

4. Understanding The Cosmetics Regulation. URL: <https://cosmeticseurope.eu/cosmetics-industry/understanding-cosmetics-regulation/> (дата звернення: 01.09.2020).

5. Regulation (EC) No 1223/2009. (2009). European parliament and of the council of 30 November 2009 on cosmetic products. *Official Journal of the European Union*. P. L 342/59– L 342/209.

6. Український ринок парфумерно-косметичної продукції // Асоціація «Парфумерія та косметика України». URL: <http://apcu.ua/rinkovidoslidzhennya-ta-statistichni-dani/parfumerno-kosmetichnij-rinok-ukraini.htm> (дата звернення 01.09.2020).

7. Регулювання косметичної продукції в Україні: оприлюднено доопрацьовану постанову. URL: <https://www.apteka.ua/article/530929> (дата звернення: 07.11.2020).

8. Казакова І.С., Лебединець В.О. Аналіз та визначення перспектив розвитку ринку лікарських косметичних засобів в Україні. *Соціальна фармація в охороні здоров'я*. 2020. Т. 6. № 2. С.44-60.

DOI <https://doi.org/10.30525/978-9934-26-006-3-1>

ОСОБЛИВОСТІ ЕКСПРЕСІЇ ТРАНСКРИПЦІЙНИХ ФАКТОРІВ TWIST I SNAIL В КАРЦИНОМАХ ЕНДОМЕТРІУ ХВОРИХ З I-II ТА III СТАДІЄЮ ПУХЛИННОГО ПРОЦЕСУ

Марченко І. О.

аспірантка лабораторії генетики раку

*Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології
імені Р. Є. Кавецького Національної академії наук України*

Несіна І. П.

кандидат біологічних наук,

*старший науковий співробітник лабораторії генетики раку
Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології
імені Р. Є. Кавецького Національної академії наук України
м. Київ, Україна*

На сьогодні добре відомо, що основною причиною загибелі онкологічного хворого є метастазування злоякісної пухлини, яке є результатом втрати генетичного контролю над процесами диференціювання, проліферації та апоптозу [1, с. 1]. Однією з причин

пухлинної інвазії і метастазування автори вбачають в реактивації при неопластичній прогресії такого ключового процесу ембріогенезу, як епітеліально-мезенхімальний перехід (ЕМП), виникнення якого при онкогенезі може відбуватися при активації декількох сигнальних шляхів різними позаклітинними імпульсами, у тому числі, такими багатофункціональними транскрипційними факторами, як Twist, Snail, Slug і Zeb1 [1, с. 248; 2, с. R86].

Зокрема було встановлено, що Twist і Snail сприяють метастатичному розповсюдженню епітеліальних клітин, зв'язуючись з промотором гена *CDH1* (Е-кадгерину) і пригнічуючи його транскрипцію, що зумовлює активацію Wnt/ β -катенінового шляху, послаблення міжклітинних контактів і набування раковими клітинами мезенхімальних властивостей [2, с. R86; 3, с. 821; 4, с. 3].

Зазначені процеси відбуваються і при прогресії карцином ендометрію – одного з найбільш поширених гінекологічних злоякісних новоутворень жінок в Україні і світі. [5, с. 10], Проте, питання щодо ролі ЕМП у формуванні певного інвазивного потенціалу в злоякісних пухлинах ендометрію вивчені недостатньо. До цього часу не відомо, які молекулярні перебудови і типи інвазії привалюють на пізніх стадіях прогресії ЕКЕ.

Враховуючи зазначене, мета роботи полягала у вивченні зв'язків між експресією транскрипційних факторів Twist і Snail в карциномі ендометрію і показниками прогресування пухлинного процесу у хворих з I-II та III стадією захворювання.

Матеріал дослідження. Зразки операційного матеріалу 45 хворих на ендометрийдну карциному ендометрію (ЕКЕ) у віці від 32 до 78 років (середній вік $59,8 \pm 2,1$ років), які не отримували передопераційного лікування. Переважна більшість хворих 33 (73,3%) характеризувались I-II стадією пухлинного процесу і 12 (26,7%) хворих мали метастази у регіонарні лімфатичні вузли і III стадію захворювання. Усі хворі перебували на лікуванні у відділенні онкогінекології Національного інституту раку МОЗ України в період 2014 по 2018 р., не отримували передопераційної терапії і дали інформовану згоду на використання їх біологічного матеріалу для проведення наукових досліджень. Під час дослідження були дотримані усі необхідні етичні стандарти відповідно до вимог загальноновизнаних міжнародних правил у рамках Гельсінської декларації 2008 року. Методи дослідження: клінічний, морфологічний, імуногістохімічний (ІГХ), статистичний.

ІГХ виявлення біомолекулярних маркерів здійснювали на депарафінованих зрізах пухлин ендометрію, з використанням

поліклонального антитіла Twist1/Twist2 фірми «Thermo Fisher Scientific», США, каталожний №PA5-78211 і моноклонального антитіла Anti-Hu Snail, клон 20C8, фірми «Invitrogen», США. Результати ІГХ реакції оцінювали напівкількісним методом, аналізуючи у кожному препараті по 700-1000 клітин і, шляхом підрахунку кількості забарвлених клітин з ядерною локалізацією маркерів, визначали індекс мітки (ІМ, %). Експресію маркерів вважали позитивною при ІМ>1,0%. Отримані дані порівнювали з результатами наших попередніх досліджень, в яких визначали експресію маркерів ЕМП у цих самих випадках ЕКЕ [6, с. 219].

Результати дослідження. При морфологічному аналізі новоутворень (забарвлення гематоксиліном та еозином) встановлено, що досліджені пухлини були ЕКЕ різного ступеня диференціювання: 24 випадки (53,3%) помірного (G2) і 21 випадок (46,7%) низького ступеня диференціювання (G3). У 18 (40,0%) хворих спостерігались пухлини, що інвазували <1/2 міометрію і у 27 (60,0%) випадків – пухлини з глибокою (>1/2) інвазією міометрію.

Результати ІГХ дослідження показали, що позитивна експресія транскрипційного фактора Twist виявлялась у 55,3% і Snail у 37,8% зразків ЕКЕ (середні значення експресії склали відповідно $13,8 \pm 2,7\%$ і $5,4 \pm 1,6\%$).

Визначено, що позитивна експресія обох факторів транскрипції асоціювалась зі зниженою експресією Е-кадгерину і β -катенину і достовірним підвищенням експресії віментину порівняно з цими показниками у ЕКЕ з негативною експресією Twist і Snail (табл. 1).

Таблиця 1

**Зіставлення експресії маркерів ЕМП
у пухлинних клітинах ендометрію в залежності
від експресії транскрипційних факторів Twist і Snail**

Молекулярні маркери ЕМП	Середні значення експресії маркерів ЕМП, $M \pm m, \%$			
	Twist		Snail	
	позитивна	негативна	позитивна	негативна
Е-кадгерин	44,3 \pm 3,8	61,4 \pm 4,7*	57,8 \pm 4,1	65,9 \pm 4,8
β -катенін	78,6 \pm 4,2	86,3 \pm 5,4	79,5 \pm 4,9	87,8 \pm 5,1
віментин	33,9 \pm 3,4	14,6 \pm 3,1*	37,7 \pm 3,9	22,8 \pm 2,9**

Примітка. * – $p < 0,05$ порівняно з експресією відповідного маркера у пухлинах з позитивною експресією Twist; ** – $p < 0,05$ порівняно з експресією відповідного маркера у пухлинах з позитивною експресією Snail.

Отримані дані свідчать про існування взаємодії Twist і Snail з іншими білками, що беруть участь у перетворенні епітеліальних пухлинних клітин ендометрію на клітини з мезенхімальними ознаками. Поряд з цим, було виявлено різну спрямованість експресії Twist і Snail в залежності від таких показників, як ступінь диференціювання і глибина інвазії пухлини у міометрій. Було встановлено, що у пухлинах з низьким ступенем диференціювання і глибокою інвазією пухлини у міометрій експресія Twist дещо (на рівні тенденції) підвищувалась (відповідно до $16,5 \pm 4,3$ та $17,2 \pm 3,5\%$), а Snail знижувалась (відповідно до $4,7 \pm 1,9$ та $4,4 \pm 1,8\%$) порівняно з показниками у G2-пухлинах (відповідно $13,1 \pm 3,3$ та $14,1 \pm 3,9\%$), і з інвазією $<1/2$ міометрію (відповідно $6,7 \pm 2,4$ та $6,8 \pm 2,5\%$). Різна спрямованість експресії Twist і Snail може свідчити про те, що в ЕКЕ, як і в деяких злоякісних новоутвореннях іншого генезу, експресія Snail, є ознакою початкових стадій ЕМП [2, с. R88; 7, с. 87], а підвищення експресії Twist пов'язують з прогресуванням пухлинного процесу [7, с. 88].

Проте, низькою авторів було доведено, що пухлинні клітини, хоча і набувають мезенхімальних ознак, проте і не втрачають свої епітеліальні властивості назавжди і можуть існувати як у епітеліальному, мезенхіальному, так і гібридному фенотипах, що підвищує їх потенцію до утворення метастазів [4, с. 2]. На наш погляд саме цим можна пояснити отримані нами дані про значне зниження експресії Twist у пухлинах хворих з III стадією пухлинного процесу (до $1,8 \pm 0,3\%$) порівняно з експресією цього маркера у пухлинах хворих з I-II стадією ($16,7 \pm 2,8\%$, $p < 0,01$).

Поряд з цим, було встановлено, що пухлини хворих з I-II стадією захворювання, з високою експресією Twist набували морфологічного фенотипу, характерного для мезенхімальних клітин, а саме відзначалися скупченням досить мономорфних гістіоцитоподібних клітин із гіперхромними ядрами. На відміну від цього, пухлини хворих з III стадією пухлинного процесу, які у 62,5% випадків мали негативну експресію Twist, характеризувались іншим характером інвазивного росту, головною ознакою якого була інвазія міометрію великими безструктурними угрупованнями пухлинних клітин у вигляді солідних осередків та тяжів, що є морфологічним проявом колективної міграції.

Таким чином, проведене дослідження дозволило виявити зв'язок між молекулярним фенотипом за експресією маркерів ЕМП Twist і Snail в ЕКЕ і морфологічними особливостями карцином ендометрію. На підставі отриманих результатів можна припустити, що інвазування карцином ендометрію у міометрій на початкових етапах розвитку цієї

форми раку відбувається за участю ЕМП, а при подальшому прогресуванні пухлини, завдяки пластичності ЕМП [4, с. 4], можуть відбуватися зворотні процеси, які призводять до відновлення міжклітинних контактів і більш активній – колективній міграція пухлинних клітин у міометрій і метастазуванні у регіонарні лімфатичні вузли і віддалені органи.

Література:

1. Jinesh G.G., Broh A.S. The genetic script of metastasi. *Biological Reviews*. 2020. Vol. 95. P. 244-266. Doi:10.1111/brv.12562
2. Makker A., Goel M.M. Tumor progression, metastasis, and modulators of epithelial–mesenchymal transition in endometrioid endometrial carcinoma: an update. *Endocrine-Related Cancer*. 2016. Vol. 23, №2. P. 85–111. Doi:10.1530/ERC-15-0218
3. Xie X., Zheng X., Wang J., Chen L. Clinical significance of Twist, E-cadherin, and N-cadherin protein expression in endometrioid adenocarcinoma. *Journal of Cancer Research and Therapeutics*. 2017. Vol. 13. P. 817-822. Doi: 10.4103/jcrt.JCRT_405_17
4. Bhatia S., Wang P., Toh A., Thompson E.W. New insights into the role of phenotypic plasticity and EMT in driving cancer progression. *Frontiers Molecular Biosciences*. 2020. Doi: 10.3389/fmolb.2020.00071
5. «Рак в Україні, 2018-2019»: Бюлетень Національного канцер-реєстру України № 21 / Федоренко З.П., Гулак Л., Михайлович Ю., та ін.; за ред. Колеснік О.О. Київ, 2020. 102 с.
6. Nesina I.P., Iurchenko N.P., Buchynska L.G. Markers of the epithelial-mesenchymal transition in cells of endometrial carcinoma. *Exptrimental Oncology*. 2018. Vol. 40, № 3. P. 218-222.
7. Крахмаль НВ, Завьялова МВ, Савельева ОЕ. и др. Морфологические и молекулярно-генетические проявления опухолевой инвазии при раке молочной железы: монография / под ред. В.М. Перельмутера, М.В. Завьяловой. Томск: Изд-во Томского университета, 2017. 128 с.