

О.В. Брєєва
І.П. Несіна
Н.П. Юрченко
Л.Г. Бучинська

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

Ключові слова: рак ендометрія, с-Мус, E2F1, проліферація, епітеліально-мезенхімальний перехід, анеуплоїдія.

ОСОБЛИВОСТІ ЕКСПРЕСІЇ БІЛКА с-Мус У КАРЦИНОМАХ ЕНДОМЕТРІЯ З ОЗНАКАМИ АГРЕСИВНОГО ПЕРЕБІГУ ЗАХВОРЮВАННЯ

Рак ендометрія (РЕ) характеризується вираженою клініко-морфологічною гетерогенністю та варіабельністю перебігу захворювання, що зумовлює необхідність пошуку молекулярно-біологічних маркерів, які найбільш точно відображають агресивність пухлинного процесу. Одним із перспективних маркерів вважається білок с-Мус, у зв'язку з чим актуальним є детальне вивчення його ролі у визначенні злоякісного потенціалу пухлин ендометрія. **Мета:** дослідити асоціацію експресії білка с-Мус у карциномах ендометрія з такими показниками агресивного перебігу пухлинного процесу, як проліферативна активність, експресія маркерів епітеліально-мезенхімального переходу та плідність пухлинних клітин. **Об'єкт і методи:** дослідження проведено на зразках операційного матеріалу 55 хворих на РЕ I–II стадії за FIGO. Оцінку експресії маркерів виконували за допомогою імуногістохімічного методу з використанням первинних антитіл до білків с-Мус, E2F1, E-кадгерину, бета-катеніну та віментину шляхом розрахунку індексу мітки (ІМ), що відображає частку позитивно забарвлених клітин. Вміст ДНК та проліферативний потенціал пухлинних клітин оцінювали методом проточної цитофлюориметрії, визначаючи індекс ДНК (іДНК) та індекс проліферації (ІП, %) відповідно. **Результати:** визначено позитивний кореляційний зв'язок між експресією білка с-Мус та транскрипційного фактора E2F1, який контролює перехід з G1- в S-фазу клітинного циклу ($r = 0,58$; $p < 0,05$). Встановлено, що у пухлинах із високим рівнем с-Мус (ІМ $> 10,0\%$) спостерігається інтенсивніша проліферація, ніж у карциномах з низьким рівнем цього маркера (ІП $33,4 \pm 2,5$ та $26,1 \pm 2,4\%$ відповідно; $p < 0,05$). Не виявлено достовірних відмінностей у рівні експресії білків адезії E-кадгерину та бета-катеніну в карциномах з високим та низьким рівнем с-Мус. Водночас визначено, що експресія маркера мезенхімальних клітин віментину була нижчою у карциномах з високим рівнем с-Мус порівняно із пухлинами з низьким (ІМ $20,7 \pm 6,4$ та $44,6 \pm 6,2\%$ відповідно; $p < 0,05$) рівнем. Відзначено зростання експресії с-Мус в анеуплоїдних пухлинах порівняно із диплоїдними ($20,8 \pm 9,1$ та $6,7 \pm 2,2\%$ відповідно; $p < 0,05$), що асоціювалося з низьким ступенем диференціювання та глибокою інвазією пухлини у міометрії. **Висновок:** висока експресія білка с-Мус у карциномах ендометрія асоціюється з підвищеною проліферативною активністю, ознаками неповного епітеліально-мезенхімального переходу та анеуплоїдним статусом пухлинних клітин, що свідчить про важливу роль цього білка у прогресії пухлинного процесу в ендометрії та може стати підґрунтям для його використання з метою виявлення пухлин з більш злоякісним потенціалом.

Варіабельність клінічного перебігу раку ендометрія (РЕ) та вибір оптимальної тактики лікування пацієнток залишаються актуальним питанням сучасної онкогінекології. Вважають, що в основі клінічної та морфологічної гетерогенності карцином ендометрія лежить патогенетична неоднорідність молекулярних змін, які призводять до виникнення і прогресування пухлинного процесу [1]. У зв'язку з цим в останні роки проводиться активний пошук і дослідження молекулярно-біологічних маркерів,

які найточніше відображають злоякісний потенціал пухлин ендометрія [2–4]. Як один із перспективних прогностичних маркерів перебігу РЕ зараз розглядається онкоген с-Мус [5, 6], що зумовлює необхідність детального вивчення його ролі у визначенні агресивного фенотипу карцином ендометрія.

с-Мус належить до родини Мус-білків, яка також включає білки N-Мус і L-Мус [7]. Білки родини Мус регулюють експресію численних генів, продукти яких задіяні у різні клітинні процеси, зокрема функціону-

вання сигнальних каскадів, проліферацію, клітинну адгезію, енергетичний метаболізм, імунну відповідь тощо [8]. Координація транскрипції здійснюється після формування гетеродимерного комплексу Мус-білків з білком МАХ та його зв'язування з Е-боксами у промоторних регіонах таргетних генів. Дослідження в рамках The Cancer Genome Atlas (TCGA) показали, що близько 28% усіх досліджених зразків 33 нозологічних форм злоякісних новоутворень характеризуються генетичними аномаліями принаймні в одному з генів, що кодуєть Мус-білки [9]. Встановлено, що дерегуляція експресії с-Мус асоціюється з несприятливим прогнозом та низькою виживаністю хворих зі злоякісними новоутвореннями [10], в тому числі хворих на РЕ [6, 11]. У нашому попередньому дослідженні показано наявність ампліфікації *c-MYC* у 25,0% карциномах ендометрія з оверекспресією у 23,5% випадків, причому наявність оверекспресії асоціювалася з низьким ступенем диференціювання карцином [12].

Одним із наслідків патологічної активації с-Мус є поява різних форм нестабільності геному [13–15]. Так, при підвищеному рівні цього білка реєструється зростання вмісту активних форм кисню, що індукують одно- та двониткові розриви в ДНК. Крім того, оверекспресія с-Мус асоціюється з ампліфікацією багатьох генів, появою хромосомних аберрацій різного типу, полі- та анеуплоїдією. Важливо відзначити, що експресія с-Мус взаємопов'язана з експресією транскрипційного фактора E2F1 [16]. Припускають, що сукупний вплив цих білків може визначати інтенсивність проліферації пухлинних клітин (ПК), а, отже, впливати на прогресування пухлинного процесу. Крім того, с-Мус-асоційовану прогресію пухлинного процесу пов'язують з експресією маркерів епітеліально-мезенхімального переходу (ЕМП), що призводить до підвищення інвазивного потенціалу та ризику метастазування при різних формах раку [17, 18]. Отже, при порушенні функціонування білка с-Мус спостерігається ряд патологічних змін, що можуть визначати агресивність перебігу захворювання у пацієнтів зі злоякісними новоутвореннями різної нозології.

З урахуванням вищенаведеного мета представленого дослідження полягала у визначенні зв'язку експресії с-Мус у карциномах ендометрія з такими показниками агресивного перебігу пухлинного процесу, як проліферативна активність, експресія маркерів ЕМП та плоідність ПК.

ОБ'ЄКТ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Дослідження проведено на зразках операційного матеріалу 55 хворих на РЕ I–II стадії за FIGO (середній вік — $60,4 \pm 2,6$ року). Всі пацієнтки були проінформовані про обстеження та дали згоду на використання їх біологічних матеріалів у дослідних цілях. Морфологічну верифікацію патологічного процесу проводили на гістологічних препаратах, забарвлених гематоксиліном і еозинном.

Імуногістохімічний аналіз експресії білків здійснювали з використанням первинних антитіл до с-Мус (клон 9E10, Diagnostic BioSystems, США), E2F1 (клон 2E10, Diagnostic BioSystems, США), Е-кадгерину (клон NCH-38, DakoCytomation, США), бета-катеніну (клон β -catenin-1, DakoCytomation, США) та віментину (клон V9, Diagnostic BioSystems, США). Візуалізацію зазначених маркерів проводили з використанням системи детекції PolyVue (Diagnostic BioSystems, США). Результати імуногістохімічної реакції оцінювали шляхом підрахунку індексу мітки (ІМ), що становить кількість забарвлених клітин, виражену у відсотках (%). Присутність ядерного забарвлення с-Мус у більше ніж 10% ПК вважали за високу експресію, у менше ніж 10% — низьку. При аналізі експресії Е-кадгерину, бета-катеніну та віментину як показник високої експресії розглядали значення ІМ більше медіани, низької — менше медіани.

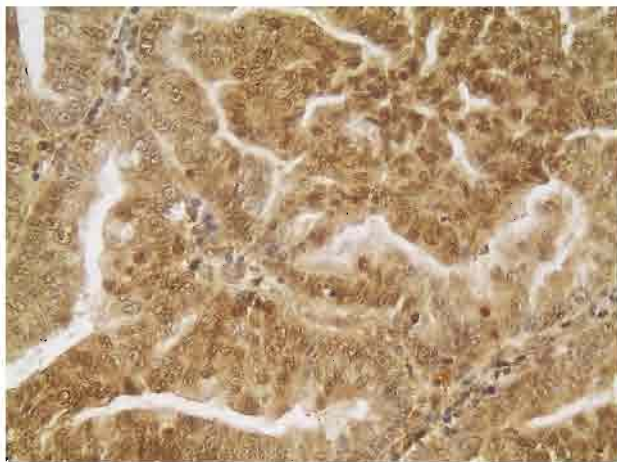
Використовуючи метод проточної цитометрії, оцінювали плоідність і розподіл ПК за фазами клітинного циклу після їх фарбування флюорохромом (пропідіум йодид). Дослідження проводили на проточному цитофлуориметрі EPICS-XL («Beckman Coulter», США). Вміст ДНК та проліферативний потенціал ПК визначали за індексом ДНК (іДНК) та індексом проліферації (ІП, %) відповідно.

Статистичну обробку даних проводили за допомогою пакета програм Statistica 8.0 (StatSoft, Inc.) з використанням непараметричного U-критерію Манна — Уїтні. Достовірними вважали відмінності при $p < 0,05$.

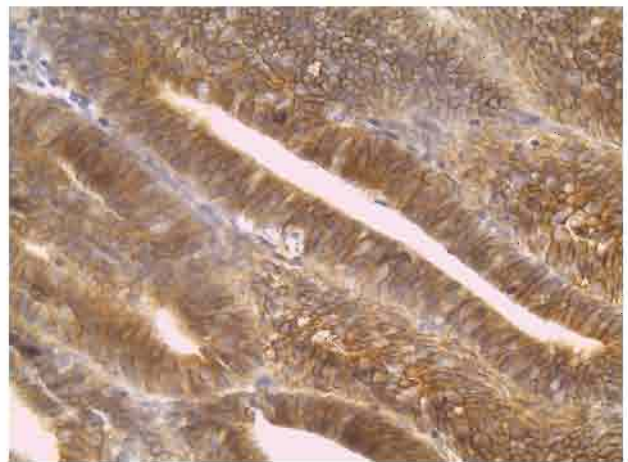
РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Дослідження морфологічних особливостей видалених пухлин показало, що їх будова відповідала ендометріюїдним карциномам ендометрія помірного (28 зразків) та низького (27 зразків) ступеня диференціювання. Аналіз інвазивного потенціалу пухлин показав, що інвазія $< \frac{1}{2}$ міометрія спостерігалась у 25 хворих на РЕ, $> \frac{1}{2}$ міометрія — у 30. При імуногістохімічному аналізі експресія с-Мус, E2F1, Е-кадгерину, бета-катеніну та віментину визначалась у 58,8; 91,1; 79,4; 98,4 і 72,1% карцином відповідно (рис. 1). У 11,0% досліджених пухлин іДНК перевищував 1,2, що вказує на наявність у цих новоутвореннях анеуплоїдії.

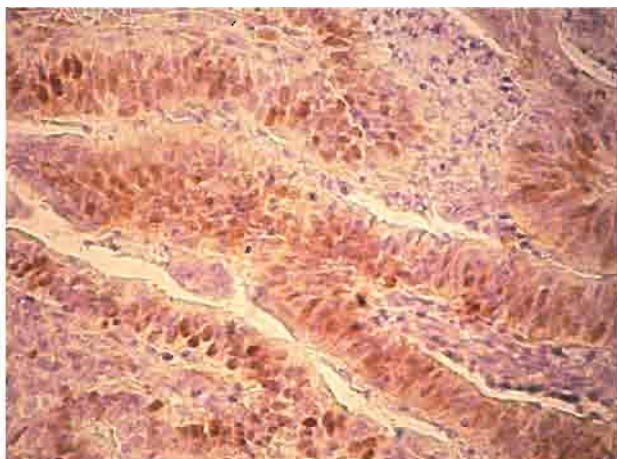
Згідно з сучасними уявленнями, один зі шляхів с-Мус-опосередкованої регуляції клітинного циклу здійснюється за участю транскрипційного фактора E2F1 [16]. Припускають, що оверекспресія с-Мус та E2F1 призводить до значного зростання проліферативної активності ПК, що є однією з характерних особливостей злоякісних новоутворень з вираженим агресивним перебігом. У зв'язку з цим нами досліджено залежність між рівнем експресії с-Мус, E2F1 та рівнем проліферації у ПК. Нами виявлено, що у групі карцином з високим рівнем с-Мус спостерігалась достовірно вища експресія E2F1 порівняно з пухлинами з низьким рівнем с-Мус (ІМ 13,7 \pm 2,1



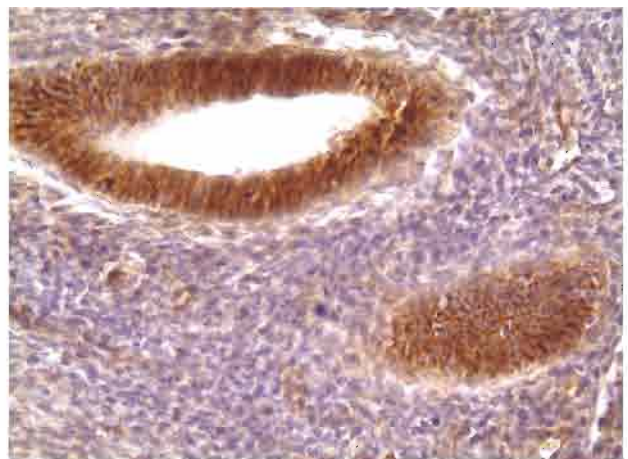
а



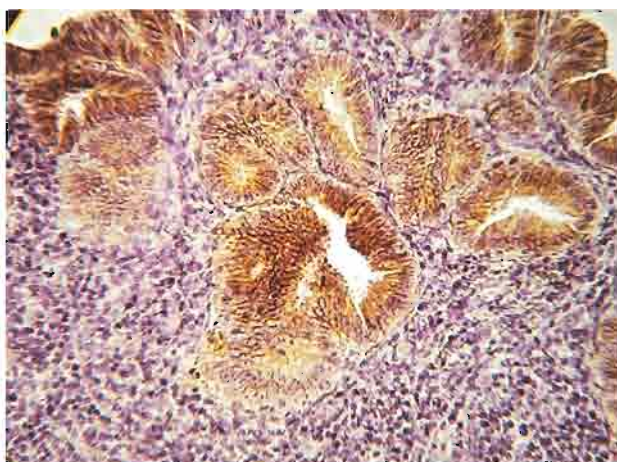
z



б



r



e

та $6,7 \pm 1,2$ відповідно; $p < 0,05$). Кореляційний аналіз показав існування позитивного зв'язку між експресією білків E2F1 та c-Myc ($r = 0,58$; $p < 0,05$). Слід зазначити, що у пухлинах із високим рівнем c-Myc визначалась більш висока проліферативна активність, ніж у карциномах з низьким рівнем цього маркера (ІП $33,4 \pm 2,5$ та $26,1 \pm 2,4\%$ відповідно; $p < 0,05$). Отже, отримані нами дані дозволяють припустити, що проліферативний потенціал ПК у карциномах ендометрія значною мірою може асоціюватись з експресією c-Myc, яка корелює з рівнем E2F1.

Рис. 1. Експресія білків c-Myc (а), E2F1 (б), E-кадгерину (z), бета-катеніну (e) та віментину (r) у карциномах ендометрія. Імуногістохімічний метод, додаткове забарвлення гематоксиліном Майєра. $\times 400$

Встановлена кореляція між рівнем c-Myc та E2F1 може вказувати на важливу роль коекспресії цих маркерів у визначенні проліферативного потенціалу ПК ендометрія. Відомо, що регуляція експресії c-Myc та E2F1 здійснюється через петлю позитивного зворотного зв'язку шляхом взаємної координації процесів транскрипції [16, 19]. Встановлено, що c-Myc та E2F1, контролюючи експресію один одного, визначають експресію генів, білкові продукти яких задіяні в реплікації ДНК та перехід з G1- в S-фазу клітинного циклу [20]. Отже, порушення експресії c-Myc та E2F1, зокрема їх надмірна активація, можуть призводити до посилення проліферативних процесів, що підтверджується одержаними нами результатами щодо підвищеної проліферативної активності у пухлинах ендометрія з високим рівнем c-Myc. Оскільки зростання проліферації є одним із чинників прогресії пухлинного процесу, можна припустити, що підвищений рівень c-Myc може розглядатись як один із маркерів агресивного перебігу РЕ.

Агресивність різних нозологічних форм раку пов'язують зі зміною адгезивних властивостей

ПК, зокрема з порушенням експресії Е-кадгерину та бета-катеніну, що створює передумови до ЕМП. Враховуючи, що згідно з деякими даними, підвищення рівня експресії с-Мус може супроводжуватися розвитком ЕМП [17, 18], нами проведено дослідження особливостей експресії Е-кадгерину та бета-катеніну у ПК ендометрія залежно від експресії цього маркера. Встановлено, що експресія Е-кадгерину та бета-катеніну не мала статистично достовірних відмінностей у карциномах з високим та низьким рівнем с-Мус (таблиця).

Таблиця
Особливості експресії маркерів, асоційованих з ЕМП,
залежно від рівня с-Мус у карциномах ендометрія

Рівень експресії с-Мус	ІМ, %		
	Е-кадгерин	Бета-катенін	Віментин
Високий	64,7 ± 9,2	90,0 ± 3,6	20,7 ± 6,4*
Низький	54,6 ± 7,4	89,0 ± 2,2	44,6 ± 6,2

* $p < 0,05$ порівняно з пухлинами з низьким рівнем с-Мус.

Відомо, що, окрім порушення адгезивних властивостей, набуття мезенхімального фенотипу ПК епітеліального походження супроводжується появою віментину. Зважаючи на це, нами досліджено експресію віментину з урахуванням рівня с-Мус. Визначено, що у хворих з високою експресією с-Мус експресія віментину була достовірно нижчою порівняно до карцином з низькою експресією с-Мус (див. таблицю).

Враховуючи експресію досліджених маркерів, нами виділено дві групи пухлин залежно від вираженості ознак ЕМП. До першої групи увійшли карциноми з низькою експресією Е-кадгерину та бета-катеніну поряд із високою експресією віментину, що вказує на більш виражений прояв ознак ЕМП. До другої групи були віднесені зразки, у яких спостерігалася висока експресія Е-кадгерину та бета-катеніну при низькій експресії віментину, що є характерною ознакою менш вираженого ЕМП. Встановлено, що у другій групі пухлин спостерігалась у більше ніж 2 рази більша кількість випадків з високим рівнем с-Мус, ніж у першій (66,7 та 25,0% відповідно). Одержані результати дозволяють припустити, що при підвищеній експресії с-Мус у карциномах ендометрія спостерігаються менш виражені ознаки ЕМП, ніж при зниженому рівні цього білка або його відсутності.

Зазначимо, що дані літератури свідчать про можливу асоціацію між оверекспресією с-Мус та експресією маркерів ЕМП [17, 18, 21]. Отримані нами дані свідчать про менш виражені ознаки ЕМП у пухлинах ендометрія з підвищеною експресією с-Мус. Згідно із сучасними уявленнями, прогресія пухлинного процесу, асоційована з розвитком ЕМП у карциномах ендометрія, супроводжується порушенням регуляції ряду сигнальних шляхів [22]. Зазвичай у ході цього процесу спостерігається втрата молекул міжклітинної адгезії та набуття мезенхімальних ознак епітеліальними клітинами ендометрія [23]. Подібні зміни призводять до підвищеної рухливості окремих клітин, їх міграції та інвазії в оточуючі ткани-

ни. Вважається, що можливе існування проміжних станів, які становлять частковий, або неповний, ЕМП [24]. Зокрема, існують свідчення, що процес інвазії ПК ендометрія в міометрій не завжди супроводжується руйнацією адгезивних міжклітинних контактів та підвищенням експресії віментину. Так, у проведеному нами попередньому дослідженні встановлено, що значна категорія пухлин ендометрія (78,6%), у яких спостерігався високий рівень Е-кадгерину та бета-катеніну поряд із відсутністю віментину, характеризувалася глибокою інвазією у міометрій [25]. Крім того, опубліковано дані, що вказують на асоціацію інвазивного потенціалу РЕ з неповним ЕМП [26]. Наведені свідчення дозволяють припустити, що процес інвазії у карциномах ендометрія може відбуватися без набуття ними виражених ознак ЕМП, зокрема, імовірно, шляхом колективної міграції ПК [27].

При дослідженні особливостей експресії с-Мус залежно від плоідності ПК ендометрія встановлено, що варіабельність рівня цього білка більш виражена в анеуплоїдних пухлинах (0–68,5%), ніж у диплоїдних (0–46,3%). В середньому в анеуплоїдних пухлинах спостерігалася приблизно у 3 рази вища експресія с-Мус порівняно із диплоїдними ($20,8 \pm 9,1$ та $6,7 \pm 2,2\%$ відповідно; $p < 0,05$) (рис. 2). Анеуплоїдні пухлини з високим рівнем с-Мус переважно характеризувалися низьким ступенем диференціювання та глибокою інвазією пухлини у міометрій. Таким чином, отримані нами дані свідчать, що рівень експресії с-Мус асоціюється із плоідністю ПК ендометрія та агресивністю перебігу РЕ.

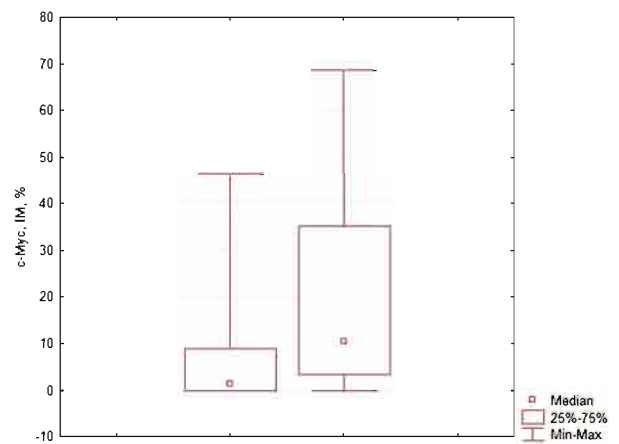


Рис. 2. Аналіз експресії с-Мус залежно від плоідності ПК ендометрія (1 — диплоїдні пухлини; 2 — анеуплоїдні пухлини)

Згідно з отриманими даними, більшість пухлин, у яких одночасно визначалась анеуплоїдія та високий рівень с-Мус, мали низький ступінь диференціювання та інвазували $> \frac{1}{2}$ міометрія, що вказує на агресивний перебіг захворювання. Слід відзначити, що у літературі наявні дані про асоціацію арегуляції генів, експресія яких координується с-Мус, з поліплоїдією. Серед цих генів виявлені такі, продукти яких задіяні у ріст та проліферацію, відповідь

на стрес, підтримку стовбуровості, а також компоненти сигнальних шляхів MAPK і RAS [17]. У роботі [28] показано, що всі досліджені анеуплоїдні пухлини молочної залози характеризувалися підвищенням копійності гена *c-MYC*, в той час як серед диплоїдних частка випадків із високою копійністю цього гена не перевищувала 20%. Дослідники відзначають, що підвищення копійності гена *c-MYC* може розглядатись як одна з головних ознак прогресії дуктальної карциноми *in situ* в інвазивну форму раку. Слід також зазначити, що у нашому попередньому дослідженні виявлено тенденцію до підвищення копійності гена *c-MYC* у пухлинах хворих на РЕ з глибокою інвазією пухлини у міометрій та достовірно вищий рівень відповідного білка у низькодиференційованих карциномах [12]. Отже, результати власних досліджень, а також дані літератури вказують на існування зв'язку між дерегуляцією гена *c-MYC*, рівнем його білкового продукту, анеуплоїдією та прогресією пухлинного процесу.

Таким чином, нами виявлено асоціацію експресії *c-Myc* у карциномах ендометрія з плоідністю новоутворень, проліферативною активністю та вираженістю ознак ЕМП. Показано, що в анеуплоїдних карциномах ендометрія визначається вищий рівень експресії *c-Myc*, ніж у диплоїдних, що асоціюється з низьким ступенем диференціювання та глибокою інвазією пухлини у міометрій. При цьому, у карциномах ендометрія з високою експресією *c-Myc* визначено підвищений рівень транскрипційного фактора E2F1, знижений рівень віментину та відзначено зростання проліферативної активності. Нами не виявлено різниці в експресії маркерів адгезії E-кадгерину та бета-катеніну у карциномах з високим та низьким рівнем *c-Myc*. Отже, результати, отримані у представленому дослідженні, свідчать, що для карцином ендометрія з високим рівнем *c-Myc* характерний неповний ЕМП, а, отже, можна припустити, що у таких випадках інвазія пухлини у міометрій може відбуватися шляхом колективної міграції ПК. Визначені особливості експресії *c-Myc* у карциномах ендометрія вказують на суттєву роль цього білка у прогресії пухлинного процесу в карциномах ендометрія, що може стати підґрунтям для виявлення пацієнтів із більш агресивним перебігом захворювання.

Робота виконана у рамках НДР «Дослідження молекулярно-біологічних особливостей раку ендометрія та визначення молекулярних підтипів ендометріодної карциноми, асоційованих з високим потенціалом злоякісності» (№ держреєстрації 0116U007815) за підтримки бюджетної програми НАН України 6541230 за напрямом 1. Підтримка пріоритетних для держави наукових досліджень і науково-технічних (експериментальних) розробок.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Murali R, Soslow RA, Weigelt B. Classification of endometrial carcinoma: more than two types. *Lancet Oncol* 2014; **15** (7): e268–78.

2. Kommoss S, McConechy MK, Kommoss F, et al. Final validation of the ProMisE molecular classifier for endometrial carcinoma in a large population-based case series. *Ann Oncol* 2018; **29** (5): 1180–88.

3. Cosgrove CM, Trichter DL, Cohn DE, et al. An NRG Oncology/GOG study of molecular classification for risk prediction in endometrioid endometrial cancer. *Gynecol Oncol* 2018; **148** (1): 174–80.

4. Stelloo E, Nout RA, Osse EM, et al. Improved risk assessment by integrating molecular and clinicopathological factors in early-stage endometrial cancer — combined analysis of the PORTEC cohorts. *Clin Cancer Res* 2016; **22** (16): 4215–24.

5. Cancer Genome Atlas Research Network, Kandoth C, Schultz N, et al. Integrated genomic characterization of endometrial carcinoma. *Nature* 2013; **497** (7447): 67–73.

6. Zhang Q, Xu P, Lu Y, et al. Correlation of MACC1/*c-Myc* expression in endometrial carcinoma with clinical/pathological features or prognosis. *Med Sci Monit* 2018; **24**: 4738–44.

7. Yoshida GJ. Emerging roles of Myc in stem cell biology and novel tumor therapies. *J Exp Clin Cancer Res* 2018; **37** (1): 173.

8. Chen H, Liu H, Qing G. Targeting oncogenic Myc as a strategy for cancer treatment. *Signal Transduct Target Ther* 2018; **3**: 5.

9. Schaub FX, Dhankani V, Berger AC, et al. Pan-cancer alterations of the MYC oncogene and its proximal network across the Cancer Genome Atlas. *Cell Syst* 2018; **6** (3): 282–300.e2.

10. Kalkat M, De Melo J, Hickman KA, et al. MYC deregulation in primary human cancers. *Genes (Basel)* 2017; **8** (6): E151.

11. Salvesen HB, Carter SL, Mannelqvist M, et al. Integrated genomic profiling of endometrial carcinoma associates aggressive tumors with indicators of PI3 kinase activation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009; **106** (12): 4834–9.

12. Buchynska LG, Brieieva OV, Iurchenko NP. Assessment of Her-2/neu, *c-MYC* and *CCNE1* gene copy number variations and protein expression in endometrial carcinomas. *Exp Oncol* 2019; **41** (2): 138–43.

13. Prochownik EV, Li Y. The ever expanding role for *c-Myc* in promoting genomic instability. *Cell Cycle* 2007; **6** (9): 1024–9.

14. Prochownik EV. *c-Myc*: linking transformation and genomic instability. *Curr Mol Med* 2008; **8** (6): 446–58.

15. Kuzuk A, Mai S. *c-MYC*-induced genomic instability. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2014; **4** (4): a014373.

16. Matsumura I, Tanaka H, Kanakura Y. E2F1 and *c-Myc* in cell growth and death. *Cell Cycle* 2003; **2** (4): 333–8.

17. Vazquez-Martin A, Anatskaya OV, Giuliani A, et al. Somatic polyploidy is associated with the upregulation of *c-MYC* interacting genes and EMT-like signature. *Oncotarget* 2016; **7** (46): 75235–60.

18. Cho KB, Cho MK, Lee WY, Kang KW. Overexpression of *c-myc* induces epithelial mesenchymal transition in mammary epithelial cells. *Cancer Lett* 2010; **293** (2): 230–9.

19. Collier HA, Forman JJ, Legesse-Miller A. 'Myc'ed messages': *myc* induces transcription of E2F1 while inhibiting its translation via a microRNA polycistron. *PLoS Genetics* 2007; **3** (8): p.e146.

20. Leung JY, Ehmann GL, Giangrande PH, Nevins JR. A role for Myc in facilitating transcription activation by E2F1. *Oncogene* 2008; **27** (30): 4172–9.

21. Yin S, Cheryan VT, Xu L, et al. Myc mediates cancer stem-like cells and EMT changes in triple negative breast cancers cells. *PLoS One* 2017; **12** (8): e0183578.

22. Makker A, Goel MM. Tumor progression, metastasis, and modulators of epithelial-mesenchymal transition in endometrioid endometrial carcinoma: an update. *Endocr Relat Cancer* 2016; **23** (2): R85–R111.

23. Mirantes C, Espinosa I, Ferrer I, et al. Epithelial-to-mesenchymal transition and stem cells in endometrial cancer. *Hum Pathol* 2013; **44** (10): 1973–81.

24. Nieto MA, Huang RY, Jackson RA, Thiery JP. EMT: 2016. *Cell* 2016; **166** (1): 21–45.
25. Nesina IP, Iurchenko NP, Buchynska LG. Markers of the epithelial-mesenchymal transition in cells of endometrial carcinoma. *Exp Oncol* 2018; **40** (3): 218–22.
26. Wilson MR, Reske JJ, Holladay J, et al. ARID1A and PI3-kinase pathway mutations in the endometrium drive epithelial transdifferentiation and collective invasion. *Nat Commun* 2019; **10** (1): 3554.
27. Wang X, Enomoto A, Asai N, et al. Collective invasion of cancer: Perspectives from pathology and development. *Pathol Int* 2016; **66**(4): 183–92.
28. Oltmann J, Heselmeyer-Haddad K, Hernandez LS, et al. Aneuploidy, TP53 mutation, and amplification of MYC correlate with increased intratumor heterogeneity and poor prognosis of breast cancer patients. *Genes Chromosomes Cancer* 2018; **57** (4): 165–75.

PECULIARITIES OF c-Myc PROTEIN EXPRESSION IN ENDOMETRIAL CARCINOMAS WITH SIGNS OF AN AGGRESSIVE COURSE OF THE DISEASE

O.V. Briieva, I.P. Nesina,
N.P. Iurchenko, L.G. Buchynska

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

Summary. Endometrial cancer (EC) is characterized by marked clinical and morphological heterogeneity and variability of the course of the disease, which necessitates the search for molecular biological markers that most accurately reflect the aggressiveness of the tumor. The c-Myc protein is considered to be one of the promising markers, and therefore, a detailed study of its role in determining the malignant potential of endometrial cancer is relevant. **Aim:** to determine the association of c-Myc protein expression in endometrial carcinomas with such indicators of the aggressive course of the malignant process as proliferative activity, expression of epithelial-mesenchymal transition markers and ploidy of tumor cells. **Object and methods:** The study was conducted on tumor tissue samples from 55 patients with FIGO I–II stage of the endometrial carcinoma. Marker expression was assessed immunohistochemically using primary antibodies to c-Myc, E2F1, E-cadherin, beta-catenin and vimentin proteins by calculating the

label index (LI), which reflects the percentage of positively stained cells. The DNA content and proliferative potential of tumor cells were evaluated by flow cytometry, determining the DNA index (iDNA) and proliferation index (PI, %), respectively. **Results:** A positive correlation between the expression of c-Myc protein and transcription factor E2F1, which controls the transition from G1-to the S-phase of the cell cycle ($r = 0.58$; $p < 0.05$), was determined. It was found that in tumors with a high level of c-Myc (LI > 10.0%), more intensive proliferation is observed than in carcinomas with a low level of this marker (PI 33.4 ± 2.5 and $26.1 \pm 2.4\%$ respectively; $p < 0.05$). No significant differences were found in the expression level of adhesion proteins for E-cadherin and beta-catenin in carcinomas with high and low levels of c-Myc. At the same time, it was found that the expression of the vimentin mesenchymal cell marker was lower in carcinomas with a high level of c-Myc compared with tumors with a low level (LI 20.7 ± 6.4 and $44.6 \pm 6.2\%$, respectively; $p < 0, 05$). There was an increase in c-Myc expression in aneuploid tumors compared with diploid (LI 20.8 ± 9.1 and $6.7 \pm 2.2\%$, respectively; $p < 0.05$), which was associated with a low degree of differentiation and deep tumor invasion in myometrium. **Conclusion:** High expression of c-Myc protein in endometrial carcinomas is associated with increased proliferative activity, signs of an incomplete epithelial-mesenchymal transition and aneuploid status of tumors, which indicates the important role of this protein in the progression of the malignant process in the endometrium and may become the basis for its use for identifying tumors with more aggressive potential.

Key Words: endometrial cancer, c-Myc, E2F1, proliferation, epithelial-mesenchymal transition, aneuploidy.

Адреса для листування:

Бреєва О.В.
03022, Київ, вул. Васильківська, 45
Інститут експериментальної патології,
онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького
НАН України
E-mail: olha.brie@gmail.com

Одержано: 06.12.2019