

## ГЕТЕРОГЕННОСТЬ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ PTP4A3, MMP7, PTGS2 И BIRC5 ПРИ РАКЕ ЖЕЛУДКА

*Люддышева В.А., Смирнов С.Ю., Бабенко А.С., Ревтович М.Ю., Смолякова Р.М.*

*Государственное учреждение «Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова», Минск, Республика Беларусь*

**Реферат.** Внутриопухолевая экспрессия генов PTP4A3, MMP7 и PTGS2 является гетерогенной со средней и значительной степенью изменчивости. Значение коэффициента вариации уровня экспрессии гена BIRC5 превышает 33%, что указывает на неоднородность опухоли. Установлена связь высокого уровня экспрессии гена MMP7 с поражением регионарных лимфоузлов ( $p < 0,05$ ) и со снижением общей выживаемости пациентов ( $p < 0,01$ ). Использование сочетанного анализа генов-мишеней позволяет повысить значимость результатов проводимых исследований.

**Ключевые слова:** ПЦР, внутриопухолевая гетерогенность, экспрессия гена.

**Summary.** Aim. To evaluate the PTP4A3, MMP7, PTGS2, and BIRC5 genes expression heterogeneity in tumor gastric tissue. Method. qPCR. Results. Intratumoral expression of PTP4A3,

MMP7 and PTGS2 genes is heterogeneous with medium and large degree of variability. The BIRC5 gene expression level variation exceeds 33%, indicating tumor heterogeneity. Conclusion. Multiple tumor tissue samples analysis is required to obtain an accurate data of PTP4A3, MMP7, PTGS2, and BIRC5 genes expression level. A combined analysis of target genes can increase the significance of the research results.

**Keywords:** PCR, intratumoral heterogeneity, gene expression.

**Введение.** Согласно данным ВОЗ, рак желудка (РЖ) является одной из основных причин смертности от злокачественных новообразований в мире [1]. Поиск молекулярно-генетических маркеров, ассоциированных с различными аспектами канцерогенеза и способствующих прогнозированию ответа опухоли на терапию, является одним из наиболее актуальных направлений в современной онкологии [2]. Согласно современным экспериментальным данным, в настоящее время допустимо выделять несколько групп молекулярных маркеров, которые в той или иной степени могут быть использованы при прогнозировании эффективности терапии РЖ. Среди них значимы такие молекулярные мишени, как простагландинсинтаза (PTGS2) [3], семейство металлопротеиназ (ММР) и тирозиновые фосфатазы (РТР4А3) [4], сурвивин (BIRC5) [5] и др. Однако прогностическая значимость молекулярных маркеров варьирует от исследования к исследованию. Одной из возможных причин этого является внутриопухолевая молекулярная гетерогенность, усложняющая классификацию опухолей на клинически значимые подтипы [6, 7].

**Цель** исследования — оценка гетерогенности экспрессии генов PTGS2, РТР4А3, ММР7 и BIRC5 при раке желудка.

**Материалы и методы.** Материалом для исследования послужили образцы опухолевой ткани пациентов ( $n = 20$ ), страдающих РЖ IIВ–IIIС стадии, получивших лечение на базе РНПЦ онкологии и медицинской радиологии (РНПЦ ОМР) им. Н.Н. Александрова. Ни один из пациентов не получал лучевую или химиотерапию до операции. От каждого образца опухолевой ткани в исследование было взято 6 случайных срезов. Молекулярно-генетическое исследование проводилось методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме «реального времени». В качестве референсного гена использовали SCARNA5. В качестве контроля использовались образцы нормальной ткани желудка ( $n = 69$ ). Для оценки уровня экспрессии генов-мишеней использовали нормализованные значения Ср (кроссинг поинт). Значения Ср получали методом второй производной кривых флуоресценции ПЦР.

**Результаты и их обсуждение.** Медиана значений коэффициента вариации (CV) относительного уровня экспрессии исследуемых генов при анализе шести срезов одного образца опухолевой ткани для гена PTGS2 составила 33,0%, РТР4А3 — 15,5%, ММР7 — 21,0%, BIRC5 — 66,0%. Гетерогенность по диагностическим уровням экспрессии (гипер-, гипо- или нормальный уровень экспрессии) для одного образца опухолевой ткани выявлена в 45% случаев по гену PTGS2, РТР4А3 и ММР7 — 50%, BIRC5 — 70%.

В ходе статистической обработки данных обнаружена связь гиперэкспрессии ММР7 с поражением регионарных лимфоузлов ( $p < 0,05$ ). При сочетанном использовании для анализа данных гиперэкспрессии ММР7 и гипоекспрессии РТР4А3 значимость данной корреляции возросла до уровня  $p < 0,01$ .

Низкий уровень экспрессии РТР4А3 ( $p < 0,05$ ), высокий BIRC5 или ММР7 ( $p < 0,01$ ;  $r_s = 0,62$  и  $r_s = 0,62$  соответственно) также коррелировал со снижением общей выживаемости пациентов с РЖ. Сочетанное использование гиперэкспрессии BIRC5 и ММР7 при комплексном анализе всех срезов одного пациента повышало значимость данной корреляции до  $r_s = 0,68$  ( $p < 0,01$ ), а если данный молекулярный профиль выявлялся в одном срезе опухолевой ткани РЖ — до  $r_s = 0,81$  ( $p < 0,01$ ).

**Заключение.** Экспрессия генов РТР4А3, ММР7, PTGS2 и BIRC5 является гетерогенной с различной степенью вариации, что указывает на неоднородность опухоли. Анализ одного участка опухоли не позволяет получить точные данные об уровне экспрессии данных генов. При этом показано превышение вариации уровня экспрессии гена BIRC5 над остальными генами, включенными в исследование.

Повышенная экспрессия гена ММР7, выявленная хотя бы в одном срезе опухолевой ткани, коррелирует с поражением регионарных лимфоузлов ( $p < 0,05$ ), а также со снижением общей выживаемости пациентов ( $p < 0,01$ ). Стоит отметить, что сочетанное использование прогностических уровней экспрессии исследованных генов-мишеней позволяет повысить значимость данных корреляций. В особенности если прогностический молекулярный профиль диагностирован в одном срезе опухолевой ткани.

Выявление субпопуляций опухолевых клеток с альтернативным молекулярным профилем, а также использование многофакторного анализа позволяет более точно определить прогностическую значимость экспрессии генов-мишеней.

### **Литература**

1. GLOBOCAN 2012 v1.1 Cancer incidence and mortality worldwide: IARC cancerbase [Electronic resource] / J. Ferlay [et al.]. — Mode of access: <http://globocan.iarc.fr>. — Date of access: 16.01.2015.
2. Molecular markers in gastric cancer: can p53 and Bcl-2 protein expressions be used as prognostic factors? / K. Zafirellis [et al.] // *Anticancer Res.* — 2005. — Vol. 25, № 5. — P. 3629–3636.
3. Immunohistochemical expression of the cyclooxygenase-2 (COX-2) in gastric cancer. The correlations with the tumor angiogenesis and patients' survival / D. Lazăr [et al.] // *Rom. J. Morphol. Embryol.* — 2008. — Vol. 49, № 3. — P. 371–379.
4. Phosphatase of regenerating liver-3 promotes migration and invasion by upregulating matrix metalloproteinases-7 in human colorectal cancer cells / S.K. Lee [et al.] // *Int. J. Cancer.* — 2012. — Vol. 131, № 3. — P. 190–203.
5. Expression of survivin in gastric cancer and its relationship with tumor angiogenesis / G.H. Lee [et al.] // *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.* — 2006. — Vol. 18, № 9. — P. 957–963.
6. Swanton, C. Intratumor heterogeneity: evolution through space and time / C. Swanton // *Cancer Res.* — 2012. — Vol. 72, № 19. — P. 4875–4882.
7. Intratumour heterogeneity in urologic cancers: from molecular evidence to clinical implications / M. Gerlinger [et al.] // *Eur. Urol.* — 2015. — Vol. 67, № 4. — P. 729–737.