

Erratum in: Sci Rep. 2024 Jul 10;14(1):15932. doi: 10.1038/s41598-024-66731-5. PMID: 38844566; PMCID: PMC11156840. https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC11156840/pdf/41598_2024_Article_63744.pdf

16. Niedzielska IA, Drugacz J, Kus N, Kreska J. Panoramic radiographic predictors of mandibular third molar eruption. //Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2006 Aug;102(2):154-8; discussion 159. doi: 10.1016/j.tripleo.2005.07.003. Epub 2006 Jun 16. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16876055/>

17. Palikarakis G, Mitsea A, Sifakakis I. Effect of mandibular third molars on crowding of mandibular teeth in patients with or without previous orthodontic treatment: a systematic review and meta-analysis. Angle Orthod. 2024 Jan 1;94(1):122-132. doi: 10.2319/032323-205.1. PMID: 37848193; PMCID: PMC10928940. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10928940/pdf/i1945-7103-94-1-122.pdf>

18. Pinto AC, Francisco H, Marques D, Martins JNR, Caramês J. Worldwide Prevalence and Demographic Predictors of Impacted Third Molars-Systematic Review with Meta-Analysis. //J Clin Med. 2024 Dec 11;13(24):7533. doi: 10.3390/jcm13247533. PMID: 39768456. <https://www.mdpi.com/2077-0383/13/24/7533>

19. Puricelli E. Panoramy: suggestion of a method for mandibular measurements on panoramic radiographs. //Head Face Med. 2009 Oct 23;5:19. doi: 10.1186/1746-160X-5-19. PMID: 19852787. [file:///C:/Users/User/Downloads/1746-160X-5-19.pdf](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2746160X-5-19.pdf)

20. Qafarov I.A. Biostatistika. Bakı: Təbib, 2022, 240 s. ISBN: 978-9952-37-813-9.

21. Qamruddin I, Qayyum W, Haider SM, Siddiqui SW, Rehan F.J. Differences in esthetic measurements on panoramic radiograph among erupted and impacted lower third molar groups. //Pak Med Assoc. 2012 Sep;62(9):883-7. PMID: 23139968. [file:///C:/Users/User/Downloads/3666-Differencesinvariousmeasurementsonpanoramicradiographamongeruptedandimpactedlowerthirdmolargroups.pdf](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3666-Differencesinvariousmeasurementsonpanoramicradiographamongeruptedandimpactedlowerthirdmolargroups.pdf)

22. Sandhu S, Kaur T. Radiographic study of the positional changes and eruption of impacted third molars in young adults of an Asian Indian population. //J Oral Maxillofac Surg. 2008 Aug;66(8):1617-24. doi: 10.1016/j.joms.2007.08.015. PMID: 18634949. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0278239107017193>

23. Sebbar M, Bourzgui F. Predictive factors of third molar eruption. //Rev Stomatol Chir Maxillofac. 2011 Nov;112(5):263-8. doi: 10.1016/j.stomax.2011.05.003. Epub 2011 Jul 12. PMID: 21752413 French. <https://www.em-consulte.com/article/667966/alertePM>

24. Selmani M, Bukleta MS, Duci SB. The Role of Dental Arch Dimensions and Impacted Third Molars on Mandibular Anterior Segment Crowding. Eur J Dent. 2024 Oct;18(4):1164-1171. doi: 10.1055/s-0044-1785186. Epub 2024 May 14. PMID: 38744335; PMCID: PMC11479719. [file:///C:/Users/User/Downloads/TheRoleofDentalArchDimensionsandImpactedThirdMolarsonMandibularAnteriorSegment.pdf](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC11479719/file:///C:/Users/User/Downloads/TheRoleofDentalArchDimensionsandImpactedThirdMolarsonMandibularAnteriorSegment.pdf)

25. Ventä I, Murtomaa H, Ylipaavalniemi P.A device to predict lower third molar eruption. //Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 1997 Dec;84(6):598-603. doi: 10.1016/s1079-2104(97)90358-9. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1079210497903589>

26. Ventä I. Predictive model for impaction of lower third molars. //Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 1993 Dec;76(6):699-703. doi: 10.1016/0030-4220(93)90037-5. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/0030422093900375>

27. Yacoub S, Dammak N, Zaalouni S, Hrizi MA, Ben Khelifa M. Prevalence of impacted third molars: a radiographic study among a North African population. Tunis Med. 2024 Jan 5;102(1):32-37. French. doi: 10.62438/tunismed.v102i1.4461. PMID: 38545727; PMCID: PMC11261499. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC11261499/pdf/tunismedv102i1-32-37.pdf>

28. Zawawi K, Melis M. The Role of Mandibular Third Molars on Lower Anterior Teeth Crowding and Relapse after Orthodontic Treatment: A Systematic Review. //Smile Dental Journal. 2014;9(2):45-45. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4032723/pdf/TSWJ2014-615429.pdf>

29. Ziv-On H, Laviv A, Davidovitch M, Sadan N, Abboud WA, Joachim MV. Factors influencing prophylactic extraction of mandibular third molars in orthodontic practice: A cross-sectional study. Am J Orthod Dentofacial Orthop. 2025 Feb 18; S0889-5406(25)00046-0. doi: 10.1016/j.ajodo.2024.12.012. Epub ahead of print. PMID: 39969462.

DOI 10.25789/YMJ.2025.90.04

УДК 617.51/.53-006.61:576.322:577.2

КАКУРИНА Гелена Валерьевна – д.м.н., с.н.с. НИИ онкологии Томского НИМЦ, доцент СибГМУ МЗ РФ, kakurinagv@oncology.tomsk.ru, ORCID: 0000-0002-4506-9429, **СЕРЕДА Елена Евгеньевна** – д.м.н., с.н.с. НИИ онкологии Томского НИМЦ, доцент СибГМУ МЗ РФ, schaschovae@oncology.tomsk.ru, ORCID: 0000-0002-7752-9346, **ЧЕРЕМИСИНА Ольга Владимировна** – д.м.н., зав. отд. НИИ онкологии Томского НИМЦ, CheremisinovaOV@oncology.tomsk.ru, ORCID: 0000-0001-7234-4708, **СИДЕНКО Евгения Александровна** – к.м.н., м.н.с. НИИ онкологии Томского НИМЦ, доцент СибГМУ МЗ РФ, sidenkoevgeniyaaleksandrovna@gmail.com, ORCID: 0000-0001-5838-9459, **ЮНУСОВА Наталья Валерьевна** – д.м.н., гл.н.с. НИИ онкологии Томского НИМЦ, проф. СибГМУ МЗ РФ, bochkarevanv@oncology.tomsk.ru, ORCID: 0000-0003-4595-417, **КОРШУНОВ Дмитрий Афанасьевич** – к.м.н., н.с. НИИ онкологии Томского НИМЦ, ieved@ya.ru, ORCID 0000-0002-1058-3882, **ВАИЗОВА Ольга Евгеньевна** – д.м.н., проф., зав. кафедрой СибГМУ МЗ РФ, oe@ssmu.ru, ORCID: 0000-0003-4083-976X, **КОНДАКОВА Ирина Викторовна** – д.м.н., проф., зав. лаб. НИИ онкологии Томского НИМЦ, kondakova@oncology.tomsk.ru, ORCID: 0000-0002-0947-8778, **ЧОЙНЗОНОВ Евгений Лхамцыренович** – д.м.н., проф., акад. РАН, науч. руковод., врио директора НИИ онкологии Томского НИМЦ, info@tnimc.ru ORCID: 0000-0002-3651-0665

Г.В. Какурина, Е.Е. Середа, О.В. Черемисина, Е.А. Сиденко, Н.В. Юнусова, Д.А. Коршунов, О.Е. Ваизова, И.В. Кондакова, Е.Л. Чойнзонов

СВЯЗЬ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ БЕЛКОВ ЦИТОСКЕЛЕТА И МАРКЕРА ЭПИТЕЛИАЛЬНО-МЕЗЕНХИМАЛЬНОГО ПЕРЕХОДА ВИМЕНТИНА ПРИ ПЛОСКОКЛЕТОЧНОМ РАКЕ ГОРТАНИ

Отсутствие лабораторных методов прогноза метастазирования агрессивного плоскоклеточного рака гортани (ПРГ) обуславливает актуальность исследования, в т.ч. необходимость исследования молекулярных характеристик опухоли. При метастазировании инициация эпителиально-мезенхимального перехода сопровождается увеличением уровня мРНК виментина (VIM) и изменением экспрессии различных генов, включая гены белков цитоскелета. Поэтому целью работы явилась оценка связи уровня мРНК VIM с мРНК белков цитоскелета фасцина-1 (FSCN1), эзрина (EZR), кофилина-1 (CFL1), профилина-1 (PFN1) и аденилилциклаза-ассоциированного протеина 1 (CAP1) и наличием лимфогенных метастазов в опухолевой ткани ПРГ (T1-4N1-2M0). Анализ проводили методом обратного-транскриптной полимеразно-цепной реакции в реальном времени в парных образцах у больных с лимфогенным метастазированием (N1-2) и без него (N0). У больных ПРГ (N1-2) отмечено увеличение уровня мРНК PFN1 в 6,3 раза, по сравнению с группой больных N0. Уровень мРНК эзрина был ниже в 17 раз у больных ПРГ (T3-4N0-2M0) по сравнению с группой больных ПРГ (T1-2N0-1M0). Высокий уровень мРНК VIM сочетался с высоким уровнем мРНК FSCN1 и CAP1 и способствовал усилению силы связи между уровнями мРНК CFL1 и PFN1. Таким образом, прямой зависимости между уровнем маркера ЭМП виментина и метастазированием у пациентов с ПРГ не выявлено. Обнаруженные связи экспрессии генов белков цитоскелета с экспрессией мРНК VIM могут свидетельствовать об активной перестройке цитоскелета, которая обеспечивает высокую миграционную и пролиферативную активность злокачественных клеток ПРГ.

Ключевые слова: эпителиально-мезенхимальный переход, актин-связывающие белки, плоскоклеточный рак гортани, виментин, белки промежуточных филаментов, метастазирование

Aggressive laryngeal squamous cell carcinoma (LSCC) is characterized by a high metastatic potential, which is closely associated with epithelial-mesenchymal transition (EMT). Initiation of EMT is manifested by changes in the expression of some genes, including those associated with cytoskeleton reorganization. Currently, there are no effective methods for predicting metastasis in LSCC patients. In this regard, the study of SCC molecular characteristics remains relevant. In our study we assessed the relationship between the mRNA level of vimentin (VIM) and mRNA of cytoskeleton proteins: fascin-1 (FSCN1), ezrin (EZR), cofilin-1 (CFL1), profilin-1 (PFN1) and adenyl cyclase-associated protein 1 (CAP1) in LSCC tumor tissue. The analysis was carried out using RT-PCR in paired samples from LSCC patients with and without lymph node metastases. The PFN1 mRNA level was found to be 6.3 times higher in LSCC patients with lymph node metastases than in patients without metastases. The EZR mRNA level was 17 times lower in patients with stage T3-4N0-2M0 LSCC than in patients with stage T1-2N0-1M0 LSCC. High VIM mRNA levels were associated with high FSCN1 and CAP1 mRNA levels and contributed to a stronger association between CFL1 and PFN1 mRNA levels. Thus, no direct relationship between the level of VIM as a marker of EMP and metastasis in a sample of LSCC patients was found. However, the detected relationships between the levels of cytoskeleton protein mRNA and vimentin mRNA may indicate an active reorganization of the cytoskeleton, which ensures high migration and proliferative activity of malignant cells of LSCC.

Keywords: epithelial-mesenchymal transition, actin-binding proteins, laryngeal squamous cell carcinoma, vimentin, intermediate filament proteins, metastasis

Для цитирования: Какурина Г.В., Середа Е.Е., Черемисина О.В., Сиденко Е.А., Юнусова Н.В., Коршунов Д.А., Ваизова О.Е., Кондакова И.В., Чойнзонов Е.Л. Связь экспрессии генов белков цитоскелета и маркера эпителиально-мезенхимального перехода виментина при плоскоклеточном раке гортани. Якутский медицинский журнал.2025; 90(2): 19-23. <https://doi.org/10.25789/YMJ.2025.90.04>

Введение. Агрессивность ПРГ ассоциирована с его высоким метастатическим потенциалом, который тесно связан с процессами эпителиально-мезенхимального перехода (ЭМП) [17]. Инициация ЭМП при опухолевом росте приводит к изменению экспрессии различных генов, в т. ч. связанных с реорганизацией цитоскелета. Для клеток опухолей эпителиального происхождения наиболее специфично отражает злокачественную трансформацию активация процессов связанных с ЭМП [11, 13], который сопровождается каскадом молекулярно-генетических изменений: активацией факторов транскрипции, усилением продукции тканевых металлопротеиназ, изменением в содержании актин-связывающих белков (АСБ) и других внутриклеточных событиях [5, 7, 9, 11, 13, 15]. Все эти процессы заканчиваются реорганизацией актинового цитоскелета, которая является заключительным этапом перед началом инвазии опухолевых клеток [7, 8]. Накоплено достаточно доказательств участия виментина не только в регуляции ЭМП, но и в регуляции Wnt/ β -катенин и GSK-3/Snail – сигнальных путей, что позволяет использовать этот белок как маркер ЭМП, и, соответственно, как маркер метастазирования [12]. Ремоделирование цитоскелета опосредуется множеством белков цитоскелета, в том числе АСБ кофилином-1 (CFL1), профилином-1 (PFN1), эзрином (EZR), фасцином-1 (FSCN1) и аденилил-ассоциированным протеином-1 CAP1), которые имеют разные функциональные роли в клетке [6, 9, 19]. В ответ на внеклеточные и внутриклеточные сигналы АСБ и виментин, регулируют

реорганизацию цитоскелета, тем самым принимая участие в инвазии и метастазировании опухолевых клеток [5, 12]. Практически нет данных о взаимосвязи виментина и АСБ, перечисленных выше, в процессе метастазирования при ПРГ. Возможно, оценка в ткани ПРГ взаимосвязи экспрессии гена кодирующего виментин с экспрессионной активностью генов АСБ, и их связи с лимфогенным метастазированием будет полезна в качестве новых подходов в диагностике или разработке терапевтических мишеней. Учитывая, что лабораторные специфические методы прогноза метастазирования ПРГ не внедрены в практику, это направление исследований остается актуальным.

Поэтому **целью** настоящего исследования была оценка связи уровней мРНК виментина и белков цитоскелета CFL1, PFN1, EZR, FSCN1 и CAP1 в опухолевой ткани больных ПРГ, а также связь их экспрессионной активности с метастазированием.

Материалы и методы. В исследовании участвовали 43 пациента с ПРГ, поступившие на лечение в 2017-2021 гг. в НИИ онкологии Томского НИМЦ. Уровень мРНК определяли в образцах опухолей (стадии T1-4N0-1M0) и морфологически неизмененного эпителия, полученные при диагностической видеоларингоскопии. В группу с регионарными метастазами вошли 25 больных ПРГ, и без метастазирования – 18 пациентов. У всех больных диагноз ПРГ был гистологически верифицирован. Полученные образцы тканей помещали и хранили в растворе RNeasy lysis buffer (Qiagen, США) до проведения настоящего анализа. Работа про-

ведена 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 (19.06.2003). Получены информированное согласие каждого пациента и разрешение этического комитета ФГБУ «НИИ онкологии» ТНИМЦ (выписка из протокола № 7 от 24.06.2019).

Выделение мРНК из тканей и получение кДНК. Для экстракции общего пула мРНК из парных образцов тканей использовали набор CCR-50 (Биосилика, Новосибирск), согласно инструкции производителя. Концентрацию и чистоту мРНК оценивали на спектрофотометре NanoDrop-2000 (Thermo Scientific, USA). Синтез кДНК на матрице РНК проводили с помощью набора реагентов для обратной транскрипции «ОТ-1» (Синтол, Москва) согласно инструкции, далее полученную смесь использовали для проведения количественной полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (ПЦР-РВ).

Проведение ПЦР в реальном времени. Уровень экспрессии мРНК генов оценивали методом ПЦР-РВ по технологии Sybr Green на амплификаторе iCycler (Bio-Rad, США). Праймеры были подобраны с использованием программы Vector NTI Advance 11.5 (Thermo Fisher Scientific, США) и базы данных NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucore>) [9]. Для оценки конечного продукта ПЦР на наличие праймер-димеров или неспецифиче-

Таблица 1

Относительная экспрессия мРНК актин-связывающих белков и виментина в опухолевой ткани больных ПРГ в зависимости от лимфогенного метастазирования и в зависимости от распространенности опухолевого процесса, у. е.

мРНК	T1-2N0-1M0	T3-4N0-2M0	N0	N1-2	P1	P2
VIM	0,31 (0,01;41,93)	1,27 (0,22;7,31)	0,39(0,01;41,93)	1,44(0,22;18,00)	0,58	0,28
FSCN1	1,31 (0,03;7,15)	0,94 (0,12;8,00)	0,32(0,04;6,60)	1,73(0,21;14,40)	0,70	0,11
EZR	12,50 (0,57;34,32)	0,72 (0,05;4,67)	3,46(0,06;21,99)	1,53(0,07;8,17)	0,03	0,50
PFN1	1,19 (0,01;7,30)	2,09 (0,18;18,82)	0,40(0,00;4,69)	2,51(0,76;25,99)	0,22	0,01
CFL1	1,53 (0,08;13,77)	1,15 (0,19;6,60)	0,38(0,04;7,75)	3,10(0,19;27,00)	0,94	0,06
CAP1	5,46 (1,07;26,93)	3,30 (0,10;29,25)	3,52(0,22;29,33)	4,55(1,07;28,62)	0,87	0,38

Примечание. N0 – группа пациентов без лимфогенных метастазов; N1-2 – группа пациентов с метастазами; P1 – значимость различий между группами «T1-2N0-1M0» и «T3-4N0-2M0»; P2 – значимость различий между группами «N0» и «N1-2».

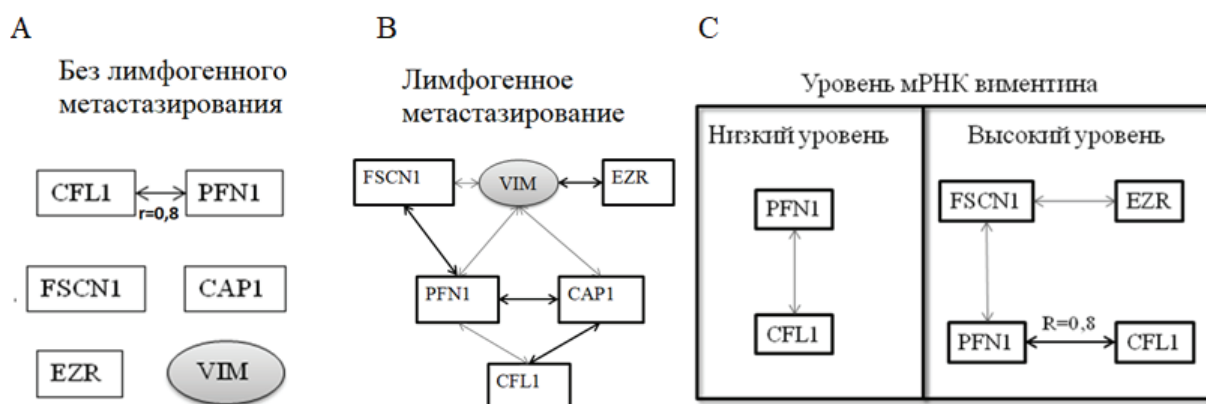


Рис. 1. Экспрессия генов, кодирующих белки цитоскелета, в опухолевой ткани больных раком гортани относительно лимфогенного метастазирования (А и В) и влияние уровня мРНК виментина на коэкспрессию генов АСБ в ткани рака гортани (С)

Примечание: r – коэффициенты корреляции Спирмена. Жирные стрелки $r=0,8$, тонкие – $r = 0,5-0,6$; $p < 0,05$

ских продуктов использовался анализ кривой плавления (Melt). В качестве референсного гена использовали ген фермента глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы (GAPDH). Калибратором служила мРНК (кДНК), выделенная из морфологически не измененного эпителия гортани. Анализ экспрессии проводили по методу $2^{-\Delta\Delta CT}$ [14].

Статистический анализ результатов проводился с применением пакета программ Statistica 6.0 и IBM SPSS Statistics 22.0. После проверки нормальности распределения с помощью критерия Шапиро–Уилка для анализа данных были использованы непараметрический тест U–критерий Манна–Уитни и для анализа взаимосвязей коэффициент ранговой корреляции Спирмена (r). Результаты представлены как Me (Q1; Q3), где Me – медиана и Q1; Q3 – интерквартильный размах. Количество человек в группе – n, P (U-test) – непараметрический тест U-критерий Манна–Уитни. Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$.

Экспрессии гена, кодирующего виментин, в опухолевой ткани больных раком гортани относительно наличия лимфогенного метастазирования

Группы больных ПРГ		уровень мРНК VIM		Всего больных
		низкий	высокий	
Лимфогенное метастазирование	нет	12	13	25
	есть	9	9	18
Всего больных		21	22	43

Результаты и обсуждение. Не выявлено значимых различий в экспрессии гена виментина между группами пациентов с ПРГ «N1-2» и «N 0» и «T1-2N0-1M0» и «T3-4N0-2M0». В опухолевой ткани у больных ПРГ с метастазированием (N1-2) отмечено увеличение уровня мРНК профилина – 1 в 6,3 раза, по сравнению с группой больных без метастазов «N 0». Распространенность опухолевого процесса оказывала влияние на уровень мРНК эзрина, который был ниже почти в 17 раз у больных со стадией заболевания T3-4N0-2M0 по сравнению

с группой больных «T1-2N0-1M0» (табл.1).

Согласно корреляционному анализу, метастазирование влияло на силу и количество связей между экспрессируемыми генами, кодирующими белки цитоскелета. Так у больных ПРГ в группе «N 0» отмечена одна сильная корреляция между уровнем мРНК профилина 1 и кофилина 1 ($r=0,8$; $p < 0,05$). (рис. 1А).

У больных ПРГ с метастазами (рис.1 В) выявлены взаимосвязи средней силы между уровнем экспрессии практически всех исследуемых генов

Таблица 2

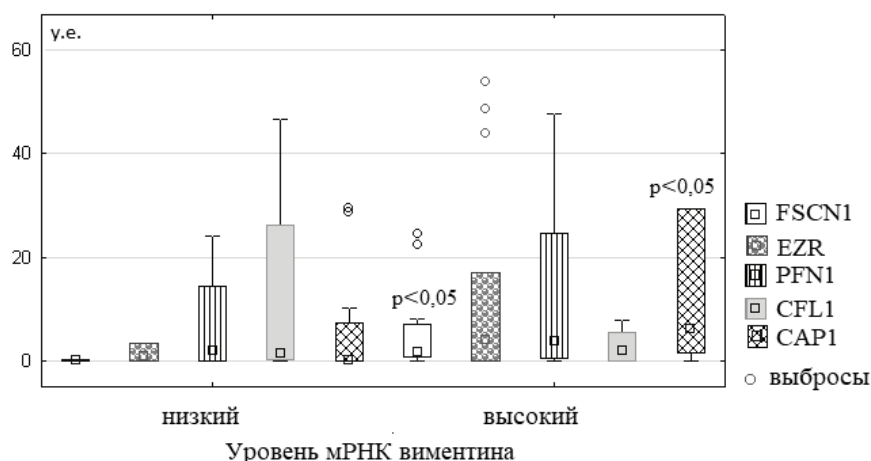


Рис. 2. Уровень экспрессии генов актин-связанных белков в опухолевой ткани больных раком гортани в зависимости от разной экспрессионной активности гена, кодирующего виментин. P – уровень различий между группами, U-test.

($r=0,5-0,6$; $p < 0,05$). При этом уровень мРНК VIM положительно коррелировал с экспрессионной активностью генов FSCN1, EZR, PFN1 и CAP1 ($r=0,6$; $p < 0,05$). Обнаружена положительная взаимосвязь между экспрессионной активностью генов PFN1, CAP1 и CFL1. Устанавливалась сильная связь в цепочке FSCN1- PFN1-CAP1 – CFL1 ($r=0,8$; $p < 0,05$). Таким образом, наличие лимфогенных метастазов увеличивало количество коэкспрессируемых генов, при этом наблюдалась, именно, положительная связь.

Для определения связи изменения уровня экспрессии мРНК виментина и мРНК белков цитоскелета общая выборка больных ПРГ была разделена на группы относительно медианы уровня мРНК виментина в общей группе (0,65 у.е.). Группа больных ПРГ с высоким уровнем мРНК VIM экспрессии (выше 0,65 у.е.) состояла из 9 человек

с лимфогенным метастазированием и без него – 13 больных. Аналогичная картина была и для группы больных с низким уровнем мРНК VIM (ниже 0,65 у.е.) (табл. 2).

Несмотря на то, что лимфогенное метастазирование не связано с уровнем мРНК VIM (табл. 1), изменение этого показателя отражалось на экспрессионной активности других генов цитоскелета. Так, при высоком уровне мРНК VIM достоверно увеличивалась экспрессия генов CAP1 и FSCN-1 (рис. 2). Согласно корреляционному анализу, уровень мРНК VIM влиял на взаимосвязи между экспрессируемыми генами в ткани ПРГ (рис. 1С). Так, при низком уровне мРНК VIM наблюдалась одна корреляционная связь между мРНК PFN1 и CFL1 ($r=0,4$; $p < 0,05$), как в группе пациентов без метастазов (рис.1 А), а при высокой экспрессии гена VIM увеличивалось количество

связей между уровнями мРНК белков цитоскелета и возрастала сила связи между мРНК CFL1 и PFN1 ($r=0,8$; $p=0,04$) (рис.1С).

Таким образом, на представленной выборке показано, что ни лимфогенное метастазирование, ни распространенность опухолевого заболевания при ПРГ не имеет прямой зависимости от экспрессии гена виментина, который является белком промежуточных филаментов III типа и маркером ЭМП. Полученные результаты частично подтверждаются информацией, извлеченной из базы данных GEPIA2 (<http://gepia2.cancer-pku.cn/>), ресурса для анализа экспрессии генов опухолевых и нормальных образцов из TCGA и GTEx наборов данных. Так, согласно анализу GEPIA2, экспрессия гена VIM не имеет связи с распространенностью опухолевого процесса при плоскоклеточном раке головы и шеи (рис. 3А), не экспрессируется на достаточно высоком уровне (рис.3В), и, в т.ч. по сравнению с морфологически не измененной тканью (показатель N, норма), и с изучаемыми в этой работе другими генами (рис.3С).

Несмотря на то, что высокий уровень мРНК VIM не продемонстрировал достоверную разницу в группах больных с метастазами и без них, его тенденция к увеличению сочеталась с достоверным увеличением уровня мРНК PFN1. Кроме этого, высокая экспрессия гена VIM усиливала положительную взаимосвязь между уровнями мРНК CFL1 и PFN1 и способствовала появлению множества взаимосвязей между уровнями мРНК других изучаемых белков. Учитывая, что при метастазировании также наблюдалось установление множества положитель-

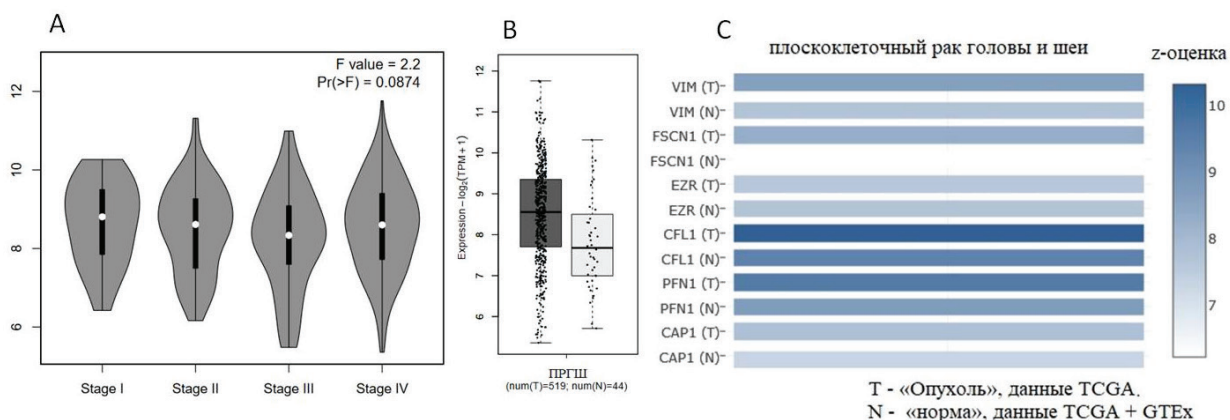


Рис. 3. Экспрессия гена виментина в зависимости от распространенности опухолевого процесса при плоскоклеточном раке головы и шеи (А), в нормальной и опухолевой ткани плоскоклеточного рака головы и шеи (рис.5В), и в сравнении с экспрессией генов фасцина-1, эзрина, кофилина 1, профилина-1 и аденилат-ассоциированного протеина 1 в опухолевой и нормальной ткани плоскоклеточного рака головы и шеи (С).

ных взаимосвязей между уровнями мРНК изучаемых белков, можно сделать вывод о косвенном участии виментина в процессе метастазирования и роста первичной опухоли. Существуют доказательства о регуляции АСБ и другими белками цитоскелета не только локомоторной активности клетки, но и процессов транскрипции, поскольку актин присутствует не только в цитоплазме, но и в ядре клетки. При этом в ядре клетки присутствует именно мономерная форма актина, количество которого зависит от основных АСБ – PFN1 и CFL1 [1, 2]. Возможно, коактивация изучаемых нами генов связана не только с подвижностью опухолевых клеток во время метастазирования, но и с процессами транскрипции, и далее с пролиферативной активностью самой опухоли. В целом, полученные результаты подтверждаются рядом работ, где показана весомая роль белкового тандема CAP1, PFN1 и CFL1 в метастатическом каскаде и коэкспрессия генов, кодирующих эти белки, во время метастазирования [6, 9, 18]. В нашей работе, уровень мРНК эзрина снижался в 17 раз с распространением опухоли со стадии T1-2N0-1M0 до T3-4N0-2M0 у больных ПРГ. Эзрин, белок, соединяющий цитоскелет клетки, мембрану и внеклеточный матрикс, участвует не только в локомоции клеток, но и в адгезии, дифференцировке, пролиферации, передаче сигналов, блеббинге и энтозе [3, 4, 16], и, в том числе в метастазировании [4, 10]. Возможно, для анализа связи EZR с лимфогенным метастазированием нужно учитывать наличие мутаций в его гене, а также экспрессионную активность генов семейства ERM (эзрин-радиксин-мозезин), к которому принадлежит этот белок [19]. Выявленное нами снижение уровня мРНК эзрина, также возможно, связано с нарушением адгезивных свойств опухолевых клеток, что важно для инвазии и метастазирования. Роль эзрина в процессах прогрессирования различных опухолей до сих пор активно изучается [4, 10].

Заключение. В целом, наши данные, дополняют сведения об участии изучаемых генов, кодирующих белки цитоскелета, в патогенезе и, в том числе, в процессе метастазирования при ПРГ. По нашим данным, экспрессия гена маркера ЭМП виментина не является прямым показателем метастазирования при ПРГ. Поэтому, можно предположить наличие других белков-участников молекулярно-биологических изменений сопровождающих метастазирование ПРГ. Для подтверждения полученных результатов и определения конкретных молекулярных механизмов метастазирования ПРГ необходимы дальнейшие исследования, включающие сигнальные молекулы способные регулировать АСБ и другие белки цитоскелета. Тем не менее, полученные результаты могут быть полезны при разработке новых диагностических тестов или терапевтических целей.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Литература

- Kristó, I., Bajusz, I., Bajusz, C., et al. Actin, actin-binding proteins, and actin-related proteins in the nucleus. *Histochem Cell Biol.* 2016. V. 145. P. 373–388. <https://doi.org/10.1007/s00418-015-1400-9>.
- Mokin YI, Povarova OI, Antifeeva IA., et al. Bioinformatics Analysis of Actin Interactome: Characterization of the Nuclear and Cytoplasmic Actin-Binding Proteins. *Protein J.* 2024. V. 43(4). P. 675–682. doi: 10.1007/s10930-024-10207-y.
- Brambilla D, Fais S. The Janus-faced role of ezrin in "linking" cells to either normal or metastatic phenotype. *Int J Cancer.* 2009. V. 125(10). P. 2239–45. doi: 10.1002/ijc.24734.
- Buenaventura RGM, Merlino G, Yu Y. Ez-Metastasizing: The Crucial Roles of Ezrin in Metastasis. *Cells.* 2023. V. 12(12). P. 1620. doi: 10.3390/cells12121620.
- Chikina A.S., Alexandrova A.Y. An In Vitro System to Study the Mesenchymal-to-Amoeboid Transition. *Methods in molecular biology (Clifton, N.J.).* 2018. V. 1749. P. 21–27. doi: 10.1007/978-1-4939-7701-7_3
- Coumans J. V.F., Davey R.J. and Moens P. D.J. Cofilin and profilin: partners in cancer aggressiveness. *Biophys Rev.* 2018. V. 10(5). P. 1323–1335. doi: 10.1007/s12551-018-0445-0.
- Datta A, Deng S, Gopal V, et al. Cytoskel-

etal Dynamics in Epithelial-Mesenchymal Transition: Insights into Therapeutic Targets for Cancer Metastasis. *Cancers (Basel).* 2021.V. 13(8). P. 1882. doi: 10.3390/cancers13081882.

8. Santamaria P.G., Moreno-Bueno G., Portillo F. *Mol Oncol.* 2017. V. 11(7). P. 718–738. doi: 10.1002/1878-0261.12091.

9. G.V. Kakurina, I.V. Kondakova, L.V. Spirina, et al. Expression of Genes Encoding Cell Motility Proteins during Progression of Head and Neck Squamous Cell Carcinoma. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine.* 2018. Vol. 166, No. 2. P. 250–252. DOI 10.1007/s10517-018-4325-1.

10. Zhu Y, Zhang X, Chen Y [et al.] Ezrin's role in gastric cancer progression: Implications for immune microenvironment modulation and therapeutic potential. *Heliyon.* 2024. V. 10(5). P. e27155. doi: 10.1016/j.heliyon.2024.e27155.

11. Yang, J., Antin, P., Bex, G [et al.] Guidelines and definitions for research on epithelial-mesenchymal transition. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2020.V.21. P. 341–352. <https://doi.org/10.1038/s41580-020-0237-9>

12. Sharma P, Alsharif S, Fallatah A [et al.] Intermediate Filaments as Effectors of Cancer Development and Metastasis: A Focus on Keratins, Vimentin, and Nestin. *Cells.* 2019. V. 8(5). P. 497. doi: 10.3390/cells8050497.

13. Kalluri R., Weinberg R. A. The basics of epithelial-mesenchymal transition. *J Clin Invest.* 2009. V.119(6). P. 1420–1428. doi: 10.1172/JCI39104.

14. Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method. *Methods.* 2001. V. 25(4). P. 402–408. doi: 10.1006/meth.2001.1262.

15. Morris H.T.& Machesky L.M. Actin cytoskeletal control during epithelial to mesenchymal transition: focus on the pancreas and intestinal tract. *British Journal of Cancer.* 2015. V. 112. P. 613–620. doi: 10.1038/bjc.2014.658.

16. Hinojosa LS, Holst M, Baarlink C [et al.] MRTF transcription and Ezrin-dependent plasma membrane blebbing are required for entotic invasion. *J Cell Biol.* 2017. V. 216(10). P. 3087–3095. doi: 10.1083/jcb.201702010.

17. Peltanova B., Raudenska M., and Masarik M. Effect of tumor microenvironment on pathogenesis of the head and neck squamous cell carcinoma: a systematic review. *Mol Cancer.* 2019. V. 18. P. 63. doi: 10.1186/s12943-019-0983-5.

18. Joshi P., Riley D.R. J., Khalil J.S., et al. The membrane-associated fraction of cyclase associate protein 1 translocates to the cytosol upon platelet stimulation. *Sci Rep* 2018. V.8. P. 10804. doi: 10.1038/s41598-018-29151-w.

19. Michie KA, Bermeister A, Robertson NO., et al. Two Sides of the Coin: Ezrin/Radixin/Moesin and Merlin Control Membrane Structure and Contact Inhibition. *Int J Mol Sci.* 2019. V. 20(8). P. 1996. doi: 10.3390/ijms20081996.