$ ). Однак в анеуплоїдних СК відмічаються достовірне ( $p < 0,05$ ) підвищення експресії CD24 ( $16,7 \pm 3,7\%$ ) і тенденція до підвищення експресії CD44 ( $27,1 \pm 4,4\%$ ) у порівнянні з диплоїдними СК (відповідно  $24,0 \pm 4,3$  і  $4,3 \pm 3,0\%$ ).

Таким чином, патогенез злоякісних новоутворень ендометрія пов'язаний з молекулярними змінами, які відбуваються в клітинах на різних етапах розвитку пухлинної патології. Сукупність цих змін потенціє формування певних молекулярно-біологічних варіантів карцином ендометрія і зумовлює перебіг пухлинного процесу, у тому числі здатність до розвитку рецидивів і метастазів. Результати проведеної роботи показали, що частина досліджених ЕК мала низьку експресію молекул адгезії CD44 та CD24, що може сприяти послабленню міжклітинних контактів, підвищенню рухливості пухлинних клітин і зумовлювати збільшення експресії маркера мезенхімальних клітин — віментину.

Низька експресія CD44 або повна його відсутність, на думку деяких науковців, може бути результатом метилювання гена *CD44*, яке сприяє зниженню міжклітинних взаємозв'язків і часто виявляється на ранніх стадіях канцерогенезу в пухлинах різного генезу [8]. Окрім цього, низька експресія CD44 може асоціюватися зі зниженням проліферативного потенціалу у пухлинних клітинах, оскільки є відомості про регуляторну роль цього білка в експресії ряду генів-регуляторів клітинного циклу, у тому числі цикліну D1 [4]. Хоча інші автори показали, що саме високі значення експресії CD44 в ЕК поряд з високою експресією альдегіддегідрогенези (ALDH) можуть ідентифікувати підтипи ЕК з несприятливим прогнозом перебігу [18].

У роботах деяких дослідників виявлено зв'язок між глікопротеїном CD24 і маркерами епітеліально-мезенхімального переходу. Так, було продемонстро-

вано, що активація CD24 інгібує фосфорилування  $\beta$ -катеніну, сприяючи його стабілізації. Накопичений  $\beta$ -катенін мігрує в ядро, де взаємодіє з ДНК-зв'язуючими білками родини Tcf/LEF, що призводить до активації транскрипції генів мезенхімального фенотипу [16]. Окрім цього показано, що CD24 експресується у стовбурових клітинах раку печінки і також активує сигнальні шляхи Notch і Wnt/ $\beta$ -катенін [17].

На відміну від цього, ми встановили, що в частині ЕК з негативною експресією віментину, з високим проліферативним потенціалом, глибокою інвазією пухлини у міометрій і великим відсотком анеуплоїдних клітин спостерігається підвищення ( $> Me$ ) експресії CD24 і зниження експресії CD44, що відповідає пухлинному фенотипу  $CD44^{low}CD24^{high}$ . Це може бути підставою для припущення, що підвищена експресія CD24 асоціюється з більш агресивними ЕК.

Думка про те, що висока експресія CD24 може свідчити про виражену злоякісність новоутворення, є і в інших роботах. В. Davidson вважає, що CD24 є високочутливим і специфічним маркером раку яєчника, і оверекспресія цього білка в асцитичній рідині пов'язана з набуттям клітинами останнього характеристик ракових стовбурових клітин [19].

## ВИСНОВКИ

1. Проведене дослідження виявило варіабельність експресії глікопротеїнів CD44 та CD24 у клітинах ЕК зі значним підвищенням експресії CD24 у порівнянні з експресією CD44.

2. Високі значення експресії CD24 в ЕК асоціюються з такими показниками злоякісності перебігу захворювання, як глибока інвазія пухлини у міометрій, анеуплоїдія, та високою проліферативною активністю пухлин; у СК — з анеуплоїдією.

3. Отримані дані дозволяють припустити, що адгезивні молекули CD44 та CD24 можуть бути використані у якості маркерів прогресії раку тіла матки.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Tajima H, Ohta T, Kitagawa H, *et al.* Neoadjuvant chemotherapy with gemcitabine for pancreatic cancer increases in situ expression of the apoptosis marker M30 and stem cell marker CD44. *Oncol Lett* 2012; 3: 1189–90.
2. Puchinskaya MV. Cancer stem cell markers and their prognostic value. *Archive Pathologists* 2016; 2: 47–54 (in Russian).
3. Gojster OS. Role of CD24 gene in tumor growth of different organs and study approaches ways of its study. *Oncology* 2015; 17 (4): 228–35 (in Ukrainian).
4. Kim YS, Kaidina AM, Chang J-H, *et al.* Molecular markers of cancerous stem cells, verified *in vivo*. *Biomed Chemistry* 2016; 62 (3): 228–38 (in Russian).
5. Golubtsova NV, Baryshnikova MA. Markers of the ovarian cancer stem cells. *Fundamental Oncology* 2016; 4: 18–25.
6. Chen Ch, Zhao S, Karnad A, Freeman JW. The biology and role of CD44 in cancer progression: therapeutic implications. *J Hematol Oncol* 2018; 11: 64.
7. Chekhun SV, Zadvorny TV, Tymovska YuO, *et al.* CD44+/CD24 — markers of cancer stem cells in patients with breast cancer of different molecular subtypes. *Exp Oncol* 2015; 37 (1): 58–63.

8. Eyvazi S, Kazemi B, Dastmalchi S, Bandehpour M. Involvement of CD24 in multiple cancer related pathways makes it an interesting new target for cancer therapy. *Current Cancer Drug Targets* 2018; **18** (4): 328–36 (in Russian).

9. Levchenko NO, Laktionov KP, Tayipov MA, *et al.* Molecular markers of endometrial cancer. *Tumors Female Reprod Syst* 2013; 3–4: 86–9 (in Russian).

10. Krakmal NV, Zavyalova MV, Denisov EV, *et al.* Invasion of tumor epithelial cells: mechanisms and manifestation. *Acta Naturae* 2015; **7** (2): 18–21 (in Russian).

11. Colombo N, Creutzberg C, Amant F, *et al.* ESMO-ESGO-ESTRO Consensus Conference on endometrial cancer: diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* 2016; **27**: 16–41.

12. Kurman RJ, Carcangiu M, Herrington CS, Young RH. WHO Classification of Tumours of the Female Reproductive Organs (IARC WHO Classification of Tumours). 4th Edition Series: IARC Press, 2014. 307 p.

13. Nicoletti GA, Migliorati M, Pagliacci C, *et al.* A rapid and simple method for measuring thymocyte apoptosis by propidium iodide staining and flow cytometry. *J Immunol Methods* 1991; **139**: 271–9.

14. Nesina IP, Iurchenko NP, Buchynska LG. Markers of the epithelial-mesenchymal transition in cells of endometrial carcinoma. *Exp Oncol* 2018; **40** (3): 218–22.

15. Mylona E, Giannopoulou I, Fasomytakis E, *et al.* The clinicopathologic and prognostic significance of CD44<sup>+</sup>/CD24<sup>-low</sup> and CD44<sup>-</sup>/CD24<sup>+</sup> tumor cells in invasive breast carcinomas. *Hum Pathol* 2008; **39**: 1096–1102.

16. Huang H-H, Wang Yu-Ch, Chou Yu-Ch, *et al.* The combination of aldehyde dehydrogenase 1 (ALDH1) and CD44 is associated with poor outcomes in endometrial cancer. *PLoS ONE* 2018; **13** (10): e0206685. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0206685>.

17. Ahmad F, Dina K, Faina B, *et al.* CD24 induces the activation of  $\beta$ -catenin in intestinal tumorigenesis. *J Cancer Sci Ther* 2016; **8**: 135–42.

18. Wang R, Sun Q, Wang P, *et al.* Notch and Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway play important roles in activating liver cancer stem cells. *Oncotarget* 2016; **7** (5): 5754–68.

19. Davidson B. CD24 is highly useful in differentiating high-grade serous carcinoma from benign and malignant mesothelial cells. *Hum Pathol* 2016; **58**: 123–7.

#### EXPRESSION OF MARKERS OF INTERCELLULAR ADHESION CD44 AND CD24 IN CELLS OF ENDOMETRIAL CARCINOMA WITH HIGH MALIGNANCY POTENTIAL

I.P. Nesina, N.P. Iurchenko, O.O. Gorlakova,  
L.G. Buchynska

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

**Summary. Aim:** to determine the expression of CD44 and CD24 proteins in samples of endometrioid carcinoma

of uteri body, depending on the progression parameters of the tumor process. **Object and methods:** samples of the surgical material of 66 patients with endometrioid cancer (EC) with an average age of  $59.7 \pm 5.8$  years and 13 patients with serous cancer (SC), with an average age of  $63.1 \pm 4.2$  years. **Methods:** morphological, immunohistochemical, flow cytometry and statistical. **Results of the study** showed that the number of tumors with positive expression of CD44 was 58 (87.9%) and CD24 — 95.5%. Expression of CD44 protein was significantly higher in G3 tumors ( $25.4 \pm 2.3\%$ ) compared with G2 tumor ( $14.1 \pm 2.0\%$ ,  $p < 0.05$ ) and expression of CD24 protein in G3- and G2-tumors were almost equally high,  $48.8 \pm 2.7$  and  $47.9 \pm 3.0\%$  respectively. In EC, invasion with  $< 1/2$  myometrium, the number of cells with CD44 and CD24 expression was  $18.5 \pm 2.4$  and  $52.4 \pm 3.0\%$ , respectively, and in the case of deep myometrium invasion, respectively,  $21.2 \pm 2.1$  and  $46.6 \pm 3.3\%$ . The largest number of tumors, which was deeply invasive with myometrium and with aneuploidy, had a CD44<sup>-low</sup>/CD24<sup>high</sup> phenotype and with high index of proliferation — CD44<sup>high</sup>/CD24<sup>high</sup> or CD44<sup>-low</sup>/CD24<sup>high</sup> phenotypes, that is, the most aggressive signs of EC were generally associated with high values of glycoprotein CD24. The frequency of SC with the CD44<sup>-low</sup>/CD24<sup>-low</sup> phenotype was 53.8%, CD44<sup>high</sup>/CD24<sup>high</sup> — 38.5%, CD44<sup>high</sup>/CD24<sup>-low</sup> — 7.7%. SC with negative CD44 and positive CD24 expression were not detected. **Conclusions:** high expression of CD24 in EC are associated with such indicators of cancer malignancy as deep tumor invasion in myometrium, high index of proliferation of tumors cells and aneuploidy. The obtained data suggest that the adhesion molecules CD44 and CD24 can be used as markers for the progression of endometrial cancer.

**Key Words:** uterine cancer, endometrioid carcinoma, serous carcinoma, CD44, CD24, vimentin.

Адреса для листування:

Несіна І.П.

03022, Київ, вул. Васильківська, 45

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

E-mail: laboncogen@gmail.com

Одержано: 24.05.2019