

Л.Г. Бучинська¹
 О.В. Бресєва¹
 І.П. Несіна¹
 Н.М. Глущенко¹
 О.В. Турчак²
 Н.П. Юрченко¹

¹Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України

²Національний інститут раку МОЗ України, Київ, Україна

Ключові слова: нестабільність геному, лімфоцити периферичної крові, місметч-репарація, рак ендометрія.

ОСОБЛИВОСТІ РЕПАРАЦІЇ ДНК У ЛІМФОЦИТАХ ПЕРИФЕРИЧНОЇ КРОВІ ТА ПУХЛИННІЙ ТКАНИНИ ХВОРИХ НА РАК ЕНДОМЕТРІЯ

Мета: зіставити рівень нестабільності геному лімфоцитів периферичної крові (ЛПК) та експресію маркерів системи місметч-репарації (mismatch repair — MMR) у пухлинних клітинах аденокарцином ендометрія з клінічними характеристиками хворих та морфологічними особливостями раку ендометрія (РЕ). **Об'єкт і методи:** у роботі використано зразки пухлинної тканини та ЛПК 67 хворих на РЕ. Оцінку експресії MMR-білків MSH2 та MLH1 проводили імуногістохімічним методом. Рівень пошкоджень у ЛПК оцінювали за допомогою методу гель-електрофорезу ізольованих клітин. **Результати:** за даними імуногістохімічного аналізу всі досліджені пухлини були розподілені на MMR-дефіцитні (за відсутності експресії MSH2 та/або MLH1) та MMR-профіцитні (за наявності експресії MSH2 та MLH1). Встановлено, що MMR-дефіцитний фенотип наявний переважно у G1- та G2-карциномах із неглибокою інвазією у міометрії, тоді як MMR-профіцитний більш характерний для G3-пухлин з глибокою інвазією. Показано, що медіана кількості відрепарованих пошкоджень ДНК у ЛПК становить 63,9%, на основі чого пацієнтки були розподілені на групи з високим (> 63,9%) та низьким (< 63,9%) рівнем відрепарованих пошкоджень у ЛПК. Визначено, що у групі хворих на РЕ із високим рівнем відрепарованих пошкоджень ДНК у ЛПК кількість MMR-профіцитних карцином становила 100%, а у групі пацієнток із низьким рівнем — 78%. Крім того, у хворих на РЕ з великою кількістю відрепарованих пошкоджень ДНК у ЛПК експресія MSH2 у пухлинних клітинах була вищою (індекс мітки (ІМ) $72,0 \pm 3,1\%$) за показник у пацієнток із малою кількістю відрепарованих пошкоджень ДНК у ЛПК (ІМ $40,3 \pm 2,2\%$; $p < 0,05$). Подібна тенденція виявлена для маркера MLH1 (ІМ $66,7 \pm 8,6$ та $45,6 \pm 4,0\%$ відповідно). **Висновок:** стан репараційних процесів у ЛПК хворих на РЕ асоціюється з експресією MMR-білків MSH2 та MLH1 в аденокарциномах ендометрія, що обґрунтовує можливість застосування ЛПК як сурогатних маркерів.

ВСТУП

Згідно із сучасними уявленнями, однією з ключових характеристик пухлинних клітин є нестабільність їх геному [1]. Оскільки ендометрій належить до тканин з високою проліферативною активністю, то значну роль у підтримці цілісності геному його клітин відіграє система місметч-репарації (mismatch repair — MMR), яка виправляє некомплементарні пари основ, що у великій кількості виникають в процесі реплікації ДНК [2]. Генетичні або епігенетичні пошкодження генів цієї системи спричиняють розвиток мікросателітної нестабільності, що може бути причиною злоякісної трансформації. Крім того, система MMR задіяна у регуляції клітинної відповіді на оксидативні пошкодження ДНК [3]. Таким чином, припускають, що нестабільність геному у клітинах карцином ендометрія значною мірою може бути зумовлена дефектами у системі MMR [4, 5].

У низці досліджень показано, що генетична нестабільність властива лімфоцитам периферичної

крові (ЛПК) хворих онкологічного профілю, що проявляється у появі одно- та двониткових розривів ДНК [6–8]. Як свідчать дані літератури, нестабільність геному у ЛПК є наслідком впливу спадкових та середовищних факторів, а також чинників, безпосередньо пов'язаних із метаболічними процесами у пухлині [9, 10]. Дані досліджень останніх років, у тому числі результати власних робіт, свідчать, що ЛПК хворих на рак ендометрія (РЕ) характеризуються вираженою нестабільністю геному, яка проявляється як на нуклеотидному, так і на хромосомному рівні [11–13]. На сьогодні активно проводяться дослідження, спрямовані на зіставлення біології ЛПК та пухлини з метою встановлення причинно-наслідкових зв'язків, що визначають певні морфофункціональні характеристики малігнізованих клітин [14–17]. Питання асоціації генетичної дестабілізації у пухлинних клітинах ендометрія і ЛПК хворих на РЕ залишається недослідженим.

З урахуванням вищенаведеного мета цього дослідження полягала у зіставленні нестабільності

геному ЛПК та експресії маркерів системи репарації неспарених основ ДНК у клітинах аденокарцином ендометрія з клінічними характеристиками хворих та морфологічними особливостями пухлин.

ОБ'ЄКТ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

У роботі використано зразки пухлинної тканини та ЛПК 67 хворих на РЕ. Вік пацієток коливався у межах 46–77 років і в середньому становив $61,1 \pm 1,8$ року. Морфологічну верифікацію патологічного процесу проводили на гістологічних препаратах, забарвлених гематоксилином і еозином. Дослідницьку роботу виконували відповідно до принципів проведення біомедичних досліджень за участю людей, викладених у Гельсінській декларації Всесвітньої медичної асоціації. Для визначення експресії білків системи MMR у пухлинних клітинах застосовували імуногістохімічний метод з використанням первинних моноклональних антитіл до MSH2 (клон 25D12) та MLH1 (клон G168–15) виробництва «Diagnostic BioSystems», США. Для візуалізації білків використовували систему детекції PolyVue («Diagnostic BioSystems», США). Експресію маркерів оцінювали у 800–1000 пухлинних клітин, підраховуючи кількість забарвлених клітин у відсотках (індекс мітки — ІМ).

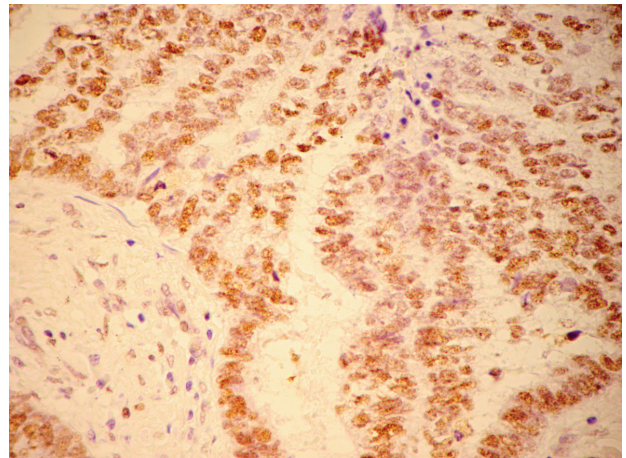
Рівень пошкодження ДНК у ЛПК визначали за допомогою методу гель-електрофорезу ізольованих клітин у модифікації, що була описана нами раніше [13]. Про стан систем репарації ДНК у ЛПК судили за кількістю відрепарованих пошкоджень ДНК, індукованих блеоміцином.

Статистичну обробку даних проводили за допомогою пакета програм Statistica 8.0 (StatSoft, Inc.) з використанням непараметричного критерію Манна — Уїтні, точного критерію Фішера (F-тест) та коефіцієнта рангової кореляції Спірмена. Достовірними вважали розбіжності при $p < 0,05$.

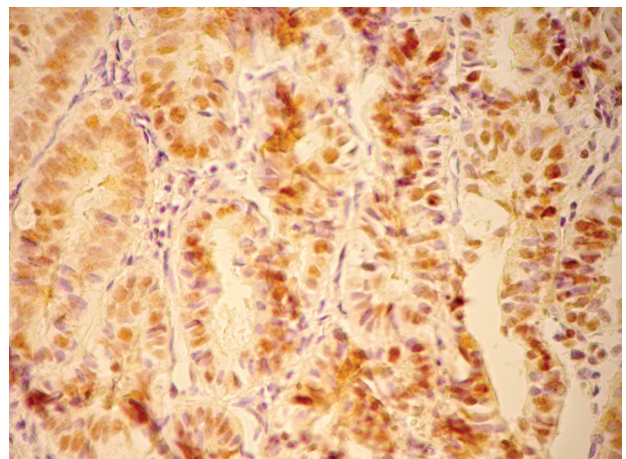
РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

При аналізі морфологічних особливостей виділених пухлин встановлено, що їх будова відповідає ендометріюідним аденокарциномам різного ступеня диференціювання: 9 — високо- (G1), 29 — помірно- (G2) та 29 — низькодиференційовані (G3) пухлини. Експресію білків MMR MSH2 та MLH1 у карциномах ендометрія представлено на рис. 1. Аналіз результатів імуногістохімічного дослідження вказаних білків системи MMR продемонстрував, що позитивна експресія маркера MSH2 наявна у 79,1% (53 із 67) випадків, а кількість пухлинних клітин, що експресують цей білок, становила у середньому $56,0 \pm 3,2\%$. Позитивна експресія MLH1 визначена у 66,2% хворих (43 із 65), причому середній рівень експресії цього маркера становив $49,0 \pm 4,0\%$. Враховуючи той факт, що відсутність хоча б одного з MMR-білків призводить до порушення функціонування всієї системи MMR, визначали різні варіанти фенотипу пухлин ендометрія за експресією білків MMR у пухлині:

MMR-дефіцитний (за відсутності обох або одного з MMR-білків) та MMR-профіцитний (за наявності обох MMR-білків) [18, 19]. Встановлено, що 45,3% досліджених карцином ендометрія були MMR-дефіцитними, 55,7% — MMR-профіцитними.



a



b

Рис. 1. Експресія білків MMR MSH2 (a) та MLH1 (б) у карциномах ендометрія. Імуногістохімічний метод, додаткове забарвлення гематоксилином Майєра. 36×400

При дослідженні кількості клітин, які експресують маркери системи MMR, у пухлинах різного ступеня диференціювання визначено, що G1- та G2-карциноми у більшості випадків (58,4%) були MMR-дефіцитними пухлинами, а у G3-пухлинах переважав (71,4%) MMR-профіцитний фенотип. Встановлено, що пухлини, у яких інвазія у міометрій становила $< \frac{1}{2}$, характеризуються в основному MMR-дефіцитним фенотипом (60,7%), в той час як карциноми з інвазією $> \frac{1}{2}$ — MMR-профіцитним (66,7%) (табл. 1).

Виявлено тенденцію до поступового зростання експресії як білка MSH2, так і білка MLH1 у міру зниження ступеня диференціювання пухлини (рис. 2). Встановлено, що експресія білка MLH1 була достовірно нижчою у пухлинах із неглибокою інвазією (ІМ $25,8 \pm 5,8\%$) порівняно з пухлинами, що проростають $> \frac{1}{2}$ міометрія (ІМ $37,7 \pm 5,2\%$) (рис. 3).

Таблиця 1

Оцінка MMR-статусу пухлин ендометрія залежно від їх клініко-морфологічних характеристик

Характеристика пухлин		Кількість пухлин		
		MMR-профіцитний фенотип	MMR-дефіцитний фенотип	Усього
Ступінь диференціювання	G1	15 (41,6%)	21 (58,4%)	36 (100%)
	G2	20 (71,4%)	8 (28,6%)*	28 (100%)
	G3	11 (39,3%)	17 (60,7%)	28 (100%)
р		р < 0,05 (F-тест)		
Глибина інвазії у міометрій	< ½	24 (66,7%)	12 (33,3%)**	36 (100%)
	> ½	11 (39,3%)	17 (60,7%)	28 (100%)
р		р < 0,05 (F-тест)		

*р < 0,05 порівняно з G1- та G2-пухлинами.

**р < 0,05 порівняно з пухлинами з інвазією у міометрій < ½.

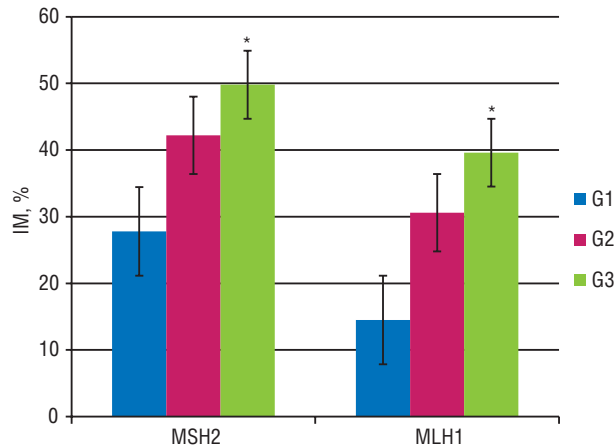


Рис. 2. Рівні експресії білків MSH2 та MLN1 у пухлинних клітинах аденокарцином ендометрія різного ступеня диференціювання. *р < 0,05 порівняно з G1-пухлинами

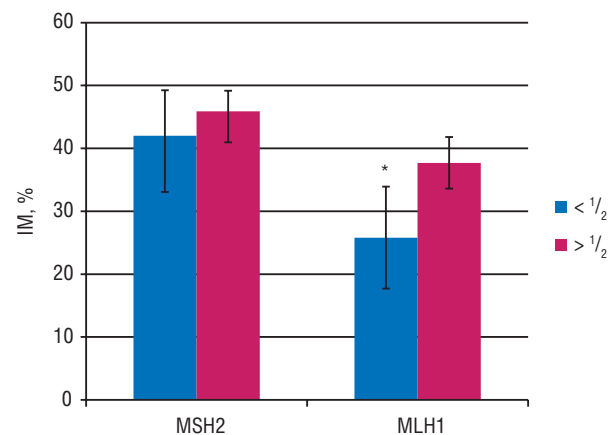


Рис. 3. Експресія білків MSH2 та MLN1 в аденокарциномах із різною глибиною інвазії пухлини у міометрій. *р < 0,05 порівняно з пухлинами з інвазією у міометрій > ½

Для з'ясування питання щодо асоціації нестабільності геному у клітинах карцином ендометрія і ЛПК хворих на РЕ доцільним було зіставити стан системи MMR у пухлинній тканині з рівнем пошкоджень ДНК та станом репараційних процесів у ЛПК. Результати нашого попереднього дослідження вказують, що кількість спонтанних пошкоджень ДНК у ЛПК хворих на РЕ знаходилася в межах 2,5–15,6% ДНК у хвості комети [13]. На основі цих даних визначено медіану кількості ДНК у хвості комети, яка стано-

вила 5,3%. Враховуючи останнє, сформовано дві групи хворих на РЕ: з високим (вище медіани) та низьким (нижче медіани) рівнем спонтанних пошкоджень ДНК у ЛПК. При зіставленні експресії білків репарації MSH2 та MLN1 у пухлинній тканині хворих цих груп встановлено, що у 80% пацієток із низьким рівнем спонтанних пошкоджень ДНК у ЛПК наявні MMR-профіцитні карциноми ендометрія, в той час як серед хворих з високим рівнем спонтанних пошкоджень ДНК кількість таких пухлин була меншою (69,2%). Слід зазначити, що кількість пухлинних клітин, які експресують MSH2 і MLN1, майже не відрізнялася у цих двох групах (табл. 2).

Таблиця 2

Зіставлення експресії білків системи MMR залежно від рівня спонтанних пошкоджень ДНК у ЛПК хворих на РЕ

Рівень спонтанних пошкоджень ДНК у ЛПК	Кількість пухлинних клітин, які експресують маркери MMR, М ± m, %	
	MSH2	MLN1
Високий (> Me)	47,2 ± 2,9	38,9 ± 4,1
Низький (< Me)	42,1 ± 2,4	40,7 ± 1,2

Для оцінки стану систем репарації у ЛПК визначали кількість відрепарованих пошкоджень ДНК, розраховуючи різницю між кількістю індукованих блеоміцином пошкоджень та кількістю пошкоджень, що залишилися невідновленими після інкубації ЛПК у середовищі без блеоміцину і проходження процесів репарації. Згідно з даними, отриманими нами у роботі [13], рівень відрепарованих пошкоджень був у діапазоні 25,8–76,5% ДНК у хвості комети, а значення медіани становило 63,9%, на основі чого було сформовано дві групи хворих на РЕ: з малою (вище медіани) та великою (нижче медіани) кількістю відрепарованих пошкоджень ДНК у ЛПК. Визначено, що при високому рівні відрепарованих пошкоджень ДНК у ЛПК білки MSH2 та MLN1 експресувалися у всіх пухлинах ендометрія, тобто кількість MMR-профіцитних карцином становила 100%. Однак у групі пацієток із РЕ з низьким рівнем репараційних процесів у ЛПК експресія обох MMR-білків визначалася у 78,0% карцином ендометрія. Кількість пухлинних клітин, які експресують MSH2, у хворих на РЕ з високим рівнем відрепарованих пошкоджень ДНК у ЛПК становила 72,0 ± 3,1% і була достовірно вищою за цей показник у пацієток із низьким рівнем відрепарованих пошкоджень у ЛПК (ІМ 40,3 ± 2,2%; р < 0,05) (табл. 3). При дослідженні експресії білка MLN1 виявлено подібну тенденцію до підвищення рівня експресії зі зростанням кількості відрепарованих пошкоджень у лімфоцитах.

Таблиця 3

Зіставлення експресії MSH2 та MLN1 у пухлинах хворих на РЕ з рівнем відрепарованих пошкоджень ДНК у ЛПК

Рівень відрепарованих пошкоджень ДНК у ЛПК	Кількість пухлинних клітин, які експресують маркери MMR, %	
	MSH2	MLN1
Високий	72,0 ± 3,1*	66,7 ± 8,6
Низький	40,3 ± 2,2	45,6 ± 4,0

*р < 0,05 порівняно з групою хворих на РЕ із низьким рівнем відрепарованих пошкоджень у ЛПК.

При визначенні коефіцієнта рангової кореляції Спірмена між кількістю відрепарованих пошкоджень ДНК у ЛПК хворих на РЕ та експресією маркера MSH2 у пухлині встановлено позитивний помірний зв'язок ($r = 0,57$; $p = 0,04$).

Наведені вище результати дослідження свідчать, що активність репараційних процесів у ЛПК асоціюється з такими біологічними характеристиками РЕ, як експресія білків репарації у пухлинній тканині, ступінь диференціювання та глибина інвазії пухлини у міометрії, що дозволяє припустити потенційну можливість використання ЛПК як сурогатних маркерів. Актуальність досліджень, спрямованих на зіставлення змін, які відбуваються на рівні ЛПК та пухлини, підкреслювалася в низці публікацій [16, 17]. Проте наразі не існує єдиної думки щодо коректності використання поняття «сурогатний маркер» стосовно ЛПК, і результати досліджень, присвячених цій проблемі, є досить суперечливими. Так, Y.Y. Zhang і K.S. Gu повідомили про те, що експресія білка репарації ERCC1 у ЛПК корелює з його експресією у клітинах пухлинної тканини шлунка, що дозволяє припустити відповідність ефективності репарації у циркулюючих лімфоцитах та малігнізованих клітинах [15]. Водночас результати, одержані іншими дослідниками, не підтверджують це припущення. М. Негрега та співавтори, досліджуючи активність репараційних процесів у ЛПК та пухлинній тканині товстого кишечника, не виявили кореляції між ними [14]. Відсутність відповідності між ефективністю репарації у ЛПК та пухлинних клітинах автори пояснюють відмінностями у швидкості проліферації та різною активністю метаболічних процесів у лімфоцитах та епітеліальних клітинах. Однак результати дослідження М. Негрега та співавторів свідчать, що ефективність репарації є вищою у пухлинних клітинах порівняно з немалігнізованими клітинами товстого кишечника.

Окремо слід зазначити, що репарація пошкоджень ДНК, індукованих блеоміцином, переважно відбувається шляхом ексцизійної репарації основ (BER) та нуклеотидів (NER), тобто стан репараційних процесів, які ми досліджували у ЛПК, визначається головним чином сумарною дією цих двох систем [20, 21]. Крім того, у пухлинній тканині оцінювали експресію білків системи репарації неспарених основ ДНК — MMR. Таким чином, постає питання щодо коректності зіставлення і пошуку кореляції між репараційними процесами, які визначаються різними системами. Виявлена нами у хворих на РЕ відповідність між функціонуванням різних систем репарації у ЛПК та пухлинній тканині може бути обґрунтована існуванням спільних шляхів регуляції їх активності, зокрема р53-опосередкованого шляху, оскільки відомо, що багато генів, які кодують основні білки різних систем репарації, є мішенями для р53 [22–28]. Так, згідно з останніми даними, р53 є одним з ключових регуляторів системи BER [22]. Крім того, відомо, що р53 здатен індукувати експресію

білків XPE/DDB2, XPC, що належать до системи NER, а також таких MMR-білків, як MSH2, PCNA, MLH1 та PMS2 [23–28].

Слід зазначити, що р53-опосередкована індукція експресії білків системи MMR може бути однією з причин виявленого нами зростання рівня MSH2 та MLH1 у G2- та G3-карциномах та у пухлинах із глибокою інвазією, оскільки, відповідно до наших попередніх досліджень, експресія онкосупресора р53 зростає при зниженні ступеня диференціювання РЕ [29]. Разом з тим не виключено, що зростання експресії MMR-білків може бути пов'язане з високою проліферативною активністю G3-пухлин.

Таким чином, у результаті проведеного дослідження встановлено, що експресія білків репарації неспарених пар основ MSH2 та MLH1 в аденокарциномах ендометрія залежить від ступеня диференціювання і глибини інвазії пухлини у міометрії та асоціюється зі станом репараційних процесів у ЛПК хворих на РЕ. При високій ефективності репарації у ЛПК відзначають підвищений рівень експресії досліджених білків у пухлинній тканині, що обґрунтовує можливість застосування ЛПК як сурогатних маркерів стану репараційних процесів в аденокарциномах ендометрія.

ВИСНОВКИ

1. Встановлено, що стан системи MMR в аденокарциномах ендометрія залежить від ступеня диференціювання та глибини інвазії пухлини у міометрії.

2. Визначено, що стан репараційних процесів у ЛПК хворих на РЕ асоціюється з експресією білків репарації неспарених пар основ MSH2 та MLH1 в аденокарциномах ендометрія, що дозволяє припустити потенційну можливість використання ЛПК як сурогатних маркерів.

Роботу виконано в рамках цільової програми наукових досліджень ВБФМБ НАН України «Функціональна геноміка і метаболоміка в системній біології» (номер державної реєстрації теми 0112U002192; 2012–2016 рр.).

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* 2011; **144** (5): 646–74.
2. Chao EC, Lipkin SM. Molecular models for the tissue specificity of DNA mismatch repair-deficient carcinogenesis. *Nucleic Acids Res* 2006; **34** (3): 840–52.
3. Bridge G, Rashid S, Martin SA. DNA mismatch repair and oxidative DNA damage: implications for cancer biology and treatment. *Cancers (Basel)* 2014; **6** (3): 1597–614.
4. Pena-Diaz J, Bregenhorn S, Ghodgaonkar M, et al. Non-canonical mismatch repair as a source of genomic instability in human cells. *Mol Cell* 2012; **47** (5): 669–80.
5. Jeggo PA, Pearl LH, Carr AM. DNA repair, genome stability and cancer: a historical perspective. *Nat Rev Cancer* 2016; **16** (1): 35–42.
6. Najafzadeh M, Baumgartner A, Gopalan R, et al. *In vitro* sensitivities to UVA of lymphocytes from patients with colon and melanoma cancers and precancerous states in the micronucleus and the Comet assays. *Mutagenesis* 2012; **27** (3): 351–7.

7. Santos RA, Teixeira AC, Mayorano MB, *et al.* Basal levels of DNA damage detected by micronuclei and comet assays in untreated breast cancer patients and healthy women. *Clin Exp Med* 2010; **10** (2): 87–92.

8. Walczak A, Rusin P, Dziki L, *et al.* Evaluation of DNA double strand breaks repair efficiency in head and neck cancer. *DNA Cell Biol* 2012; **31** (3): 298–305.

9. Smith TR, Miller MS, Lohman KK, *et al.* DNA damage and breast cancer risk. *Carcinogenesis* 2003; **24** (5): 883–9.

10. Kryston TB, Georgiev AB, Pissis P, *et al.* Role of oxidative stress and DNA damage in human carcinogenesis. *Mutat Res* 2011; **711** (1–2): 193–201.

11. Krupa R, Sobczuk A, Poplawski T, *et al.* DNA damage and repair in endometrial cancer in correlation with the *hOGG1* and *RAD51* genes polymorphism. *Mol Biol Rep* 2011; **38** (2): 1163–70.

12. Nesina IP, Iurchenko NP, Nespriyko SV, *et al.* The study of chromosomal instability in patients with endometrial cancer. *Exp Oncol* 2014; **36** (3): 202–6.

13. Buchynska L, Brieieva O, Glushchenko N, *et al.* DNA repair deficiency in peripheral blood lymphocytes of endometrial cancer patients with a family history of cancer. *BMC Cancer* 2014; **14**: 765.

14. Herrera M, Dominguez G, Garcia JM, *et al.* Differences in repair of DNA cross-links between lymphocytes and epithelial tumor cells from colon cancer patients measured *in vitro* with the comet assay. *Clin Cancer Res* 2009; **15** (17): 5466–72.

15. Zhang YY, Gu KS. DNA repair capacity in peripheral blood lymphocytes predicts efficacy of platinum-based chemotherapy in patients with gastric cancer. *Asian Pac J Cancer Prev* 2013; **14** (9): 5507–12.

16. Li C, Wang LE, Wei Q. DNA repair phenotype and cancer susceptibility — a mini review. *Int J Cancer* 2009; **124** (5): 999–1007.

17. Wu X, Gu J, Spitz MR. Mutagen sensitivity: a genetic predisposition factor for cancer. *Cancer Res* 2007; **67** (8): 3493–5.

18. Stone J, Robertson D, Houlston R. Immunohistochemistry for MSH2 and MLH1: a method for identifying mismatch repair deficient colorectal cancer. *J Clin Pathol* 2001; **54** (6): 484–7.

19. McConechy MK, Talhouk A, Li-Chang HH, *et al.* Detection of DNA mismatch repair (MMR) deficiencies by immunohistochemistry can effectively diagnose the microsatellite instability (MSI) phenotype in endometrial carcinomas. *Gynecol Oncol* 2015; **137** (2): 306–10.

20. Lopex-Larrazza D, DeLucca JC, Bianchi NO. The kinetics of DNA damage by bleomycin in mammalian cells. *Mutat Res* 1990; **232** (1): 57–61.

21. Laczmanska I, Gil J, Karpinski P, *et al.* Polymorphism in nucleotide excision repair gene XPC correlates with bleomycin-induced chromosomal aberrations. *Environ Mol Mutagen* 2007; **48** (8): 666–71.

22. Poletto M, Legrand AJ, Fletcher SC, *et al.* p53 coordinates base excision repair to prevent genomic instability. *Nucleic Acids Res* 2016; **44** (7): 3165–75.

23. Hwang BJ, Ford JM, Hanawalt PC, *et al.* Expression of the p48 xeroderma pigmentosum gene is p53-dependent and is involved in global genomic repair. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; **96** (2): 424–8.

24. Adimoolam S, Ford JM. p53 and DNA damage-inducible expression of the xeroderma pigmentosum group C gene. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; **99** (20): 12985–90.

25. Scherer SJ, Maier SM, Seifert M, *et al.* p53 and c-Jun functionally synergize in the regulation of the DNA repair gene hMSH2 in response to UV. *J Biol Chem* 2000; **275** (48): 37469–73.

26. Xu J, Morris GF. p53-mediated regulation of proliferating cell nuclear antigen expression in cells exposed to ionizing radiation. *Mol Cell Biol* 1999; **19** (1): 12–20.

27. Chen J, Sadowski I. Identification of the mismatch repair genes PMS2 and MLH1 as p53 target genes by using serial analysis of binding elements. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; **102** (13): 4813–8.

28. Shimodaira H, Yoshioka-Yamashita A, Kolodner RD, *et al.* Interaction of mismatch repair protein PMS2 and the p53-related transcription factor p73 in apoptosis response to cisplatin. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; **100** (5): 2420–5.

29. Buchynska LG, Nesina IP. Expression of the cell cycle regulators p53, p21^{WAF1/CIP1} and p16^{INK4A} in human endometrial adenocarcinoma. *Exp Oncol* 2006; **28** (2): 152–5.

PECULIARITIES OF DNA REPAIR IN PERIPHERAL BLOOD LYMPHOCYTES AND TUMOR TISSUE OF ENDOMETRIAL CANCER PATIENTS

L.G. Buchynska, O.V. Brieieva, I.P. Nesina, N.M. Glushchenko, O.V. Turchak, N.P. Iurchenko

Summary. Aim: to compare the level of genomic instability in peripheral blood lymphocytes (PBL) and the expression of mismatch-repair (MMR) proteins in endometrial carcinoma cells with clinical characteristics of endometrial cancer (EC) patients and tumor morphological features. **Object and methods:** evaluation of MMR-proteins MSH2 and MLH1 expression was performed by immunohistochemical method. DNA repair efficiency in PBL was assessed by comet assay. **Results:** according to immunohistochemical analysis all examined tumors were divided into MMR-deficient (absence of MSH2 and/or MLH1) and MMR-proficient (presence of both MSH2 and MLH1). MMR-deficient phenotype was observed mainly in G1- and G2-carcinomas with shallow myometrial invasion, while MMR-proficient was more typical for G3-tumors with deep invasion. Median number of recovered DNA damage in PBL was 63.9% and on this basis all patients were assigned to groups with high (> 63.9%) and low (< 63.9%) DNA repair efficiency in PBL. It was shown that in EC patients with DNA repair efficiency in PBL the number of MMR-proficient carcinomas was 100%, while in patients with low level it was 78%. In addition, EC patients with high level of recovered DNA in PBL had stronger MSH2 expression (label index (LI) 72,0 ± 3,1%) than EC patients with low level (LI 40,3 ± 2,2%). A similar trend was found for the MLH1 (LI 66,7 ± 8,6 and 45,6 ± 4,0%, respectively). **Conclusion:** DNA repair efficiency in PBL of EC patients is associated with expression of MMR-proteins MLH1 and MSH2 that confirms the possibility of using PBL as surrogate markers.

Key Words: genome instability, peripheral blood lymphocytes, mismatch-repair, endometrial cancer.

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: 07.11.2016