



И.В. Кондакова¹, Е.Е. Середа^{1,2}, Г.В. Какурина^{1,2}, Е.А. Сиденко^{1,2},
Д.А. Коршунов¹, А.Л. Чернышова¹, Л.А. Коломиец^{1,2}

Прогностическое значение определения активности и уровня иммунных субъединиц протеасом при раке эндометрия

¹НИИ онкологии Томского НИМЦ, г. Томск
²ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России, г. Томск

Введение. Рак эндометрия (РЭ) является одной из ведущих онкогинекологических патологий в России. Необходима разработка новых критериев прогноза течения рака эндометрия, в которые могут войти показатели протеасом — мультисубъединичных протеолитических комплексов, которые играют важную роль в развитии злокачественных новообразований.

Цель исследования. Оценка прогностической значимости активности протеасом и уровня иммунных субъединиц протеасом LMP2 и LMP7 в отношении общей и безрецидивной выживаемости при раке эндометрия.

Материалы и методы. В исследование было включено 90 больных раком эндометрия I-III стадии. Химотрипсинподобную активность (ХТА) протеасом определяли в опухолевой и неизменной тканях эндометрия по гидролизу флуорогенного олигопептида Suc-LLVY-AMC (Sigma). Содержание иммунных субъединиц протеасом LMP2 и LMP7 определяли методом Вестерн блоттинг. Статистический анализ проводился с использованием общепринятых методов в программе Statistica 12.0.

Результаты. Выявлено увеличение химотрипсинподобной активности протеасом в опухолевой ткани по сравнению с неизменным эндометрием (80,42 Ед/мг (42,0; 150,0) и 44,80 Ед/мг (22,7; 87,3) соответственно), а также в опухолях III стадии по сравнению с I и II стадиями. В ткани РЭ наблюдалось увеличение содержания LMP2 и LMP7 субъединиц по отношению к неизменной ткани. Однофакторный анализ показателей протеасом показал, что с 3-летней безрецидивной выживаемостью больных раком эндометрия связана химотрипсинподобная активность протеасом, а с общей выживаемостью — содержание субъединицы LMP2 протеасом. В частности, ХТА протеасом более чем $80,42 \times 10^3$ Ед/мг

белка в ткани опухоли является неблагоприятным фактором прогноза безрецидивной выживаемости при РЭ, а уровень субъединицы LMP-2 более 120 % по сравнению с окружающей неизменной тканью является неблагоприятным фактором прогноза в отношении общей выживаемости.

Заключение. ХТА протеасом и содержание субъединицы LMP2 в опухолевой ткани можно рассматривать в качестве дополнительных критериев прогноза риска рецидивирования и общей выживаемости.

Ключевые слова: рак эндометрия; прогноз безрецидивной и общей выживаемости, химотрипсинподобная активность протеасом; субъединицы LMP2 и LMP7 протеасом

Для цитирования: Кондакова И.В., Середа Е.Е., Какурина Г.В., Сиденко Е.А., Коршунов Д.А., Чернышова А.Л., Коломиец Л.А. Прогностическое значение определения активности и уровня иммунных субъединиц протеасом при раке эндометрия. Вопросы онкологии. 2023;69(3):444–451. doi: 10.37469/0507-3758-2023-69-3-444-451

Введение

Рак эндометрия (РЭ) является одной из ведущих онкологических патологий, достигая 8 % в структуре заболеваемости злокачественными новообразованиями у женщин и характеризуется высоким приростом абсолютного числа пациентов (15,6 %) за последние 5 лет [1]. Как правило, РЭ диагностируется на ранних стадиях, что позволяет достигать хороших результатов лечения и высокую общую пятилетнюю выживаемость (75-83 %). Показатель одногодичной летальности в России по данному заболеванию составил 8,5 % в 2020 г., однако велика частота развития рецидивов, что определяет актуальность поиска дополнительных факторов неблагоприятного прогноза при раке тела матки [1, 2].

На сегодняшний день общепризнанными факторами прогноза течения РЭ являются стадия заболевания, морфологические варианты опухоли, наличие лимфоваскулярной инвазии [3]. Тем не менее, у пациентов с одинаковыми морфологическими формами РЭ могут быть разные результаты лечения, что определяет важность прогнозирования исхода заболевания. На роль прогностических факторов РЭ могут претендовать многие биологически активные молекулы, участвующие в патогенезе этого заболевания. В частности, в качестве критериев прогноза течения заболевания у пациенток с раком тела матки было предложено исследование уровня онкологических маркеров СА-125, HE4, DJ-1, DKK-1 [2]. Предпринимаются попытки разработать молекулярную классификацию РЭ, которая может быть востребована для лечения новообразований [4]. Однако окончательно вопрос прогноза клинического течения РЭ в настоящее время не решен, для чего необходим поиск новых молекулярных маркеров, связанных с возникновением рецидивов и исходами заболевания.

Характерной чертой злокачественных опухолей, включая РЭ, является высокий уровень метаболизма, что определяется интенсивностью таких процессов, как высокая пролиферативная активность и инвазивный рост. Чтобы поддерживать динамическое равновесие белков в течение этих процессов, необходима высокая активность протеолиза в опухолевых клетках [5, 6]. Ранее нами было показано в ткани РЭ увеличение активности протеасом — внутриклеточных мультисубъединичных структур, обладающих тремя протеолитическими активностями: трипсинподобной, химотрипсинподобной и каспазаподобной, которые реализуются конститутивными субъединицами протеасом [6, 7]. Протеасомы разрушают до 80–90 % всех внутриклеточных белков и представлены различными формами, отличающимися структурой и механизмами распознавания и утилизации белков [8]. В некоторых случаях конститутивные субъединицы протеасом замещаются на иммунные LMP2, MECL-1 и LMP7 субъединицы, которые могут как продуцировать иммуногенные пептиды для их презентации главным комплексом гистосовместимости I класса, так и выполнять неиммунные функции [9]. Показано, что иммунные протеасомы поддерживают протеостаз, и особенно их роль велика при воспалении и других патологических процессах, в частности при онкологических заболеваниях [10, 11]. Вероятно, протеасомы могут влиять на течение онкологического процесса и использоваться в качестве факторов прогноза течения заболевания.

Цель исследования состояла в оценке прогностической значимости активности протеасом и

уровня иммунных субъединиц LMP2 и LMP7 в отношении 3-х летней общей и безрецидивной выживаемости больных РЭ.

Материал и методы

В исследование вошло 90 больных РЭ I–III стадии, средний возраст $56,55 \pm 10,45$ года, проходивших лечение в клинике НИИ онкологии НИМЦ. Во всех случаях опухоли имели гистологическое строение эндометриоидного рака разной степени дифференцировки. В репродуктивном периоде находилось 20 пациенток (22 %), в постменопаузе 70 пациенток (78 %). Распределение больных РЭ по стадии заболевания, гистологическому типу и степени дифференцировки представлено в табл. 1.

Таблица 1. Распределение больных РЭ по стадии заболевания, гистологическому типу и степени дифференцировки опухоли

Показатель	Количество больных абс. (%)
Стадия заболевания	
I	70 (78 %)
II	12 (13 %)
III	8 (9 %)
Гистологический тип	
эндометриоидный	87 (97 %)
неэндометриоидный	3 (3 %)
Степень дифференцировки	
высокая	16 (18 %)
умеренная	58 (64 %)
низкая	16 (18 %)

Таким образом, основную долю больных, включенных в исследование, составили пациентки постменопаузального периода с эндометриоидным типом РЭ, I стадией заболевания и умеренной степенью дифференцировки опухоли.

Все пациенты до настоящего исследования не получали никакого специального лечения. Сроки наблюдения за больными составили от 2 до 36 мес., среднее время наблюдения — 18 мес. При анализе выживаемости расчет проводился на третий год после проведения операции с учетом выбывших из-под наблюдения больных и умерших от сопутствующих не онкологических заболеваний. Продолжительность жизни (общую и безрецидивную) исчисляли в месяцах с момента проведенного радикального хирургического вмешательства до времени последнего посещения пациентом онколога или выявления исхода (умер либо прогрессирование в виде развития рецидивов) на этапах динамического наблюдения. Следует отметить, что из 90 пациентов, включенных в исследование, в течении 3-летнего периода рецидивы развились у 11,1 % пациенток. При этом показатели общей 3-летней выживаемости составили 96,7 % (летальный исход был зафиксирован только у 3 пациентов, включенных в исследование).

Работа проведена в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» с поправками 2000 г. и «Правилами клинической практики в Российской Федерации», утвержденными Приказом Минздрава РФ № 266 от 19.06.2003. Было получено разрешение этического комитета НИИ онкологии Томского НИМЦ на проведение работы (протокол № 5 от 14.03.2018). Всеми пациентами было дано информированное согласие на проведение исследования.

Материалом для исследования служили образцы опухолевой и гистологически неизменной ткани, взятые

интраоперационно при выполнении радикального оперативного вмешательства. Гистологически неизменная ткань находилась на расстоянии не менее 1 см от границы опухоли. Образцы тканей замораживали и хранили при -80 °С не более 8 мес.

Получение осветленных гомогенатов. Для получения осветленных гомогенатов замороженные образцы ткани (100 мг) гомогенизировали в жидком азоте, затем ресуспендировали в 300 мкл 50 мМ трис-НСl буфере (рН = 7,5), содержащем 2 мМ АТФ, 5 мМ хлорид магния, 1 мМ дитиотреитол, 1 мМ ЭДТА и 100 мМ хлорид натрия. Гомогенат центрифугировали 60 мин при 10000 g и 4 °С.

Определение активности протеасом. Химотрипсинподобную активность (ХТА) протеасом определяли в осветленных гомогенатах опухолевой и неизменной ткани эндометрия по гидролизу флуорогенного олигопептида Suc-LLVY-AMC (Sigma), утилизирующегося химотрипсинподобными центрами протеасом [12]. Для оценки активности примесных протеаз применяли специфический ингибитор протеасом — MG132 (Sigma). За единицу активности протеасом принимали количество фермента, при котором гидролизуется 1 нмоль Suc-LLVY-AMC в течение 1 мин. Удельную активность протеасом выражали в единицах активности на 1 мг белка. Содержание белка определяли по методу Лоури.

Электрофорез. Электрофоретическое разделение белков для последующего Вестерн-блоттинга проводили по Laemmli в 13 % полиакриламидном геле. Пробы наносили в буфере, содержащем 0,0625 М трис-НСl (рН 6,8), 2 % SDS, 5 % 2-меркаптоэтанол, 10 % глицерин, 0,01 % бромфеноловый синий.

Вестерн-блоттинг. После электрофореза осуществляли перенос полипептидов на PVDF-мембрану (Immobilon, Millipore, США). Иммунодетекцию проводили согласно протоколу для «SNAP i.d.» (Millipore, США) с первичными антителами к субъединицам LMP7, LMP2 протеасом и к β-актину, а также вторичными антителами goat anti-mouse IgG-horseradish peroxidase (HRP) и goat anti-rabbit IgG-HRP (Santa Cruz Biotechnology, США) в разведениях, рекомендованных производителем. Затем мембрану подвергали обработке системой хемилюминесцентной детекции ECL (GE Healthcare, Великобритания). Плотность полос оценивали с помощью компьютерной программы «ImageJ». Стандартизация проводилась относительно β-актина. Результаты выражали в процентах от содержания субъединиц протеасом в неизменной ткани.

Статистический анализ. Результаты в табл. представлены в виде Me (Q1;Q3), где Me — медиана, Q1 и Q3 — нижний и верхний квартили; при статистической обработке полученных результатов, помимо методов описательной статистики, использовались перечисленные ниже методы анализа: критерий Шапиро-Уилка для оценки нормальности распределения выборки; критерий Манна-Уитни для оценки значимости различий между независимыми выборками при распределении, отличном от нормального. Различия считались значимыми при p < 0,05. Прогностическая значимость признаков в отношении 3-летней общей и безрецидивной выживаемости у больных РЭ оценена с помощью программы Survival Analysis, Statistica 12.0. Кривые кумулятивной выживаемости строились по методу Каплана-Майера. Для сравнения показателей выживаемости в группах был использован обобщенный критерий Гехана-Вилкоксона.

Результаты

В результате проведенного исследования выявлено увеличение активности протеасом в злокачественной ткани эндометрия по сравнению

с соответствующей неизменной тканью. При анализе особенностей изменения ХТА протеасом при РЭ в зависимости от стадии заболевания показано значительное увеличение активности при III стадии РЭ по сравнению со стадией I и II (табл. 2).

Таблица 2. Химотрипсинподобная активность (ХТА) протеасом (Ед/мг) в неизменном и малигнизированном эндометрии

	Число больных	ХТА протеасом	p
Рак эндометрия (I-III стадии)	90	80,42 (42,0; 150,0)	P1 = 0,000
Рак эндометрия (I стадия)	69	75,99 (35,57; 114,33)	P1 = 0,000; P2 = 0,036
Рак эндометрия (II стадия)	12	88,49 (55,33; 127,8)	P1 = 0,000; P2 = 0,042
Рак эндометрия (III стадия)	9	117,35 (71,54; 214,50)	P1 = 0,000
Неизменная ткань	90	44,80 (22,7; 87,3)	

Примечание: P1— значимость различий по сравнению с неизменной тканью эндометрия; P2 — значимость различий по сравнению с III стадией рака эндометрия

Определение экспрессии иммунных субъединиц протеасом LMP2 и LMP7 было проведено методом Вестерн-блоттинг (рис. 1А). В ткани РЭ наблюдалось увеличение содержания LMP2 до 120,0 % (35,0;152,98) и LMP7 — 138,0 % (75,40;285,34) по отношению к неизменной ткани (рис. 1Б). Такое повышение их количества говорит об изменении функционирования протеасомной системы при РЭ и, вероятно, играет важную роль в развитии опухоли.

Для того, чтобы оценить прогностическую значимость показателей протеасомной системы при РЭ, провели их сопоставление с трехлетней безрецидивной и общей выживаемостью.

В качестве референсных уровней, позволяющих разделить показатели протеасом на высокие и низкие, были выбраны медианные значения ХТА протеасом и содержания иммунных LMP субъединиц протеасом в опухолевой ткани больных РЭ (табл. 1, рис. 1Б). Проведенный анализ выживаемости показал, что статистически значимыми факторами в отношении 3-летней безрецидивной выживаемости у больных РЭ является ХТА протеасом, а в отношении 3-летней общей выживаемости — уровень субъединицы протеасом LMP2 (табл. 3).

Установлено, что уровень ХТА протеасом более чем $80,42 \times 10^3$ Ед/мг белка в ткани опухоли является неблагоприятным фактором прогноза безрецидивной выживаемости при РЭ (рис. 2А). Также получены результаты, подтверждающие связь содержания иммунной субъединицы LMP2 протеасом в ткани

РЭ с 3-летней общей выживаемостью больных (рис. 2Б). Высокий уровень субъединицы LMP-2 (более 120 %) по сравнению с окружающей неизменной тканью является неблагоприятным фактором прогноза в отношении общей выживаемости.

Вероятно, иммунные протеасомы, содержащие LMP2-субъединицу, в злокачественной ткани могут более эффективно расщеплять белки, выполнив свои функции во множестве клеточных процессов, для обеспечения жизнедеятельности опухолевых клеток.

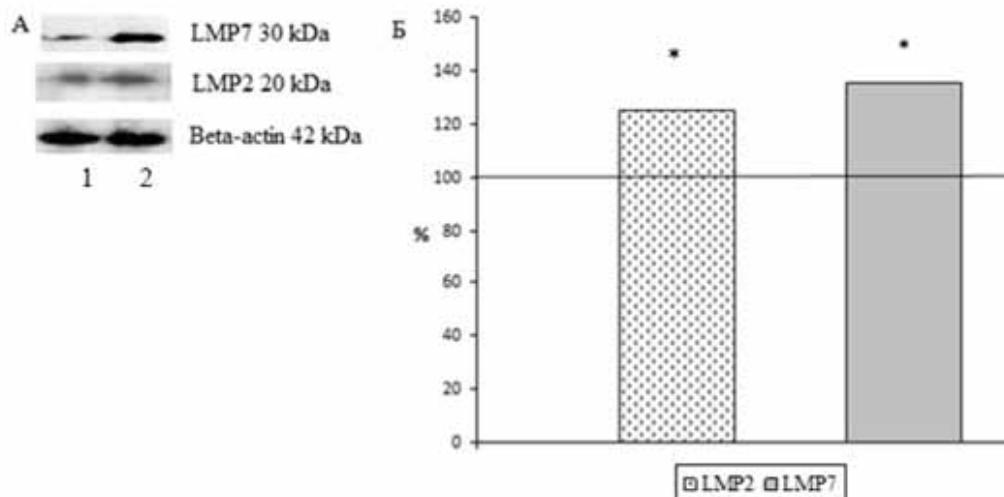


Рис. 1. Содержание LMP7 и LMP2 субъединиц протеасом в малигнизированном эндометрии. А — результаты определения уровня субъединиц в неизменной (1) и опухолевой (2) тканях эндометрия методом Вестерн-блоттинг. Б — процентное содержание субъединиц LMP7 и LMP2 в ткани РЭ. За 100 % принята экспрессия субъединиц в неизменной ткани

Таблица 3. Однофакторный анализ показателей протеасом, связанных с 3-летней безрецидивной и общей выживаемостью у больных раком эндометрия

Факторы	% пациентов	Кумулятивная доля выживших, (%)	
		3-летняя Безрецидивная выживаемость	3-летняя Общая выживаемость
Химотрипсинподобная активность протеасом менее / = 80,42 × 103 Ед/мг более 80,42 × 103 Ед/мг	45,6 54,4	p = 0,048 91 % 72 %	p = 0,28 100 % 94 %
Экспрессия субъединицы LMP7 менее / = 138 % более 138 %	33 67	p = 0,82 90 % 89%	p = 0,81 97 % 97 %
Экспрессия субъединицы LMP2 менее / = 120 % более 120 %	82 18	p = 0,27 89 % 94 %	p = 0,03 97 % 67 %

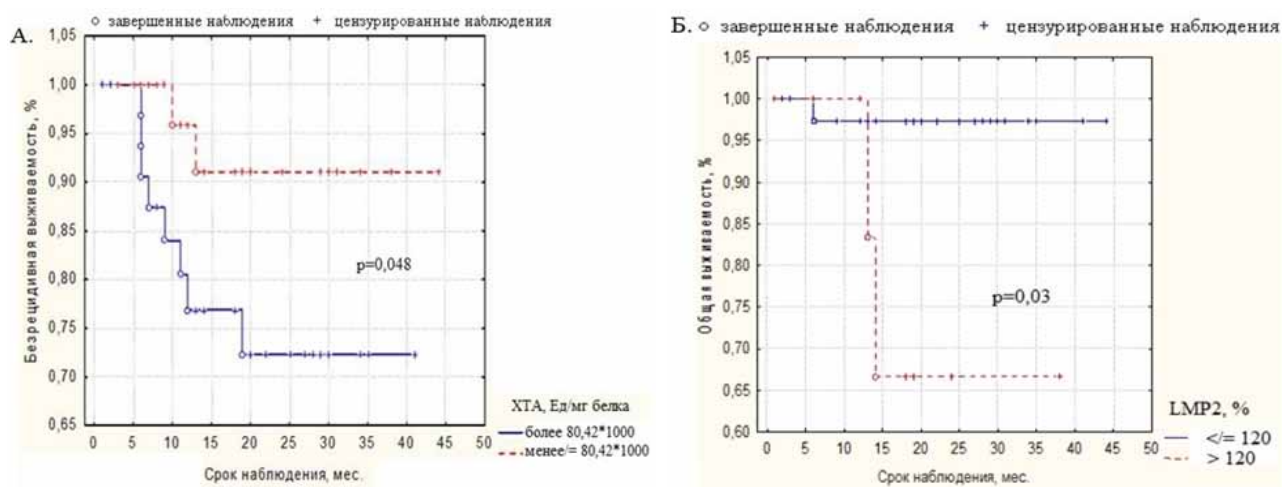


Рис. 2. Показатели 3-летней безрецидивной (А) и общей (Б) выживаемости больных раком эндометрия в зависимости от химотрипсинподобной активности протеасом и уровня протеасомной субъединицы LMP2

Обсуждение

Относительное содержание протеасом в клетке, их состав и активность изменяются в соответствии с внутриклеточными условиями, что становится возможным благодаря взаимодействию протеасом с большим количеством белков. Протеасомы принимают участие в реализации и контроле таких процессов как транскрипция, пролиферация, апоптоз, передача сигналов, которые играют важную роль злокачественной трансформации и дальнейшей опухолевой прогрессии [13, 14]. В связи с этим было проведено изучение ХТА и уровня иммунных субъединиц протеасом в ткани РЭ в связи с исходами заболевания.

РЭ является наиболее частой злокачественной опухолью женских репродуктивных органов [1]. В то же время при этой патологии показатели 5-летней общей выживаемости достаточно высоки в том случае, если опухоли локализованы в матке ($\geq 95\%$) [15]. Поскольку в представленное исследование вошли пациентки, в основном, с первой стадией опухолевого процесса, наблюдалось малое количество неблагоприятных исходов при изучении общей выживаемости.

Показано увеличение ХТА протеасом и содержания LMP2 и LMP7 субъединиц протеасом в опухолевой ткани по сравнению с неизменным эндометрием и при увеличении стадии заболевания. Увеличение активности протеасом в ткани РЭ по сравнению с неизменными тканями и при прогрессировании опухолевого процесса, вероятно, связано со значительным повышением интенсивности клеточного метаболизма, многие участники которого являются субстратами протеасом: белки-регуляторы клеточного цикла, рецепторы эстрогенов и прогестерона, компоненты системы инсулиноподобных факторов роста, многие транскрипционные факторы, белки pRb и p53, ингибитор NF- κ B I κ B, белки, контролирующие активность каспаз, компоненты сигнальных путей [16–19]. Представленные результаты согласуются с литературными данными. Показано, что иммунопротеасомы, содержащие субъединицы LMP, продуцируют больше пептидов, чем конститутивные, и являются более специфичными [20]. Так обнаружен повышенный уровень субъединицы LMP2 протеасом в опухолевых клеточных линиях и в тканях рака простаты. Ингибирование этой субъединицы специфическим ингибитором UK-101 приводило к апоптозу клеток рака простаты [19].

Уровень LMP2 субъединицы протеасом был связан с общей трехлетней выживаемостью больных РЭ, а ХТА протеасом — с трехлетней

безрецидивной выживаемостью. Эти данные свидетельствуют о том, что в представленной работе выявлены дополнительные молекулярные маркеры РЭ, свидетельствующие о высоком риске развития рецидивов и неблагоприятном исходе заболевания.

Заключение

Таким образом, протеасомы играют важную роль в прогрессировании РЭ. ХТА протеасом и содержание субъединицы LMP2 в опухолевой ткани можно рассматривать в качестве дополнительных критериев прогноза риска рецидивирования и общей выживаемости. Для объяснения полученных результатов и для подтверждения роли показателей протеасом в качестве новых факторов прогноза наряду с имеющимися необходимы дальнейшие исследования. Так, необходимо масштабное дополнительное изучение прогностической значимости содержания иммунной субъединицы LMP2 в опухолевой ткани в отношении общей трехлетней выживаемости. Безусловно, изучение протеасом в контексте течения и прогноза РЭ необходимо для более глубокого понимания причин опухолевой прогрессии и поиска эффективных противоопухолевых средств.

Благодарности

Коллектив авторов выражает благодарность сотрудникам клинического подразделения НИИ онкологии Томского НИМЦ.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование

Работа выполнена в рамках Государственного задания № 075-01184-22-04 в НИИ онкологии Томского НИМЦ. The work was carried out within the framework of State Assignment No. 075-01184-22-04 at the Cancer Research Institute of Tomsk NRMC.

Участие авторов

Кондакова И.В. — разработка концепции, написание текста рукописи;

Середа Е.Е. — подготовка образцов, проведение экспериментального исследования;

Какурина Г.В. — обзор публикаций по теме статьи;

Сиденко Е.А. — подготовка иллюстративного материала;

Коршунов Д.А. — статистическая обработка материала;

Чернышова А.Л. — проведение комплексного обследования, набор материала;

Коломиец Л.А. — формирование групп пациентов, редактирование текста статьи.

ЛИТЕРАТУРА

1. Злокачественные новообразования в России в 2020 году (заболеваемость и смертность). Под ред. Каприна А.Д., Старинского В.В., Шахзадовой А.О. М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России. 2021:252 [Malignant neoplasms in Russia in 2020 (morbidity and mortality). ed. by Kaprin AD, Starinsky VV, Shakhzadova AO. M.:P.A. Herzen Moscow state Medical Research Institute - Branch of the Federal state Budgetary Institution NMIC of Radiology of the Ministry of Health of Russia. 2021:252 (In Russ.)].
2. Коваленко Н.В., Вереникина Е.В., Максимов А.Ю., и др. Прогноз ранних рецидивов рака тела матки на основе мониторинга сывороточных биологических маркеров. Клиническая лабораторная диагностика. 2022;67(4):197–203 [Kovalenko NV, Verenikina EV, Maksimov AYU, et al. Prediction of early relapses of uterine body cancer based on monitoring of serum biological markers. Clinical laboratory diagnostics. 2022;67(4):197–203 (In Russ.)].
3. Vermij L, Smit V, Nout R, Bosse T. Incorporation of molecular characteristics into endometrial cancer management. Histopathology. 2020;76(1):52-63. doi:10.1111/his.14015.
4. Winterhoff B, Thomaier L, Mullany S, et al. Molecular characterization of endometrial cancer and therapeutic implications. Curr Opin Obstet Gynecol. 2020;32(1):76-83. doi:10.1097/GCO.0000000000000602.
5. Yunusova NV, Spirina LV, Kondakova IV, et al. Relationship between the expression levels of PAPP-A metalloproteinase and growth and transcriptional factors in endometrial cancer. Biology Bulletin. 2013;40(3):253-259.
6. Спирина Л.В., Кондакова И.В., Усынин Е.А., и др. Активность протеасом и содержание ростовых факторов при раке почки, мочевого пузыря и эндометрия. Российский онкологический журнал. 2010;(1):23-5 [Spirina LV, Kondakova IV, Usynin EA, et al. Proteasome activity and content of growth factors in kidney, bladder and endometrial cancer. Russian journal of oncology. 2010;(1):23-5 (In Russ.)].
7. Спирина Л.В., Кондакова И.В., Коломиец Л.А., и др. Активность протеасом и их субъединичный состав при гиперпластических процессах и раке эндометрия. Опухоли женской репродуктивной системы. 2011;(4):64-8 [Spirina LV, Kondakova IV, Kolomiets LA, et al. Activity of proteasomes and their subunit composition in hyperplastic processes and endometrial cancer. Tumors of the female reproductive system. 2011;(4):64-8 (In Russ.)].
8. Sahu I, Glickman MH. Structural insights into substrate recognition and processing by the 20s proteasome. Biomolecules. 2021;11(2):148. doi:10.3390/biom11020148.
9. Ebstein F, Kloetzel PM, Krüger E, et al. Emerging roles of immunoproteasomes beyond MHC class I antigen processing. Cell Mol Life Sci. 2012;69(15):2543-58. doi:10.1007/s00018-012-0938-0.
10. Basler M, Groettrup M. On the Role of the Immunoproteasome in Protein Homeostasis. Cells. 2021;10(11):3216. doi:10.3390/cells10113216.
11. Tertipis N, Haegglblom L, Grün N, et al. Reduced expression of the antigen processing machinery components

TAP2, LMP2, and LMP7 in tonsillar and base of tongue cancer and implications for clinical outcome. Transl Oncol. 2015;8(1):10–7. doi:10.1016/j.tranon.2014.11.002.

12. Ben-Shahar S, Komlosch A, Nadav E, et al. 26 S proteasome-mediated production of an authentic major histocompatibility class I-restricted epitope from an intact protein substrate. J Biol Chem. 1999;274(31):21963-72. doi:10.1074/jbc.274.31.21963.
13. Abbas R, Larisch S. Killing by degradation: regulation of apoptosis by the ubiquitin-proteasome-system. Cells. 2021;10(12):3465. doi:10.3390/cells10123465.
14. Jiang TX, Ma S, Han X, et al. Proteasome activator PA200 maintains stability of histone marks during transcription and aging. Theranostics. 2021;11(3):1458–1472. doi:10.7150/thno.48744.
15. Yen TT, Wang TL, Fader AN, et al. Molecular Classification and Emerging Targeted Therapy in Endometrial Cancer. Int J Gynecol Pathol. 2020;39(1):26–35. doi:10.1097/PGP.0000000000000585.
16. Spirina LV, Bochkareva NV, Kondakova IV, et al. Regulation of insulin-like growth NF-κB proteasome system in endometrial cancer. Mol Biol. 2012;46(3):407–13.
17. Ding F, Xiao H, Wang M, et al. The role of the ubiquitin-proteasome pathway in cancer development and treatment. Front Biosci (Landmark Ed). 2014;19(6):886-95. doi:10.2741/4254.
18. Delle Donne R, Iannucci R, Rinaldi L, et al. Targeted inhibition of ubiquitin signaling reverses metabolic reprogramming and suppresses glioblastoma growth. Commun Biol. 2022;5(1):780. doi:10.1038/s42003-022-03639-8.
19. Wehenkel M, Ban JO, Ho YK, et al. A selective inhibitor of the immunoproteasome subunit LMP2 induces apoptosis in PC-3 cells and suppresses tumour growth in nude mice. Br J Cancer. 2012;107(1):53-62. doi:10.1038/bjc.2012.243.
20. Liu Q, Wang HY, He XJ. Induction of immunoproteasomes in porcine kidney (PK)-15 cells by interferon-γ and tumor necrosis factor-α. J Vet Med Sci. 2019;81(12):1776-82. doi:10.1292/jvms.19-0157.

Поступила в редакцию 29.12.2022
 Прошла рецензирование 09.02.2023
 Принята в печать 20.04.2023

*I.V. Kondakova¹, E.E. Sereda^{1,2}, G.V. Kakurina^{1,2},
 E.A. Sidenko^{1,2}, D.A. Korshunov¹, A.L. Chernyshova¹,
 L.A. Kolomiets^{1,2}*

Prognostic significance of determining the activity and level of immune subunits of proteasomes in endometrial cancer

¹Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences, Tomsk, the Russian Federation
²Siberian State Medical University, Tomsk, the Russian Federation

Introduction. Endometrial cancer (EC) is one of the leading oncogynecological pathologies in Russia. There is a need to develop new criteria for predicting the course of EC, which could include proteasome indicators – multisubunit proteolytic

complexes that play an important role in the development of malignant neoplasms.

Aim. To assess the prognostic significance of proteasome activity and the level of immune subunits of the proteasome LMP2 and LMP7 in relation to overall and recurrence-free survival in endometrial cancer.

Materials and methods. The study included 90 patients with stage I-III EC. Chymotrypsin-like proteasome activity was determined in tumor and intact endometrial tissues by hydrolysis of the fluorogenic oligopeptide Suc-LLVY-AMC (Sigma). The content of immune subunits of the proteasome LMP2 and LMP7 was determined by the Western blotting method. Statistical analysis was performed using commonly accepted methods in the Statistica 12.0 program.

Results. An increase in chymotrypsin-like activity of proteasomes was detected in tumor tissue compared to intact endometrial tissue (80.42 U/mg (42.0; 150.0) and 44.80 U/mg (22.7; 87.3), respectively), as well as in stage III tumors compared to stage I and II. An increase in the content of LMP2 and LMP7 proteasome subunits was observed in EC tissue compared to intact tissue. One-way analysis of proteasome parameters showed that chymotrypsin-like activity of

proteasomes is associated with 3-year relapse-free survival of EC patients, while the content of the LMP2 subunit was associated with overall survival. In particular, chymotrypsin-like activity of proteasomes exceeding 80.42×10^3 U/mg of protein in tumor tissue is an unfavorable prognostic factor for relapse-free survival in EC, while the LMP-2 subunit level exceeding 120 % compared to the surrounding unaltered tissue is an unfavorable prognostic factor for overall survival.

Conclusion. The chymotrypsin-like proteasome activity and the content of the LMP2 subunits in tumor tissue can be considered as additional criteria for predicting the risk of recurrence and overall survival.

Keywords: endometrial cancer; prognosis of relapse-free and overall survival; chymotrypsin-like proteasome activity; LMP2 and LMP7 subunits of proteasomes

For citation: Kondakova IV, Sereda EE, Kakurina GV, Sidenko EA, Korshunov DA, Chernyshova AL, Kolomiets LA. Prognostic significance of determining the activity and level of immune subunits of proteasomes in endometrial cancer. *Voprosy Onkologii*. 2023;69(3):444–451. doi: 10.37469/0507-3758-2023-69-3-444-451

Сведения об авторах

Кондакова Ирина Викторовна, д-р мед. наук, проф., заведующая лабораторией биохимии опухолей НИИ онкологии Томского НИМЦ, 634050, Россия, г. Томск, 634050, пер. Кооперативный, 5; ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-0947-8778>, kondakova@oncology.tomsk.ru.

Середа Елена Евгеньевна, д-р мед. наук, ст. науч. сотр. лаборатории биохимии опухолей НИИ онкологии Томского НИМЦ, 634050, Россия, г. Томск, 634050, пер. Кооперативный, 5; ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-7752-9346>, SchaschovaEE@oncology.tomsk.ru.

Какурина Гелена Валериевна, канд. мед. наук, ст. науч. сотр. лаборатории биохимии опухолей НИИ онкологии Томского НИМЦ, 634050, Россия, г. Томск, 634050, пер. Кооперативный, 5; ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-4506-9429>, kakurinagv@oncology.tomsk.ru.

Сиденко Евгения Александровна, канд. мед. наук, мл. науч. сотр. лаборатории биохимии опухолей НИИ онкологии Томского НИМЦ, 634050, Россия, г. Томск, 634050, пер. Кооперативный, 5; ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-5838-9459>, sidenkoevgeniyaaleksandrovna@gmail.com.

Коршунов Дмитрий Афанасьевич, канд. мед. наук, науч. сотр. лаборатории биохимии опухолей НИИ онкологии Томского НИМЦ, 634050, Россия, г. Томск, 634050, пер. Кооперативный, 5; ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-1058-3882>, ieved@yandex.ru.

Чернышова Алена Леонидовна, д-р мед. наук, проф. РАН, гл. науч. сотр. отделения гинекологии НИИ онкологии Томского НИМЦ, 634050, Россия, г. Томск, 634050, пер. Кооперативный, 5; ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-8194-2811>, Alacher@list.ru.

Коломиец Лариса Александровна, д-р мед. наук, проф., заслуженный деятель науки РФ, заведующая отделением гинекологии НИИ онкологии Томского НИМЦ, 634050, Россия, г. Томск, 634050, пер. Кооперативный, 5; ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-6854-8940>, KolomietsLA@oncology.tomsk.ru.

Kondakova Irina Viktorovna, DSc (Med.), Prof., Head of the Laboratory of the Tumor Biochemistry, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences, 5 Kooperativny Lane, Tomsk, 634050, Russia, email: kondakova@oncology.tomsk.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-0947-8778>. 643050

Sereda Elena Evgenievna, DSc (Med.), Senior Researcher of the Laboratory of the Tumor Biochemistry, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences, 5 Kooperativny Lane, Tomsk, 634050, Russia, email: SchaschovaEE@oncology.tomsk.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-7752-9346>.

Kakurina Gelena Valerievna, PhD (Med.), Senior Researcher of the Laboratory of the Tumor Biochemistry, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences, 5 Kooperativny Lane, Tomsk, 634050, Russia, email: kakurinagv@oncology.tomsk.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-4506-9429>.

Sidenko Evgenia Aleksandrovna, PhD (Med.), Junior Researcher of the Laboratory of the Tumor Biochemistry, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences, 5 Kooperativny Lane, Tomsk, 634050, Russia, email: sidenkoevgeniyaaleksandrovna@gmail.com, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-5838-9459>.

Korshunov Dmitriy Afanasyevich, PhD (Med.), Researcher of the Laboratory of the Tumor Biochemistry, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences, 5 Kooperativny Lane, Tomsk, 634050, Russia, email: ieved@yandex.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-1058-3882>.

Chernyshova Alena Leonidovna, DSc (Med.), Prof., Chief Researcher of the Department of Gynecology, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences, 5 Kooperativny Lane, Tomsk, 634050, Russia, email: Alacher@list.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-8194-2811>.

Kolomiets Larisa Aleksandrovna, DSc (Med.), Prof., Head of the Department of Gynecology, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences, 5 Kooperativny Lane, Tomsk, 634050, Russia, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-6854-8940>.