

Л.Г. Бучинська
Н.П. Юрченко
І.П. Несіна
Н.М. Глущенко

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

Ключові слова: реплікативний стрес, ендометріодна карцинома ендометрію, експресія мРНК генів *ATM*, *ATR*, *CHEK1/2*, *FANCD2*, *BRCA1*, біоінформатичні бази даних.

БІЛКИ РЕПЛІКАТИВНОГО СТРЕСУ ЯК ПОТЕНЦІЙНІ ПРОГНОСТИЧНІ МАРКЕРИ РЕЦИДИВУВАННЯ ЕНДОМЕТРІОЇДНОЇ КАРЦИНОМИ ЕНДОМЕТРІЮ У ХВОРИХ З I СТАДІЄЮ ЗАХВОРЮВАННЯ

Мета: на основі біоінформатичного аналізу експресії маркерів, асоційованих з реплікативним стресом, оцінити їх значення у прогресуванні ендометріодної карциноми ендометрію (ЕКЕ). **Об'єкт і методи:** дослідження експресії мРНК генів *ATR*, *ATM*, *CHEK1/2*, *FANCD2*, *BRCA1* проведено за допомогою вебінструмента GEPIA. Біоінформатичні бази даних STRING v. 11.5 і FunCoipr v. 5.0 використано для прогностичного моделювання міжгенної взаємодії досліджених генів. **Результати:** при інтерактивному аналізі профілю експресії генів, як у ЕКЕ, так і в нормальних тканинах виявлено, що експресія *CHEK1/2*, *FANCD2* і *BRCA1* була вищою при ЕКЕ порівняно з нормальними тканинами. Проте експресія *ATR* і *ATM* була значно нижчою в ЕКЕ, ніж в альтернативній групі, що може свідчити про порушення функціонування зазначених генів. Визначено потенційно значущі біомаркери нестабільності геному, асоційовані з реплікативним стресом *ATR*, *ATM*, *CHEK1/2*, *FANCD2* і *BRCA1*, що відображають такі біологічні процеси, як реплікація та репарація ДНК. **Висновки:** встановлені високопрогнозовані асоціації між дослідженими біомаркерами *ATM*, *ATR*, *CHEK1/2*, *FANCD2*, *BRCA1* дають підставу для подальшої їх оцінки як інформативних показників, асоційованих з реплікативним стресом, у прогресуванні ЕКЕ хворих з I стадією пухлинного процесу.

За даними онкоепідеміологічних досліджень, рак ендометрію (РЕ) є найпоширенішим серед гінекологічних новоутворень у жінок в багатьох розвинених країнах світу, у тому числі й в Україні [1, 2]. До того ж спостерігається тенденція до щорічного зростання захворюваності на цю патологію не тільки серед жінок менопаузального періоду. У 3–14% випадків РЕ виявляють у пацієнок до 40 років [3, 4].

Незважаючи на те що у 80% випадків РЕ за гістологічним варіантом є ендометріодною карциномою ендометрію (ЕКЕ), яку діагностують на ранніх стадіях і загальна 5-річна виживаність пацієнок становить 74–95%, проте майже у 7–20,0% хворих з I стадією захворювання в період від 6 міс до 3 років після лікування спостерігається рецидивування пухлинного процесу і розвиваються метастази [5–8].

Однією з причин неефективності лікування хворих на ЕКЕ є біологічна гетерогенність пухлинних клітин ендометрію навіть у межах однієї морфологічної форми. Саме проблема варіабельності ЕКЕ як за клініко-морфологічними властивостями, так і за молекулярно-біологічними характеристиками ускладнює діагностичний процес. Тому поглиблені дослідження на рівні геному і протеому є вельми актуальними, оскільки можуть забезпечити ар-

гументоване підґрунтя для детекції високоагресивних підтипів цієї форми раку. Однією з основних характеристик пухлинних клітин є геномна нестабільність, яка може бути первинною або виникає внаслідок впливу екзо- та ендогенних факторів, у результаті чого відбувається активація онкогенів та інактивація генів-супресорів. При цьому ключову роль у генерації зазначених змін відіграє так званий реплікативний стрес ДНК — ситуація, за якої порушується реплікація ДНК, що призводить до пошкодження та накопичення одно- та дволанцюгових розривів [10–12].

Важливими маркерами реплікативного стресу є *ATM*- і *ATR*-кінази, які, активуючись на пошкодження ДНК, фосфорилують *FANCD2*. Останній, у свою чергу, сприяє активації *BRCA1* на шляху *FA/BRCA*, що є важливим сигнальним каскадом як у відновленні пошкоджень ДНК, так і для стабілізації «вилок» реплікації [11].

Протеїнкінази *ATR* і *ATM* беруть участь не тільки в процесах реплікації і репарації, але також є компонентами сигнальних шляхів (*ATR-CHEK1* та *ATM-CHEK2*). Так, чекпойнт-кінази *CHEK1* (*ATR*-залежна) та *CHEK2* (*ATM*-залежна) у разі пошкодження ДНК запускають каскади сигнальних шля-

хів, що зупиняють клітинний цикл у S- і G2/M-фазі, а у разі виникнення дефектів ініціюють апоптоз [12].

Рядом авторів показано, що злаякісна трансформація епітеліальних клітин, у тому числі клітин ендометрію, може виникати внаслідок ампліфікації онкогенів *C-MYC*, *CCNE1* і мутації *K-RAS* з одночасною зміною експресії генів, що відповідають за репарацію ДНК — *ATR*, *CHEK1*, *BRCA1*, *FANCD2* тощо. Тобто за умови неспроможності системи репарації у пухлинних клітинах зростає генетична нестабільність, що призводить до неконтрольованої проліферації та подальшого виникнення біологічно поліморфних клонів пухлинних клітин з підвищеним інвазивним/метастатичним потенціалом і резистентних до хіміо- та променевої терапії [13, 14].

Відомо, що в основі гетерогенності морфологічних і молекулярних особливостей злаякісних пухлин (60–80%) лежить генетична нестабільність, яка виникає внаслідок порушення реплікації ДНК та репарації помилок сегрегації хромосом, що може проявлятися як кількісними, так і структурними абераціями хромосом, включаючи анеуплоїдію, поліплоїдію, та зміною копійності генів, підвищенням фрагільних сайтів хромосом та ін. [15–19].

За даними літератури, показано, що у пухлинних клітинах і лімфоцитах периферичної крові хворих на РЕ спостерігається виражена хромосомна нестабільність, пов'язана з порушенням роботи генів системи репарації MMR. Ці зміни супроводжуються підвищенням рівнем одно- та дwonиткових розривів ДНК, аберацій хромосом та фрагільних сайтів хромосом, гіперчутливістю до впливу генотоксичних агентів різної природи, що асоціюється з агресивністю пухлинного процесу [20–23].

Важливе значення у прогресії неоплазій мають порушення процесу реплікації (реплікаційний стрес) та ефективність функціонування системи репарації пошкоджень ДНК. Суттєвою в реалізації цих процесів є експресія наступних маркерів: *ATR*, *ATM*, *CHEK1/2*, *FANCD2*, *BRCA1*, значення яких у маніфестації злаякісності РЕ до цього часу вивчено недостатньо. Тому застосування біоінформатичних інтернет-ресурсів для встановлення ролі експресії маркерів як індукторів геномних пошкоджень в клітинах РЕ, асоційованих з реплікативним стресом, є актуальним завданням сучасних досліджень та інновацій у галузі онкології [24].

Мета дослідження: на основі біоінформатичного аналізу експресії маркерів, асоційованих з реплікативним стресом, оцінити їх значення у прогресуванні ЕКЕ.

ОБ'ЄКТ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

На основі біоінформатичного аналізу відкритих баз даних, у яких представлена інформація щодо молекулярних особливостей нормальних та пухлинних клітин ендометрію, було проведено інтерактивний аналіз експресії мРНК генів, асоційованих з реплікативним стресом — *ATR*, *CHEK1/2*,

ATM, *FANCD2*, *BRCA1*. Використано інтерактивний вебінструмент GEPIA (<http://gepia.cancer-pku.cn/>), що дозволяє проводити оцінку експресії генів на основі порівняння нормальних і пухлинних зразків РЕ, інтегрованих з бази даних TCGA і GTEx. Аналіз мережі передбачених асоціацій досліджених генів проводили з використанням біоінформатичної бази даних STRING v.11.5 (<https://www.string-db.org/>). Окрім того, пошук потенційних взаємодій досліджених білків проведено з використанням бази даних та алгоритму FunCoup v.5.0 (<https://funcoup5.scilifelab.se/>).

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

З використанням інтерактивного вебінструмента GEPIA проведено аналіз експресії панелі маркерів реплікативного стресу у зразках незмінної тканини (91 зразок) та карциноми ендометрію (174 зразок). При цьому встановлено, що в карциномі ендометрію експресія гена *ATR*, який контролює «вилку» реплікації та запобігає виникненню одноланцюгових розривів ДНК має тенденцію до зниження на рівні мРНК порівняно з незмінною тканиною ендометрію. Аналогічна спрямованість змін спостерігалася під час оцінки експресії гена *ATM*, який зупиняє проходження клітинного циклу у разі виникнення дволанцюгових розривів ДНК. Визначені зміни вірогідно свідчать про порушення контролю за процесами реплікації ДНК у клітинах ЕКЕ (рис. 1 а, б).

Водночас спостерігається зростання рівня експресії генів *CHEK1/2* у клітинах ЕКЕ порівняно з нормою. Отримані дані узгоджуються з висновками ряду авторів, які показали, що експресія *CHEK1* може підвищуватися при раку молочної залози та колоректальному раку порівняно з прилеглими нормальними тканинами [25, 26]. Дослідження продемонструвало, що ген *CHEK1* неоднаково експресується в новоутвореннях різного генезу. Так, знижена експресія мРНК гена *CHEK1* є несприятливим прогностичним фактором для хворих на колоректальний та рак шлунка. Встановлено нижчу виживаність пацієнтів з високою експресією гена *CHEK1* при раку мозку, легені, яєчника і молочної залози порівняно з пухлинами з низькою експресією *CHEK1* [27].

Відомо, що гени *CHEK1* і *CHEK2* активуються відповідно *ATM*- і *ATR*-залежною протеїнкіназою та регулюють експресію важливих білків репарації *FANCD2* і *BRCA1*, які задіяні як в регуляції клітинного циклу, так і репарації одно- та дволанцюгових розривів ДНК [28].

Згідно з даними інтерактивного аналізу профілю експресії генів *FANCD2*, *BRCA1* та *CHEK1/2* у клітинах РЕ виявлено більш високий рівень таких показників у пухлинах порівняно з нормальними тканинами. Натомість показники експресії *ATM* і *ATR* були значно нижчими у пухлинах ендометрію по-

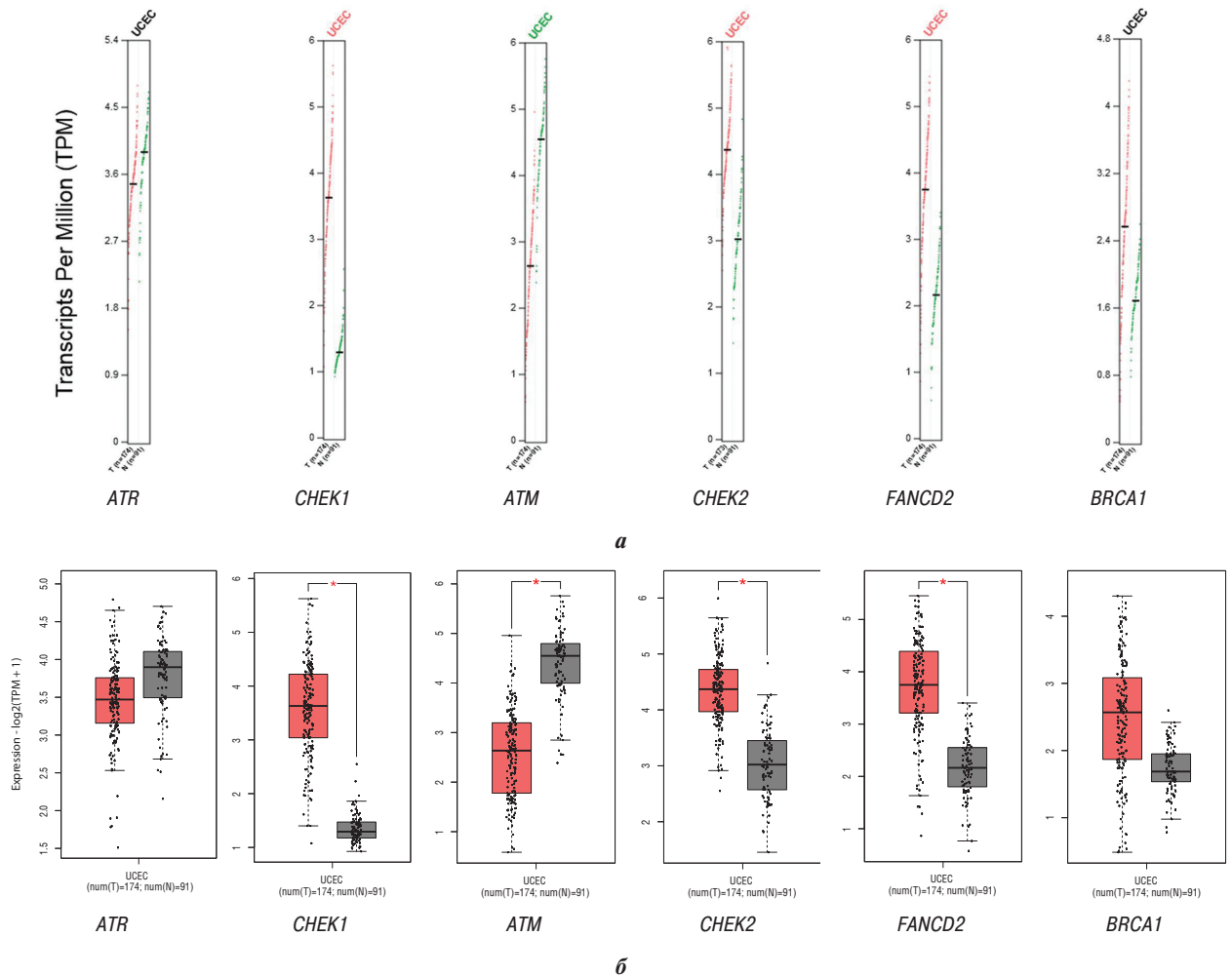


Рис. 1. Експресія генів *ATR*, *ATM*, *CHEK1/2*, *FANCD2*, *BRCA1* на рівні мРНК у клітинах карциноми (Т) та незміненого ендометрію (N): TCGA database (а) і GTEx projects (б). * — $p < 0,05$ порівняно з незміненим ендометрієм

рівняно з незміненою тканиною, що вірогідно відображає дисфункцію репарації ДНК (див. рис. 1).

За даними багатоцентрових досліджень, злоякісні новоутворення ендометрію у хворих з I стадією захворювання були гетерогенними як за біологічними особливостями, так і за ризиком прогресування пухлинного процесу [5]. Відомо, що ступінь диференціювання і глибина інвазії пухлини є критично значущими факторами в оцінці прогнозу та призначення ефективного лікування хворим на ЕКЕ [29, 30].

Наведене аргументує важливість оцінки рівня експресії генів *ATR*, *ATM*, *CHEK1/2* (сигналінг АТМ/АТР—СЕК1/2) і *FANCD2* та *BRCA1* (сигналінг FANС—BRCA) в карциномах ендометрію залежно від стадії пухлинного процесу (рис. 2). Показано варіабельність експресії досліджених генів залежно від стадій пухлинного процесу. При цьому з'ясувалося, що експресія *ATR* у клітинах ЕКЕ мала тенденцію до підвищення при стадії III порівняно зі стадіями I і II.

Встановлено, що рівень мРНК *CHEK1* корелює зі стадіями захворювання пацієнтів з ЕКЕ ($p = 0,048$). Детальний аналіз експресії *CHEK1* в суб-

типах карцином ендометрію виявив, що при IC стадії (інвазія $>1/2$ пухлини у міометрій) її значення аналогічні до таких при стадії III.

Під час дослідження експресії *ATM* встановлено її зниження, а *FANCD2* та *BRCA1* — зростання. Ці зміни вірогідно відображають активацією таких механізмів репарації ДНК, як гомологічна рекомбінація та ексцизійна репарація нуклеотидів. Поряд із зазначеним встановлено, що рівень експресії *ATR*, *ATM*, *BRCA1* та *FANCD2* в карциномах ендометрію хворих з IC стадією подібний до їх показників у ЕКЕ з поширеними стадіями пухлинного процесу.

Важливою властивістю білка FANCD2 є його спроможність формувати в сайтах пошкодження ДНК репараційні комплекси з іншими білками, такими як BRCA1, BRCA2, ATR, CHEK1 і ATM, активуючи таким чином шлях репаративної гомологічної рекомбінації [31–34]. Для аналізу виявлення функціональних зв'язків між білками, що кодуються наведеними генами, було використано біоінформатичний вебінструмент STRING v.11.5, що інтегрує набори даних з певною інформацією про взаємодію цих генів. Також створено від-

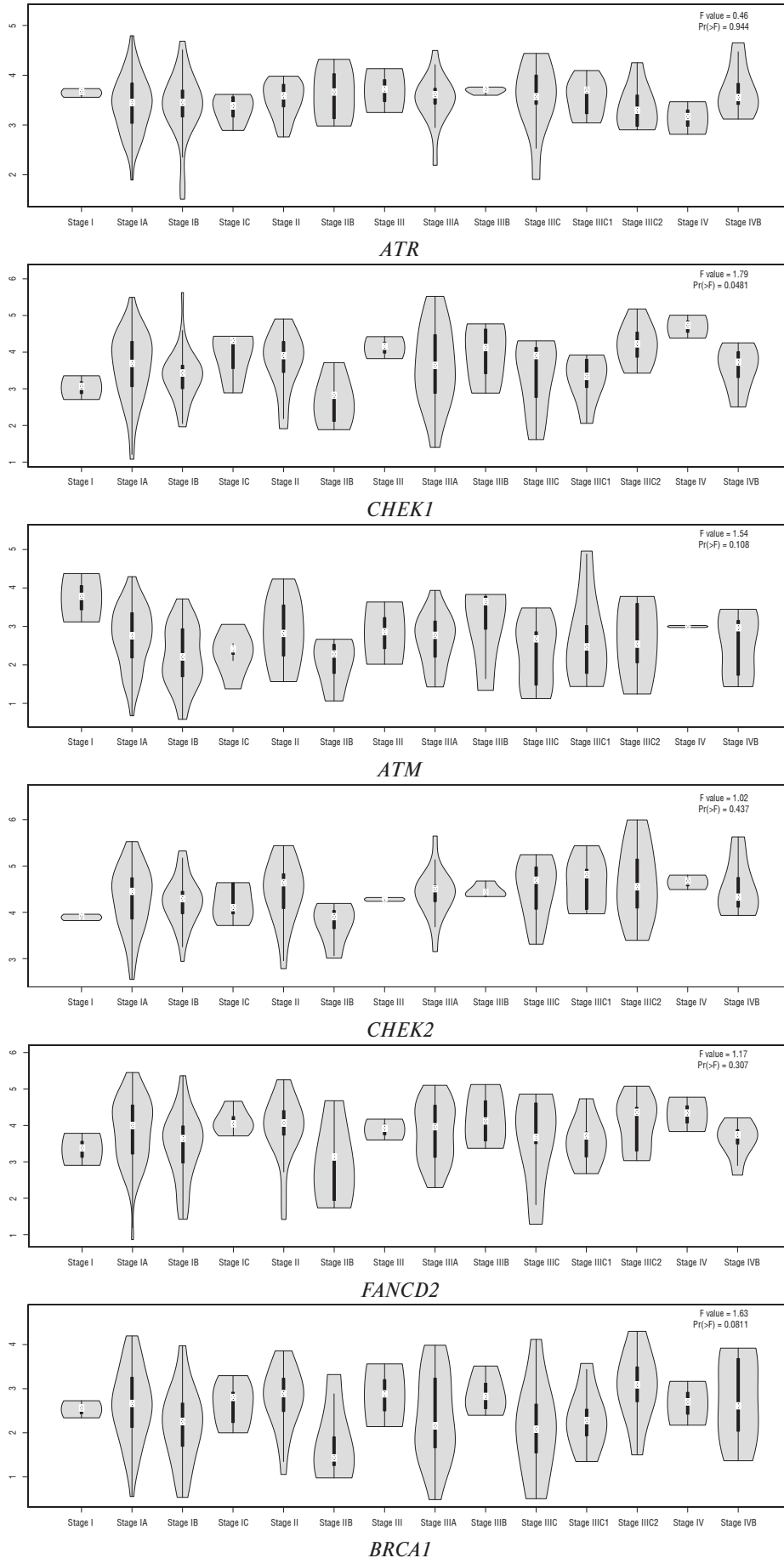


Рис. 2. Особливості експресії генів *ATR*, *CHEK1/2*, *ATM*, *FANCD2* та *BRCA1* на рівні мРНК у хворих на ЕКЕ залежно від стадії пухлинного процесу (за даними бази даних GEPiA)

повідний інтерактом з високими коефіцієнтами взаємодії (score >0,700). Продемонстровано, що компоненти шляхів $ATR \leftrightarrow CHEK1$, $ATR \leftrightarrow CHEK2$, $ATM \leftrightarrow CHEK2$, $CHEK2 \leftrightarrow BRCA1$, $ATM \leftrightarrow BRCA1$, $FANCD2 \leftrightarrow BRCA1$ взаємопов'язані між собою з найбільш високою достовірністю (score = 0,999). Встановлено також наступні зв'язки: $ATM \leftrightarrow ATR$ (0,998), $ATM \leftrightarrow CHEK1$ (0,998), $ATR \leftrightarrow BRCA1$ (0,996), $ATM \leftrightarrow FANCD2$ (0,993), $CHEK1 \leftrightarrow FANCD2$ (0,992), $ATR \leftrightarrow FANCD2$ (0,988), $CHEK1 \leftrightarrow BRCA1$ (0,987), $CHEK1 \leftrightarrow CHEK2$ (0,974), $CHEK2 \leftrightarrow FANCD2$ (0,802) (рис. 3).

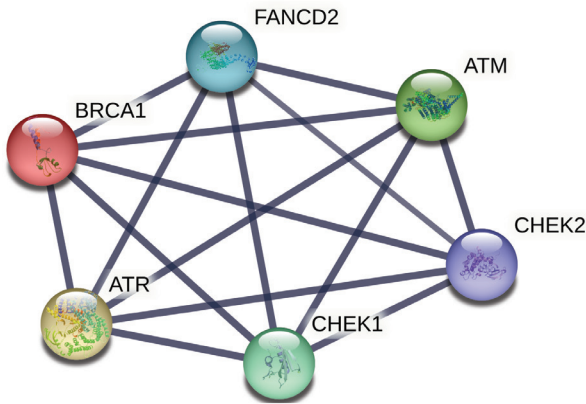


Рис. 3. Аналіз функціональних зв'язків між генами *ATR*, *ATM*, *CHEK1/2*, *FANCD2* та *BRCA1* (STRING v.11.5)

Аналогічні достовірні (confidence >0,7) зв'язки експресії досліджених маркерів було визначено і під час застосування іншого методу біоінформатичного прогнозування (FunCoup v.5.0). Виявлено наступні асоціації між парами генів: $ATM \leftrightarrow ATR$ (confidence = 1,000), $ATR \leftrightarrow CHEK2$ (0,998), $FANCD2 \leftrightarrow BRCA1$ (0,995), $CHEK1 \leftrightarrow BRCA1$ (0,993), $ATM \leftrightarrow FANCD2$ (0,992), $CHEK2 \leftrightarrow BRCA1$ (0,991), $ATM \leftrightarrow CHEK2$ (0,987), $ATR \leftrightarrow FANCD2$ (0,980), $ATR \leftrightarrow CHEK1$ (0,960), $CHEK1 \leftrightarrow FANCD2$ (0,744), $ATR \leftrightarrow BRCA1$ (0,729) (рис. 4).

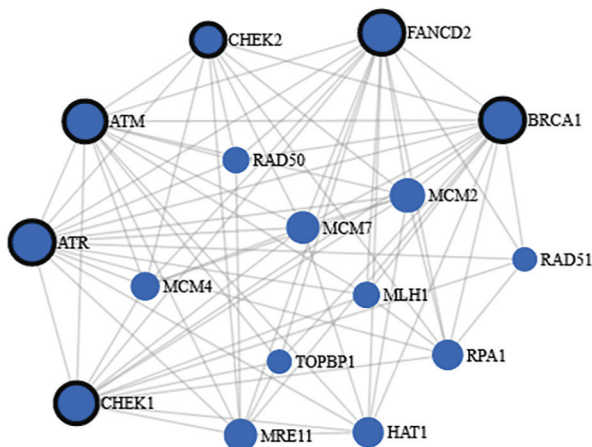


Рис. 4. Оцінка функціональних зв'язків між генами *ATR*, *CHEK1/2*, *ATM*, *FANCD2* та *BRCA1* (FunCoup v.5.0)

Таким чином, біоінформатичний аналіз відкритих баз даних дозволив встановити високопрогнозовані зв'язки між асоційованими з реплікативним

стресом білками *ATR*, *CHEK1/2*, *ATM*, *FANCD2* та *BRCA1* і відмінності експресії мРНК генів, що продукують ці білки в незмінній тканині ендометрію і карциномах ендометрію у хворих з різною стадією пухлинного процесу.

Оскільки реплікація — це процес, що забезпечує точне подвоєння ДНК, і саме реплікативний стрес є фундаментальною засадою та, вірогідно, ранньою подією геномної нестабільності. Враховуючи зазначене, вже на початкових стадіях онкогенезу в ендометрії можуть відбуватися зміни активності *ATR*- і *CHEK1*-кіназ, внаслідок чого зростає проліферативна активність як один з ключових факторів прогресування ЕКЕ [9, 35, 36].

Як видно з результатів аналізу відкритих баз даних, у карциномах ендометрію спостерігаються зміни експресії генів, асоційованих з реплікативним стресом — *ATR*, *CHEK1/2*, *ATM*, *FANCD2* і *BRCA1*. Причому характер цих змін неоднозначний, що, безумовно, потребує подальшого їх експериментального дослідження.

ВИСНОВКИ

Виявлений зв'язок експресії генів *ATR*, *ATM*, *CHEK1/2*, *FANCD2* і *BRCA1* на рівні мРНК з клінічними стадіями захворювання пацієнтів з ЕКЕ зумовлює доцільність більш детального вивчення експресії маркерів для ідентифікації молекулярних ознак високозлоякісних ЕКЕ у хворих з I стадією пухлинного процесу.

Робота виконувалася в рамках НДР «Фактори реплікативного стресу у прогресії ендометріюїдної карциноми ендометрію» (0122U001977).

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Fedorenko Z, Goulak L, Gorokh Ye, et al. Cancer in Ukraine, 2020-2021. Morbidity, mortality, indicators of the oncology service activity. Bull Natl Cancer Register Ukr. Kyiv, 2022; 23. http://www.ncru.inf.ua/publications/BULL_23/index_e.htm.
2. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. CA Cancer J Clin 2018; 68 (6): 394–24. doi:10.3322/caac.21492.
3. Hamilton CA, Pothuri B, Arend RC, et al. Endometrial cancer: a society of gynecologic oncology evidence-based review and recommendations, part II. Gynecol Oncol 2021; 160 (3): 827–34. doi: 10.1016/j.ygyno.2020.12.024.
4. Siegel RL, Miller KD, Fuchs HE, Jemal A. Cancer statistics, 2022. CA Cancer J Clin. 2022; 72 (1): 7–33. doi: 10.3322/caac.21708.
5. Concin N, Matias-Guiu X, Ignace Vergote, et al. ESGO/ESTRO/ESP guidelines for the management of patients with endometrial carcinoma. Int J Gynecol Cancer 2021; 31: 12–39. doi: 10.1136/ijgc-2020-002230.
6. Ruz-Caracuel I, Ramón-Patino JL, López-Janeiro Á, et al. Myoinvasive pattern as a prognostic marker in low-grade, early-stage endometrioid endometrial carcinoma. Cancers (Basel) 2019; 11 (12): 1845. doi: 10.3390/cancers11121845.
7. Bendifallah S, Canlorbe G, Collinet P, et al. Just how accurate are the major risk stratification systems for early-stage en-

ometrial cancer? Br J Cancer 2015; **112**: 793–801. doi: 10.1038/bjc.2015.35.

8. **Movchan OM, Svintsitskiy VS, Tsip NP et al.** Features of recurrence of endometrioid type endometrial cancer of I stage. *Exp Oncol* 2021; **43** (4): 365–69. doi: 10.32471/exp-oncology.2312-8852.vol-43-no-4.17052.

9. **Kotsantis P, Petermann E, Boulton SJ.** Mechanisms of oncogene-induced replication stress: jigsaw falling into place. *Cancer Discov* 2018; **8** (5): 1–19. doi: 10.1158/2159-8290.CD-17-1461.

10. **Primo LMF, Teixeira LK.** DNA replication stress: oncogenes in the spotlight. *Genet Mol Biol* 2020; **43**: e20190138. doi: org/10.1590/1678-4685-GMB-2019-0138.

11. **Kim H, D'Andrea AD.** Regulation of DNA cross-link repair by the Fanconi anemia/BRCA pathway. *Genes Dev* 2012; **26** (13): 1393–408. doi: 10.1101/gad.195248.112.

12. **Takeuchi M, Tanikawa M, Nagasaka K, et al.** Anti-tumor effect of inhibition of DNA damage response proteins, ATM and ATR, in endometrial cancer cells. *Cancers (Basel)* 2019; **11** (12): 1913. doi: 10.3390/cancers11121913.

13. **Alhmod JF, Woolley JF, Al Moustafa AE, Malki MI.** DNA damage/repair management in cancers. *Cancers (Basel)* 2020; **12** (4): 1050. doi: 10.3390/cancers12041050.

14. **Segeren HA, Westendorp B.** Mechanisms used by cancer cells to tolerate drug-induced replication stress. *Cancer Lett* 2022; **544**: 215804. doi: 10.1016/j.canlet.2022.215804.

15. **Turajlic S, Sottoriva A, Graham T, Swanton C.** Resolving genetic heterogeneity in cancer. *Nat Rev Genet* 2019; **20** (7): 404–16. doi: 10.1038/s41576-019-0114-6.

16. **Sansregret L, Vanhaesebroeck B, Swanton C.** Determinants and clinical implications of chromosomal instability in cancer. *Nat Rev Clin Oncol* 2018; **15** (3): 139–50.

17. **Bakhoun SF, Cantley LC.** The multifaceted role of chromosomal instability in cancer and its microenvironment. *Cell*. 2018; **174** (6): 1347–60. doi: 10.1016/j.cell.2018.08.027.

18. **Turajlic S, Swanton C.** Metastasis as an evolutionary process. *Science*. 2016; **352** (6282): 169–75. doi: 10.1126/science.aaf2784.

19. **Trautmann K, Terdiman JP, French AJ, et al.** Chromosomal instability in microsatellite-unstable and stable colon cancer. *Clin Cancer Res* 2006; **12** (21): 6379–85. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-06-1248.

20. **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. doi: 10.1186/1471-2407-14-765.

21. Бучинська ЛГ, Бреева ОВ, Несіна ІП, та ін. Особливості репарації ДНК у лімфоцитах периферичної крові та пухлинній тканині хворих на рак ендометрію. *Онкологія* 2016; **18** (4): 300–4.

22. **Buchynska LG, Brieieva OV.** Sensitivity to 4-hydroxyestradiol and DNA repair efficiency in peripheral blood lymphocytes of endometrial cancer patients. *Exp Oncol* 2018; **40** (1): 68–72.

23. **Madireddy A, Kosiyatrakul ST, Boisvert RA, et al.** SchilDKraut FANCD2 facilitates replication through common fragile sites. *Molecular Cell* 2016; **64**: 388–404. doi: 10.1016/j.molcel.2016.09.017.

24. **Gachechiladze M, Skarda J, Bouchalova K, et al.** Predictive and prognostic value of DNA damage response associated kinases in solid tumors. *Front Oncol* 2020; **10**: 581217. doi: 10.3389/fonc.2020.581217.

25. **Verlinden L, Bempt IV, Eelen G, et al.** The E2F-regulated gene Chk1 is highly expressed in triple-negative estrogen receptor-/progesterone receptor-/HER-2-breast carcinomas. *Cancer Res* 2007; **67**: 6574–81. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-06-3545.

26. **Madoz-Gúrpide J, Cañamero M, Sanchez L, et al.** A proteomics analysis of cell signaling alterations in colorectal cancer. *Mol Cell Proteom* 2007; **6**: 2150–64. doi: 10.1074/mcp.M700006-MCP200.

27. **Fadaka AO, Bakare OO, Sibuyi NRS, Klein A.** Gene expression alterations and molecular analysis of CHEK1 in solid tumors. *Cancers (Basel)* 2020; **12** (3): 662. doi: 10.3390/cancers12030662.

28. **Pichierri P, Rosselli F.** The DNA crosslink-induced S-phase checkpoint depends on ATR–CHK1 and ATR–NBS1–FANCD2 pathways. *EMBO J* 2004; **23** (5): 1178–87. doi: 10.1038/sj.emboj.7600113.

29. **Barlin JN, Soslow RA, Lutz M, et al.** Redefining stage I endometrial cancer: incorporating histology, a binary grading system, myometrial invasion, and lymph node assessment. *Int J Gynecol Cancer* 2013; **23** (9): 1620–28. doi: 10.1097/IGC.0b013e3182a5055e.

30. **Soslow RA, Tornos C, Park KJ, et al.** Endometrial carcinoma diagnosis: use of FIGO grading and genomic subcategories in clinical practice: recommendations of the International Society of Gynecological Pathologists. *Int J Gynecol Pathol* 2019; **38** (Suppl 1): S64–S74. doi: 10.1097/PGP.0000000000000518.

31. **Nepal M, Che R, Ma Chi, et al.** FANCD2 and DNA Damage. *Int J Mol Sci* 2017; **18** (8): 1804. doi: 10.3390/ijms18081804.

32. **Ren L, Chen L, Wu W.** Potential biomarkers of DNA replication stress in cancer. *Oncotarget* 2017; **8** (23): 36996–37008. doi: 10.18632/oncotarget.16940

33. **Ngoi NYL, Sundararajan V, Tan DS.** Exploiting replicative stress in gynecological cancers as a therapeutic strategy. *Int J Gynecol Cancer* 2020; **30** (8): 1224–38. doi: 10.1136/ijgc-2020-001277.

34. **Cleary JM, Aguirre AJ, Shapiro GI, et al.** Biomarker-guided development of DNA repair inhibitors. *Mol Cell* 2020; **78** (6): 1070–85. doi: 10.1016/j.molcel.2020.04.035.

35. **Liao H, Ji F, Helleday T, Ying S.** Mechanisms for stalled replication fork stabilization: new targets for synthetic lethality strategies in cancer treatments. *EMBO Rep* 2018; **19** (9): e46263. doi: 10.15252/embr.201846263.

36. **Mhaweche-Fauceglia P, Wang D, Kim G, et al.** Expression of DNA repair proteins in endometrial cancer predicts disease outcome. *Gynecol Oncol* 2014; **132** (3): 593–8. doi: 10.1016/j.ygyno.2014.02.002.

REPLICATIVE STRESS PROTEINS AS POTENTIAL PROGNOSTIC MARKERS OF RECURRENCE OF ENDOMETRIOID CARCINOMA OF THE ENDOMETRIUM IN PATIENTS WITH I DISEASE STAGE

L.G. Buchynska, N.P. Iurchenko, I.P. Nesina, N.M. Glushchenko

RE Kavetsky Institute of Experimental Pathology, Oncology and Radiobiology, National Academy of Sciences of Ukraine, NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine

Summary. Aim: on the basis of bioinformatic analysis of the expression of markers associated with replicative stress, to evaluate their significance in the progression of endometrioid carcinoma of the endometrium (ECE). **Object and methods:** the study of ATR, ATM, CHEK1/2, FANCD2, BRCA1 gene expression was carried out using the GEPIA web tool. Bioinformatics databases STRING v.11.5 and FunCoup v.5.0 were used for prognostic modeling of the intergenic interaction of the studied genes. **Results:** interactive analysis of the gene expression profile in both ECE and normal tissues revealed that the expression of CHEK1/2, FANCD2, and BRCA1 was higher in ECE compared to normal tissues. However, the expression of ATR and ATM

was significantly lower in ECE than in the alternative group, which may indicate a malfunction of these genes. Potentially significant biomarkers of genome instability associated with replicative stress *ATR*, *ATM*, *CHEK1/2*, *FANCD2* and *BRCA1* were determined, reflecting such biological processes as DNA replication and repair. **Conclusion:** the established highly predictive associations between the studied biomarkers *ATM*, *ATR*, *CHEK1/2*, *FANCD2*, *BRCA1* provide the basis for their further evaluation as informative indicators associated with replicative stress in the progression of endometrioid carcinoma of the endometrium of patients with the I stage of the tumor process.

Key Words: replicative stress, endometrioid endometrial carcinoma, *ATM*, *ATR*, *CHEK1/2*, *FANCD2*, *BRCA1* gene expression, bioinformatics databases.

Адреса для листування:

Глушенко Н.М.
03022, Київ, вул. Васильківська, 45
Інститут експериментальної патології,
онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького
НАН України
E-mail: laboncogen@gmail.com

Одержано: 23.11.22