

УДК 616.441.-006.6:611.441.018.13

DOI: 10.22141/2224-0721.15.4.2019.174822

Гуда Б.Б.¹, Пушкар'єв В.В.¹, Ковзун О.І.¹, Пушкар'єв В.М.¹, Тронько М.Д.¹
ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України», м. Київ, Україна

Експресія PCNA як маркера проліферації у доброякісних та високодиференційованих злоякісних пухлинах щитоподібної залози людини (огляд літератури та власні дані)

For citation: Міжнародний ендокринологічний журнал. 2019;15(4):339-343. doi: 10.22141/2224-0721.15.4.2019.174822

Резюме. Визначення проліферативного потенціалу клітин пухлини — важливе завдання для діагностики раку щитоподібної залози (ЩЗ). Тому необхідний пошук маркерів, які характеризують стан проліферативних процесів. Ядерний антиген проліферуючих клітин (PCNA) — білок, необхідний для організації компонентів, що беруть участь у процесах реплікації та репарації ДНК, є поряд із Ki-67 одним з основних маркерів проліферативних процесів. Останні дослідження продемонстрували його здатність взаємодіяти з багатьма факторами, що беруть участь у кількох метаболічних шляхах, включаючи репарацію ДНК, транслейзійний синтез ДНК, метилювання ДНК, ремоделювання хроматину і регуляцію клітинного циклу. В огляді наведені дані щодо його структури, функції, регуляції та участі у злоякісній трансформації клітин. Для визначення біомаркерів, корисних для діагностики раку ЩЗ та встановлення панелі маркерів щодо раннього виявлення метастатичних карцином ЩЗ, було проведено низку досліджень, які показали, що у метастатичних пухлинах рівень PCNA вище майже вдвічі, ніж у неметастатичних. Відзначено підвищену експресію PCNA у карциномах ЩЗ порівняно з аденомами. Найвищий рівень експресії PCNA спостерігався при найбільш агресивних типах раку ЩЗ — анапластичній та медулярній карциномах. У диференційованих пухлинах кількість антигена була дещо меншою, але помітно зростала в інвазивних варіантах цих пухлин. Експресія PCNA була посилена у B-RAF V600E-позитивних папілярних карциномах порівняно з B-RAF V600E-негативними. Аналіз виживання хворих, який пов'язували з рівнями маркерів PCNA та Ki-67, показав найкращий прогноз у пацієнтів із низькими значеннями PCNA. Гірші результати спостерігались у пацієнтів із середніми показниками PCNA, а найгірший прогноз характерний для пацієнтів з найвищими рівнями антигена. Обговорюються можливості пригнічення PCNA специфічними інгібіторами для терапії деяких видів раку.

Ключові слова: ядерний антиген проліферуючих клітин; реплікація; пухлини щитоподібної залози; огляд

Визначення проліферативного потенціалу клітин пухлини — важливе завдання для діагностики раку щитоподібної залози (ЩЗ). Тому необхідний пошук маркерів, які характеризують стан проліферативних процесів, на базі вивчення факторів, що беруть участь у поділі клітини, та дослідження експресії генів, продукти яких беруть участь у підготовці і здійсненні поділу клітин.

Одним із маркерів проліферативних процесів є ядерний антиген проліферуючих клітин (PCNA) — білок, необхідний для організації компонентів, що

беруть участь у процесах реплікації та репарації ДНК у часі і просторі. Білки поєднуються в межах міждоменної сполучної петлі PCNA, і значна частина регуляторних впливів є результатом конкурування за цей стикувальний сайт. Білок PCNA є еволюційно консервативним у всіх еукаріотів. У людини знайдено два варіанти гена, що кодує цей білок, крім того, його псевдогени описані на хромосомах 4 і X.

PCNA — білок, що служить фактором процесивності ДНК-полімерази-дельта (Pol δ) клітин еукаріотів. Функціонально активний білок утворений

© 2019. The Authors. This is an open access article under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International License, CC BY, which allows others to freely distribute the published article, with the obligatory reference to the authors of original works and original publication in this journal.

Для кореспонденції: Пушкар'єв Володимир Михайлович, доктор біологічних наук, головний науковий співробітник відділу фундаментальних та прикладних проблем ендокринології, ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України», вул. Вишгородська, 69, м. Київ, 04114, Україна; e-mail: pushkarev.vm@gmail.com; контактний тел: +380442541240. For correspondence: Volodymyr Pushkarev, BD, Chief Research Fellow at the Department of fundamental and applied problems of endocrinology, State Institution "V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of the NAMS of Ukraine", Vyshgorodska st., 69, Kyiv, 04114, Ukraine; e-mail: pushkarev.vm@gmail.com; contact phone: +380442541240.

Full list of author information is available at the end of the article.

трьома однаковими субодинамиками, кожна з яких складена з двох ідентичних доменів. Тривимірний білок охоплює молекулу ДНК у вигляді шестикутника, а назвні виступають шість структур, кожна з яких утворена β-листками та має багато сайтів для зв'язку з іншими білками. Підвищення процесивності ДНК-полімерази досягається через оточення молекули ДНК білком, внаслідок чого створюється топологічний зв'язок між ДНК та полімеразою. У відповідь на ушкодження ДНК цей білок убиквітинується і бере участь у RAD6-залежному шляху репарації ДНК [1].

PCNA спочатку був охарактеризований як ковзачує уздовж ДНК кільце для структурної організації реплікативних ДНК-полімераз і як важливий компонент еукариотичної хромосомної ДНК-реплісоми. Подальші дослідження, однак, продемонстрували його здатність взаємодіяти з багатьма партнерами, які беруть участь у кількох метаболічних шляхах, включаючи процесинг фрагментів Оказакі, репарацію ДНК, транслейзійний синтез ДНК, метилювання ДНК, ремоделювання хроматину і регуляцію клітинного циклу. Отже, PCNA в клітинах ссавців відіграє ключову роль у контролі декількох реакцій за допомогою координації та організації різноманітних партнерів [1–3].

Хоча зовнішня поверхня кільця PCNA взаємодіє з полімеразами та іншими факторами, роль внутрішньої стінки, що звернена до ДНК, є неясною. Останні дані свідчать, що консервативні основні залишки у центральному каналі PCNA створюють специфічну поверхню, яка розпізнає кістяк ДНК і дозволяє кільцю ковзати за допомогою обертального руху вздовж спіралі ДНК. Поверхню ковзання можна модулювати за допомогою ацетилювання лізину, який ініціює деградацію PCNA під час репарації видаленням нуклеотидів (nucleotide excision repair — NER) і стимулює відновлення гомологічною рекомбінацією (HR) або шляхом зв'язування білкового фактора p15^{PAF}, який вимикає обхід уражень ДНК. Таким чином, внутрішня поверхня PCNA є високорегульованою відносно контролю стійкості до ушкоджень ДНК. Зі структурної точки зору це відкриває нові перспективи щодо функціонування PCNA і можливості розробки інструментів для маніпулювання реакцією на ушкодження ДНК при лікуванні раку [4].

Взаємодіючими з PCNA білками (PIP) у реплікації ДНК, репарації ДНК і контролі клітинного циклу є: Pol δ, Pol ε, RF-C, ДНК-лігаза I, Fen1, Торо I — реплікація і репарація ДНК; Торо II, MLH1, MSH 2/3/6 — репарація помилково спарених основ ДНК; XP-G ендонуклеаза — репарація видаленням нуклеотидів; WRN-геліказа — репарація подвійних розривів ланцюга ДНК, пов'язана із синдромом Вернера; UBC9 — сумоїлювання; AP-ендонуклеази APN1, APN2, урацил-ДНК-глікозилаза, Pol β — репарація видаленням основ; Pol ι, Pol κ, Pol λ — транслейзійний синтез; Pol η — транслейзійний; пов'язаний із захворюванням XP-V; циклін/CDK, p21 — контроль клітинного циклу.

Білки, що взаємодіють із PCNA у метаболізмі хроматину, когезії сестринських хроматид та апоптозі: CAF-1 — епігенетичне спадкування, мо-

білізація на ушкодження ДНК; P300 — посилення функції PCNA при репарації ДНК; MeCTG — підтримка патерну метилювання; Ctf7p — поєднання когезії сестринських хроматид із реплікацією ДНК; CHL12 — альтернативний клемп-завантажувач при когезії сестринських хроматид; Gadd45, MyD118 — негативний контроль ростових процесів, запобігання апоптозу; Ing1p33ING1 — захист від УФ-індукованого апоптозу [1, 3].

Основні регіони кільця PCNA, що беруть участь у білок-білковій взаємодії: 1) Pol δ, p21, MeCTG, ДНК-лігаза I, Fen1 — міждомenna сполучна петля (амінокислоти від L121 до E132); 2) циклін D — внутрішня сторона α-спіралі на N-кінці; 3) Pol ε, RF-C, CDK2, Gadd45 — C-кінцевий хвіст [1, 3].

Є декілька спеціалізованих метаболічних шляхів для репарації ушкоджень ДНК, включаючи репарацію видаленням нуклеотидів (NER), репарацію видаленням основ (base excision repair — BER), репарацію помилково спарених основ (mismatch repair — MMR) та репарацію подвійних розривів ланцюга (double-strand break repair — DSB). Все це пов'язано з етапом синтезу ДНК, який потребує Pol δ або Pol ε, що вказує на функціонування PCNA. Крім того, що PCNA функціонує як допоміжний фактор для полімерази, він відіграє й іншу роль у репараційних процесах. Для безпомилкового толерантного шляху репарації ушкодження ДНК необхідна поліубіквітинація PCNA. Сумоїлювання PCNA (переважно за Lys-164) мобілізує антирекомбіногенну геліказу Srs2 для інгібування небажаної рекомбінації при синтезі ДНК. Srs2, геліказоподібний фермент, який відриває рекомбіназу Rad51 від хроматину. Цей механізм допомагає реплікації, запобігаючи небажаній рекомбінації між новоутвореними сестринськими хроматидами. Примітно, що Srs2 може безпосередньо зв'язувати PCNA, але завдяки C-кінцевому сумовзаємодіючому домену (SIM) він зв'язує сумоїльовану PCNA з набагато вищою афінністю [5].

Нещодавно було охарактеризовано убіквітин-лігазу E3 — CRL4 Cdt2, яка поєднує протеоліз із синтезом ДНК за допомогою незвичайного механізму, що включає відображення субстратних дегронів на процесивному факторі ДНК-полімерази — PCNA. Завдяки деструкції Cdt1, p21 та Set8, CRL4 Cdt2 проявляє себе як головний регулятор, який перешкоджає ререплікації в S-фазі клітинного циклу [6].

Якщо стикувальний сайт PCNA модифікується, наприклад, у ракових клітинах, реплікація ДНК і процес репарації можуть змінюватися. В такому разі з'являється можливість для таргетної терапії деяких типів раку [7].

У більшості досліджених нами пухлин експресія PCNA у пухлинній тканині перевищує таку в нормальних тканинах [8–10]. У тканині фолікулярної карциноми спостерігався високий рівень експресії PCNA, проте різниця між умовно нормальною та пухлинною тканинами була практично відсутня на відміну від фолікулярної аденоми, де кількість антигена в пухлинній тканині перевищувала його кількість

в умовно нормальній тканині майже в 2,5 рази. Рівень PCNA у пухлинній тканині папілярних карцином був вищим, ніж у нормальній тканині. Слід зазначити, що в інкапсульованих пухлинах це перевищення становило тільки 85 %, тоді як у неінкапсульованих, метастазуючих пухлинах кількість PCNA була вищою від норми в середньому більше ніж утричі, а в окремих пухлинах з метастазами в легені — навіть у 4 рази. В тканині багатовузлового зоба рівень експресії PCNA був низьким (на рівні умовно нормальної тканини більшості пухлин), і різниці між зміненою та умовно нормальною тканинами виявлено не було [8–10]. Отже, кількість PCNA у пухлинних тканинах ЩЗ може служити маркером для оцінки агресивності пухлин.

Для визначення біомаркерів, корисних для діагностики раку ЩЗ та встановлення панелі маркерів щодо раннього виявлення метастатичних карцином ЩЗ було проведено низку досліджень, які, зокрема, показали, що у метастатичних пухлинах рівень PCNA вище майже удвічі, ніж у неметастатичних [11, 12]. Інші дослідники відзначали підвищену експресію PCNA у карциномах ЩЗ порівняно з аденомами [13]. Найвищий рівень експресії PCNA спостерігався в найагресивніших типах раку ЩЗ — анапластичній та медулярній карциномах. У диференційованих пухлинах кількість антигена була дещо меншою, але помітно зростала в інвазивних варіантах цих пухлин [14]. Експресія PCNA була посилена у B-RAF V600E-позитивних РТС порівняно з B-RAF V600E-негативними [15].

Аналіз виживання хворих, який пов'язували з рівнями маркерів PCNA та Ki-67, показав найкращий прогноз у пацієнтів із низькими показниками PCNA (вижили 72,7 %); гірші результати спостерігались у пацієнтів із середніми показниками PCNA — 51,5 %, а найгірший прогноз характерний для пацієнтів з найвищими показниками антигена (виживання лише 12,5 %) [13]. За оцінки 13 білкових маркерів спостерігались значні відмінності в імунореактивності між карциною ЩЗ та аденомами ЩЗ для FHLT, p16, PCNA, p53, MMP-7, HbME-1, E-кадгерину, MMP-2, РТТГ та hTERT. Не було виявлено вірогідних відмінностей для PPAR- γ , Ki-67 або bFGF. У цьому дослідженні в карциномах ЩЗ експресія p53 та PCNA була значно вищою порівняно з аденомами ЩЗ, у той час як експресія Ki-67 не відрізнялася між двома групами [16].

У немеланомних раках шкіри інгібування канцерогенезу супроводжувалося зменшенням експресії PCNA [17].

Мутація p53 (mtp53), яка є онкогенною для молочної залози, також пов'язана зі збільшення експресії PCNA [18].

Рівень експресії PCNA в тканинах раку яєчників був значно вищим, ніж у доброякісних тканинах пухлин яєчників та нормальних тканинах яєчників, а рівні експресії цього показника у тканинах погано і помірно диференційованого раку яєчників були помітно вищі, ніж у тканинах добре диференційованого раку. Експресія PCNA в тканинах раку яєчників з метаста-

зами у лімфатичні вузли була значно вище порівняно з тканинами раку яєчників без метастазування [19].

Зараз проводяться дослідження з розробки інгібіторів PCNA, які могли б мати терапевтичний ефект [20]. Так, дані щодо пригнічення PCNA трийодтироніном (T_3) стали основою синтезу невеликого за розмірами небілкового та, що важливо, негормонального інгібітора T2-аміноспирту, похідного від T_3 . Інгібітор зв'язується з РІР-боксом (PCNA-interacting protein box) антигена, перешкоджаючи останньому взаємодіяти з ДНК та ДНК-полімеразами [21].

PCNA не тільки відіграє важливу роль у регулюванні синтезу та репарації ДНК, але й є незамінним для росту та виживання ракових клітин. Раніше повідомляли про нову асоційовану з раком ізоформу PCNA (saPCNA), яка повсюдно експресується у широкому діапазоні ракових клітин і тканин пухлини, але не в нормальних клітинах [22]. Виявили, що ділянка L126-Y133 saPCNA структурно змінена та доступна для білок-білкової взаємодії. Пептид, який може проникати у клітину і містить послідовність L126-Y133, блокує дію PCNA у ракових клітинах і вибірково вбиває ракові клітини та ксенотрансплантовані пухлини. Були створені невеликі молекули, орієнтовані на цю ділянку пептиду PCNA, як потенційно протиракові агенти широкого спектра. Так, АОН1160 вибірково вбиває багато типів ракових клітин при концентраціях нижче від мікромолярних, не завдаючи значної шкоди нормальним клітинам. АОН1160 перешкоджає реплікації ДНК, блокує гомологічну рекомбінант-опосередковану репарацію ДНК і зумовлює арешт клітинного циклу. Він викликає апоптоз у ракових клітинах та підвищує їх чутливість до цисплатину. Ці результати продемонстрували потенціал інгібітора PCNA — АОН1160 як терапевтичного агента широкого спектра для лікування раку [22].

Є дані, що PCNA регулюється мікроРНК-154-5p [23]. Біоінформаційний аналіз показав, що PCNA-1 є потенційною мішенню мікроРНК-204, яка регулює проліферативні, міграційні та інвазивні можливості ракових клітин легень шляхом взаємодії з PCNA-1 [24].

PCNA експресується на поверхні ракових клітин і діє як інгібуючий ліганд для НК-клітинного рецептора НКp44-ізоформи-1. Одержані моноклональні антитіла проти НКp44-PCNA, які можуть підвищувати НК-клітинну протипухлинну активність як *in vitro*, так і *in vivo* [25].

Шляхи PCNA і JNK1-Stat3 відповідно сприяють та інгібують за зворотним зв'язком ампліфікацію центросом шляхом таргетування комплексу ROCK1/14-3-3 σ в клітинах раку товстої кишки людини [26]. Також PCNA бере участь у формуванні геномної нестабільності та гіперчутливості до ушкоджень ДНК [27], що є важливим у функціонуванні злоякісних пухлин.

Експресія PCNA, Ki-67 і COX-2 має велике значення у виникненні, інвазії та утворенні метастазів при раку молочної залози. Існує сильна кореляція між рівнями експресії цих факторів і рентгенологічними характеристиками при мамографії у інвазивних раках молочної залози. Застосування X-променів у мамографії

дозволяє оцінити рівні експресії PCNA, Ki-67 і COX-2 в тканинах раку молочної залози і тим самим прогнозувати біологічну поведінку цих ракових клітин [28].

Отже, кількість PCNA у пухлинних тканинах ЩЗ та інших типах пухлин може служити діагностичним та прогностичним маркером для оцінки агресивності пухлин, а розробка ефективних інгібіторів антигену може бути перспективним напрямом при лікуванні раку ЩЗ.

Конфлікт інтересів. Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів при підготовці даної статті.

References

1. Maga G, Hubscher U. Proliferating cell nuclear antigen (PCNA): a dancer with many partners. *J Cell Sci.* 2003 Aug 1;116(Pt 15):3051-60. doi: 10.1242/jcs.00653.
2. Slade D. Maneuvers on PCNA rings during DNA replication and repair. *Genes (Basel).* 2018;9(8):E416. doi: 10.3390/genes9080416.
3. Strzalka W, Ziemienowicz A. Proliferating cell nuclear antigen (PCNA): a key factor in DNA replication and cell cycle regulation. *Ann Botany.* 2010;107(7):1127-40. doi: 10.1093/aob/mcq243.
4. De March M, De Biasio A. The dark side of the ring: role of the DNA sliding surface of PCNA. *Crit Rev Biochem Mol Biol.* 2017;52(6):663-673. doi: 10.1080/10409238.2017.1364218.
5. Bergink S, Jentsch S. Principles of ubiquitin and SUMO modifications in DNA repair. *Nature.* 2009;458(7237):461-7. doi: 10.1038/nature07963.
6. Havens CG, Walter JC. Mechanism of CRL4 Cdt2, a PCNA-dependent E3 ubiquitin ligase. *Genes Dev.* 2011 Aug 1;25(15):1568-82. doi: 10.1101/gad.2068611.
7. Smith SJ, Gu L, Phipps EA, et al. A Peptide mimicking a region in proliferating cell nuclear antigen specific to key protein interactions is cytotoxic to breast cancer. *Mol Pharmacol.* 2015 Feb;87(2):263-76. doi: 10.1124/mol.114.093211.
8. Guda BB, Pushkarev VV, Zhuravel EV, et al. Expression of proliferative cells nuclear antigen (PCNA) in normal tissues and in benign, poorly differentiated malignant (with metastatic lesions and without metastases) human thyroid tumors. *Reports of National Academy of Science of Ukraine.* 2015;10:93-7. (In Ukrainian).
9. Guda BB, Pushkarev VM, Pushkarev VV, et al. The expression and activation of extracellular signal-regulated kinase-1/2 and proliferating cell nuclear antigen content in normal tissue and human thyroid tumors. *SM J Endocrinol Metab.* 2015;1(1):1002.
10. Guda BB, Pushkarev VM, Pushkarev VV, et al. Role of mitogen-activated protein kinase (MAPK) in processes of proliferation in human thyroid tumors. *Endokrynologia.* 2016;21(1):5-9.
11. Tomás G, Tarabichi M, Gacquer D, et al. A general method to derive robust organ-specific gene expression-based differentiation indices: application to thyroid cancer diagnostic. *Oncogene.* 2012 Oct 11;31(41):4490-8. doi: 10.1038/onc.2011.626.
12. Liang H, Zhong Y, Luo Z, et al. Diagnostic value of 16 cellular tumor markers for metastatic thyroid cancer: an immunohistochemical study. *Anticancer Res.* 2011 Oct;31(10):3433-40.
13. Liang HS, Zhong YH, Luo ZJ, et al. Comparative analysis of protein expression in differentiated thyroid tumours: a multicentre study. *J Int Med Res.* 2009 May-Jun;37(3):927-38. doi: 10.1177/147323000903700339.
14. Lincoln DT, Al-Yatama F, Mohammed FM, et al. Thioredoxin and thioredoxin reductase expression in thyroid cancer depends on tumour aggressiveness. *Anticancer Res.* 2010 Mar;30(3):767-75.
15. Lee JU, Huang S, Lee MH, et al. Dual specificity phosphatase 6 as a predictor of invasiveness in papillary thyroid cancer. *Eur J Endocrinol.* 2012 Jul;167(1):93-101. doi: 10.1530/EJE-12-0010.
16. Konturek A, Barczyński M, Nowak W, Richter P. Prognostic factors in differentiated thyroid cancer – a 20-year surgical outcome study. *Langenbecks Arch Surg.* 2012 Jun;397(5):809-15. doi: 10.1007/s00423-011-0899-z.
17. Chaudhary SC, Singh T, Talwelkar SS, et al. Erb-041, an estrogen receptor- β agonist, inhibits skin photocarcinogenesis in SKH-1 hairless mice by downregulating the WNT signaling pathway. *Cancer Prev Res (Phila).* 2014 Feb;7(2):186-98. doi: 10.1158/1940-6207.CAPR-13-0276.
18. Polotskaia A, Xiao G, Reynoso K, et al. Proteome-wide analysis of mutant p53 targets in breast cancer identifies new levels of gain-of-function that influence PARP, PCNA, and MCM4. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2015 Mar 17;112(11):E1220-9. doi: 10.1073/pnas.1416318112.
19. Zheng C, Yang R. RCD24, B7-H4 and PCNA expression and clinical significance in ovarian cancer. *J BUON.* 2019 Mar-Apr;24(2):715-719.
20. Horsfall AJ, Abell AD, Bruning J. Targeting PCNA with peptide mimetics for therapeutic purposes. *Chembiochem.* 2019 Jun 27. doi: 10.1002/cbic.201900275.
21. Punchihewa C, Inoue A, Hishiki A, et al. Identification of small molecule proliferating cell nuclear antigen (PCNA) inhibitor that disrupts interactions with PIP-box proteins and inhibits DNA replication. *J Biol Chem.* 2012 Apr 20;287(17):14289-300. doi: 10.1074/jbc.M112.353201.
22. Gu L, Lingeman R, Yakushijin F, et al. The anticancer activity of a first-in-class small-molecule targeting PCNA. *Clin Cancer Res.* 2018 Dec 1;24(23):6053-6065. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-18-0592.
23. Chi JR, Yu ZH, Liu BW, et al. SNHG5 promotes breast cancer proliferation by sponging the miR-154-5p/PCNA axis. *Mol Ther Nucleic Acids.* 2019 Jun 4;17:138-149. doi: 10.1016/j.omtn.2019.05.013.
24. Li P, Wang Q, Wang H. MicroRNA-204 inhibits the proliferation, migration and invasion of human lung cancer cells by targeting PCNA-1 and inhibits tumor growth in vivo. *Int J Mol Med.* 2019 Mar;43(3):1149-1156. doi: 10.3892/ijmm.2018.4044.
25. Kundu K, Ghosh S, Sarkar R, et al. Inhibition of the NKp44-PCNA immune checkpoint using a mAb to PCNA. *Cancer Immunol Res.* 2019 Jul;7(7):1120-1134. doi: 10.1158/2326-6066.CIR-19-0023.
26. Lu YC, Wang P, Wang J, Ma R, Lee SC. PCNA and JNK1-Stat3 pathways respectively promotes and inhibits diabetes-associated centrosome amplification by targeting at the ROCK1/14-3-3 σ complex in human colon cancer HCT116 cells. *J Cell Physiol.* 2019 Jul;234(7):11511-11523. doi: 10.1002/jcp.27813.
27. Becker JR, Gallo D, Leung W, et al. Flap endonuclease overexpression drives genome instability and DNA damage hypersensitivity in a PCNA-dependent manner. *Nucleic Acids Res.* 2018 Jun 20;46(11):5634-5650. doi: 10.1093/nar/gky313.
28. Qiu X, Mei J, Yin J, Wang H, Wang J, Xie M. Correlation analysis between expression of PCNA, Ki-67 and COX-2 and X-ray features in mammography in breast cancer. *Oncol Lett.* 2017 Sep;14(3):2912-2918. doi: 10.3892/ol.2017.6516.

Отримано 20.05.2019 ■

Information about authors

Bogdan Huda, PhD, Senior Researcher at the Department of Surgery, State Institution "V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of the NAMS of Ukraine", Kyiv, Ukraine, e-mail: bguda@ukr.net; ORCID id: <https://orcid.org/0000-0002-9181-0697>

Volodymyr Pushkarev, BD, Chief Research Fellow at the Department of fundamental and applied problems of endocrinology, State Institution "V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of the NAMS of Ukraine", Kyiv, Ukraine, e-mail: pushkarev.vm@gmail.com; ORCID id: <https://orcid.org/0000-0003-0347-7771>

Victor Pushkarev, PhD, Senior Researcher at the Department of fundamental and applied problems of endocrinology, State Institution "V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of the NAMS of Ukraine", Kyiv, Ukraine, e-mail: axolotle@gmail.com; ORCID id: <https://orcid.org/0000-0003-3984-1061>

Olena Kovzun, MD, PhD, Professor, Deputy Director for Science, Senior Researcher at the Department of basic and applied endocrinology, State Institution "V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of the NAMS of Ukraine", Kyiv, Ukraine, e-mail: kovzun.oi@gmail.com; ORCID id: <https://orcid.org/0000-0003-0875-8740>

Mykola Tronko, MD, PhD, Professor, Head of the Department of fundamental and applied endocrinology, Director of the State Institution "V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of the NAMS of Ukraine", Kyiv, Ukraine, e-mail: iem_admin@bigmir.net; ORCID id: <https://orcid.org/0000-0001-7421-0981>

Гуда Б.Б., Пушкарєв В.В., Ковзун Е.И., Пушкарєв В.М., Тронько Н.Д.

ГУ «Институт эндокринологии и обмена веществ им. В.П. Комиссаренко НАМН Украины», г. Киев, Украина

Экспрессия PCNA как маркера пролиферации в доброкачественных и высокодифференцированных злокачественных опухолях щитовидной железы человека (обзор литературы и собственные данные)

Резюме. Определение пролиферативного потенциала клеток опухоли — важная задача для диагностики рака щитовидной железы (ЩЖ). Поэтому необходим поиск маркеров, характеризующих состояние пролиферативных процессов. Ядерный антиген пролиферирующих клеток (PCNA) — белок, необходимый для организации компонентов, участвующих в процессах репликации и репарации ДНК, является наряду с Ki-67 одним из основных маркеров пролиферативных процессов. Последние исследования показали его способность взаимодействовать со многими факторами, участвующими в нескольких метаболических путях, включая репарацию ДНК, транслезионный синтез ДНК, метилирование ДНК, ремоделирование хроматина и регуляцию клеточного цикла. В обзоре приведены данные о его структуре, функции, регуляции и участии в злокачественной трансформации клеток. Для определения биомаркеров, полезных для диагностики рака ЩЖ и установки панели маркеров по раннему выявлению метастатических карцином ЩЖ, был проведен ряд исследований, показавших, что в метастатических опухолях

уровень PCNA выше почти в 2 раза, чем в неметастатических. Отмечена повышенная экспрессия PCNA в карциномах щитовидной железы по сравнению с аденомами. Самый высокий уровень экспрессии PCNA наблюдался в наиболее агрессивных типах рака ЩЖ — анапластической и медуллярной карциномах. В дифференцированных опухолях количество антигена было несколько меньше, но заметно возрастало в инвазивных вариантах этих опухолей. Экспрессия PCNA была усилена в B-RAF V600E-позитивных папиллярных карциномах по сравнению с B-RAF V600E-отрицательными. Анализ выживаемости больных, которую связывали с уровнями маркеров PCNA и Ki-67, показал лучший прогноз у пациентов с низкими показателями PCNA. Худшие результаты наблюдались у пациентов со средними значениями PCNA, а наихудший прогноз характерен для пациентов с высокими уровнями антигена. Обсуждаются возможности подавления PCNA специфическими ингибиторами для терапии некоторых видов рака. **Ключевые слова:** ядерный антиген пролиферирующих клеток, репликация; опухоли щитовидной железы; обзор

B.B. Guda, V.V. Pushkarev, O.I. Kovzun, V.M. Pushkarev, M.D. Tronko

State Institution "V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Kyiv, Ukraine

PCNA expression as a marker of proliferation in benign and highly differentiated malignant tumors of the human thyroid gland (literature review and clinical case)

Abstract. Determining of the proliferative potential of tumor cells is an important task for the diagnosis of thyroid cancer. Therefore, a search for markers characterizing the state of proliferative processes is necessary. Proliferating cell nuclear antigen (PCNA), a protein necessary for the organization of components involved in DNA replication and repair, along with Ki-67 is one of the main markers of proliferative processes. Recent studies have shown its ability to interact with many factors that are involved in several metabolic pathways, including DNA repair, translesion DNA synthesis, DNA methylation, chromatin remodeling and cell cycle regulation. The review presents the data on its structure, function, regulation and involvement in malignant transformation of cells. To determine biomarkers useful for thyroid cancer diagnosis and installing a panel of markers for the early detection of metastatic carcinomas of the thyroid gland, a number of studies have been conducted, which showed that PCNA levels are almost 2-fold higher in metasta-

tic than in non-metastatic tumors. An increased expression of PCNA in thyroid carcinomas was also noted as compared with adenomas. The highest level of PCNA expression was observed in the most aggressive types of thyroid cancer — anaplastic and medullary carcinomas. In differentiated tumors, the amount of antigen was somewhat lower, but it increased markedly in invasive variants of these tumors. PCNA expression was enhanced in B-RAF V600E-positive papillary carcinomas compared with B-RAF V600E-negative. A patient survival analysis that was associated with PCNA and Ki-67 marker levels showed a better prognosis in patients with low PCNA levels. The worse results were observed in patients with moderate PCNA, and the worst prognosis was for patients with high antigen values. The possibilities of suppressing PCNA with specific inhibitors for the treatment of certain types of cancer are discussed.

Keywords: proliferating cell nuclear antigen; replication; thyroid tumors; review