

УДК 616.35-006.6-092.18

DOI: <https://doi.org/10.17816/PAVLOVJ134974>

Сравнительный анализ профиля экспрессии генов в опухолевой и здоровой ткани у больных колоректальным раком

С. А. Мерцалов¹, Е. П. Куликов¹, В. В. Стрельников², А. И. Калинин²,
Е. И. Шумская¹, Р. О. Пискунов¹✉

¹ Рязанский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова, Рязань, Российская Федерация;

² Медико-генетический научный центр имени академика Н. П. Бочкова, Москва, Российская Федерация

АННОТАЦИЯ

Введение. В структуре заболеваемости злокачественными новообразованиями колоректальный рак (КРР) без учета пола уверенно лидирует (12,3%). Пятилетняя выживаемость при КРР I стадии — 91%, IV стадии — 14%. Существующие на сегодняшний день методики лечения не помогают существенно снизить смертность — подходы необходимо персонифицировать, в т. ч. с помощью молекулярно-генетических методов.

Цель. Произвести сравнительную оценку экспрессионного профиля образцов опухолевой и здоровой ткани толстой кишки при КРР.

Материалы и методы. Материалом для исследования послужили 19 образцов опухолевой ткани, взятых из патологически измененной ткани слизистой толстого отдела кишечника у 19 пациентов с КРР, и 7 образцов «здоровой» ткани, отобранной на расстоянии 10–12 см дистальнее или проксимальнее от визуальной границы опухоли. Гомогенизация биоптатов выполнена механическим методом. Качество и количество рибонуклеиновой кислоты в элюированном растворе оценивались с помощью наноспектрофотометра IMPLEN (Германия). Для оценки экспрессии генов использовался набор микрочипов SurePrint G3 HumanGeneExpv3 ArrayKit (Agilent, США). Сканирование микрочипов производилось на аппарате InnoScan 1100 AL (США) с последующей обработкой изображения на программном обеспечении Marix Software (США).

Результаты. Анализ экспрессионного профиля продемонстрировал 505 дифференциально экспрессируемых генов, среди них 337 проявили сниженную экспрессию в опухолевом материале и 168 — повышенную. Наиболее высокую экспрессию продемонстрировали гены, связанные с мРНК: hsa-miR-29b-3p и hsa-miR-1-5p, а также гены H19, FOXQ1, INHBA, MMP1, CDH3, CXCL2, MDFI, THBS2. Напротив, гены TMIGD1, GUCA2B, ZG16, AQP8, SLC4A4, CDKN2B-AS1, CA4, CA1 продемонстрировали низкую экспрессию в опухолевом материале. Экспрессия генов, ответственных за функционирование сигнальных путей: IL-17, NF-κappa B, TNF, — увеличена в опухолевых образцах. Гены, ответственные за сигнальные пути «Fatty acid degradation», «Drug metabolism — cytochrome P450», «Metabolic pathways», «Fatty acid metabolism» и «Steroid hormone biosynthesis», показали сниженную экспрессию.

Заключение. Выявлены значительные различия экспрессионного профиля между опухолевой и здоровой тканью у пациентов с КРР. Сравнительный анализ обогащения генов с данными международных баз данных позволил выявить ряд терминов, генов, кластеров, которые в дальнейшем могут быть использованы в поиске предикторов прогноза и ответа на лечение.

Ключевые слова: экспрессионные микрочипы; экспрессионный профиль; колоректальный рак

Для цитирования:

Мерцалов С.А., Куликов Е.П., Стрельников В.В., Калинин А.И., Шумская Е.И., Пискунов Р.О. Сравнительный анализ профиля экспрессии генов в опухолевой и здоровой ткани у больных колоректальным раком // Российский медико-биологический вестник имени академика И. П. Павлова. 2023. Т. 31, № 2. С. 273–282. DOI: <https://doi.org/10.17816/PAVLOVJ134974>

DOI: <https://doi.org/10.17816/PAVLOVJ134974>

Comparative Analysis of Gene Expression Profile in Tumor and Healthy Tissue in Patients with Colorectal Cancer

Sergey A. Mertsalov¹, Evgeniy P. Kulikov¹, Vladimir V. Strel'nikov², Aleksey I. Kalinkin², Evgeniya I. Shumskaya¹, Roman O. Piskunov¹✉

¹ Ryazan State Medical University, Ryazan, Russian Federation;

² Research Centre for Medical Genetics, Moscow, Russian Federation

ABSTRACT

INTRODUCTION: Colorectal cancer (CRC) is a sure leader among malignant neoplasms (12.3%), without taking into account gender. Five-year survival rate in stage I CRC is 91%, in stage IV — 14%. The currently existing treatment methods are helpless to significantly reduce mortality the approaches should be personalized and include the use of molecular genetic methods.

AIM: To perform a comparative evaluation of expression profile of samples of tumor and healthy colon tissue in CRC.

MATERIALS AND METHODS: The material for the study was 19 samples of tumor tissue taken from the pathologically altered colonic mucosa of 19 patients with CRC, and 7 samples of 'healthy' tissue taken 10 cm–12 cm distally or proximally from the visual boundary of the tumor. Biopsy materials were homogenized using a mechanical method. The quality and quantity of ribonucleic acid in the eluted solution were evaluated using IMPLEN nanospectrophotometer (Germany). Gene expression was evaluated using microchip kit SurePrint G3 HumanGeneExpv3 ArrayKit (Agilent, USA). Microchips were scanned on InnoScan 1100 AL apparatus (CLIA) with subsequent image processing in Mapix Software program (USA).

RESULTS: The analysis of expression profile demonstrated 505 differentially expressed genes, 337 of which showed reduced expression and 168 — enhanced expression in the tumor material. The highest expression was demonstrated by genes bound with miRNA: hsa-miR-29b-3p and hsa-miR-1-5p, and also genes H19, FOXQ1, INHBA, MMP1, CDH3, CXCL2, MDFI, THBS2. On the contrary, genes TMIGD1, GUCA2B, ZG16, AQP8, SLC4A4, CDKN2B-AS1, CA4, CA1 demonstrated a low expression in the tumor material. Expression of genes responsible for functioning of signal pathways: IL-17, NF-kappa B, TNF, was increased in tumor samples. Genes responsible for signal pathways *Fatty acid degradation*, *Drug metabolism* — *cytochrome P450*, *Metabolic pathways*, *Fatty acid metabolism* and *Steroid hormone biosynthesis*, showed reduced expression.

CONCLUSION: Significant differences were found in the expression profile of tumor and healthy tissue in patients with CRC. A comparative analysis of gene enrichment and the data of the international databases permitted to identify a number of terms, genes, clusters that can be used in future in search for predictors of prognosis and of response to treatment.

Keywords: *expression microchips; expression profile; colorectal cancer*

For citation:

Mertsalov SA, Kulikov EP, Strel'nikov VV, Kalinkin AI, Shumskaya EI, Piskunov RO. Comparative Analysis of Gene Expression Profile in Tumor and Healthy Tissue in Patients with Colorectal Cancer. *I. P. Pavlov Russian Medical Biological Herald*. 2023;31(2):273–282. DOI: <https://doi.org/10.17816/PAVLOVJ134974>

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ДНК — дезоксирибонуклеиновая кислота
KPP — колоректальный рак
миРНК — микрорибонуклеиновая кислота
РНК — рибонуклеиновая кислота
рРНК — рибосомальная рибонуклеиновая кислота
BP — Biological Processes (биологические процессы, база)
GO — gene ontology (онтология генов)

GSEA — gene set enrichment analysis (анализ обогащения набора генов)
KEGG — Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (Киотская энциклопедия генов и геномов)
MF v molecular functions (v-молекулярные функции)
mirTarBase — microRNA-target Interactions Database (база данных взаимодействий микроРНК с мишенями)
RIN — RNA integrity number (индекс сохранности РНК)

АББРЕВИАТУРЫ ГЕНОВ

AQP8 — Aquaporin 8 (аквапорин 8)
CA1 — Carbonic Anhydrase 1 (карбоангидраза 1)
CDH3 — Cadherin 3 (кадгерин 3)
CDKN2B-AS1 — Cyclin Dependent Kinase Inhibitor 2B — Antisense RNA 1 (ингибитор циклин-зависимой киназы 2B — антисмысловая РНК 1)
CXCL2 — Chemokine (C-X-C motif) Ligand 2 (хемокиновый (C-X-C мотив) лиганд 2)
FOXQ1 — Forkhead Box Q1 (белок семейства FOX)
GUCA2B — Guanylate Cyclase Activator 2B (активатор гуанилатциклазы 2B)
H19 — Gene for a Long Noncoding RNA (ген длинной некодирующей РНК)

INHBA — Inhibin beta A (ингибин бета A)
MDFI — MyoD Family Inhibitor (ингибитор семейства MyoD)
MMP1 — Matrix Metalloproteinase 1 (матриксная металлопротеиназа 1)
SLC4A4 — Solute Carrier Family 4 Member 4 (семейство переносчиков растворителей 4 член 4)
THBS2 — Thrombospondin 2 (тромбоспондин 2)
TMIGD1 — Transmembrane and Immunoglobulin Domain Containing 1 (трансмембранный и иммуноглобулиновый домен, содержащий 1)
ZG16 — Zymogen Granule Protein 16 (зимогенный гранулярный белок 16)

ВВЕДЕНИЕ

По данным А. Д. Каприна, и др. в структуре заболеваемости злокачественными новообразованиями KPP без учета пола уверенно лидирует, составляя 12,3%. При этом ежегодный темп прироста составляет 4,24% [1], пятилетняя выживаемость на I стадии — 91%, на IV стадии — 14% [2, 3].

Развитие KPP связано с экологическими и генетическими факторами. В понимании молекулярного патогенеза рака толстой кишки, который включает четыре основных механизма: последовательность аденома-карцинома, наследственные формы, дефицит ферментов репарации дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) и микросателлитная нестабильность, — достигнут большой прогресс [5]. Однако точные молекулярные механизмы до конца неясны, а существующие на сегодняшний день методики лечения не помогают существенно снизить смертность, все это, в свою очередь, дает основание утверждать, что подходы к лечению необходимо персонифицировать [4].

Индивидуализировать подход можно с помощью молекулярно-генетических методов, позволяющих не только обнаружить генетические аномалии, мутации, но и идентифицировать их продукты транскрипции — *экспрессионный профиль*, который является генетическим «портретом» новообразования. Одним из перспективных направлений является *экспрессионный микрочиповый анализ*, который уже доказал

свою эффективность при прогнозировании течения и ответа на лечение рака молочной железы [6], опухолях кроветворной системы и лимфопролиферативных заболеваниях [7]. Поскольку особенности течения опухолевого процесса, ответ на проводимую терапию и прогноз во многом обусловлены генетическим профилем, большое количество научных исследований направлено на поиск связи молекулярно-генетического «портрета» клеток с онкопатологическими процессами и их течением при различных локализациях рака.

Цель — провести сравнительную оценку экспрессионного профиля образцов опухолевой и здоровой ткани толстой кишки при колоректальном раке.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проводилось на базе Рязанского государственного медицинского университета имени академика И. П. Павлова, Областного клинического онкологического диспансера (г. Рязань), Медико-генетического научного центра имени академика Н. П. Бочкова (г. Москва). Одобрено Локальным этическим комитетом Рязанского государственного медицинского университета имени академика И. П. Павлова (Протокол № 5 от 09.12.2020). Все включенные пациенты подписали информированное согласие.

Материалы исследования получены при видеоколоноскопии с биопсией у 19 пациентов с верифици-

рованным диагнозом рака толстой кишки: 19 образцов опухолевой ткани, взятых из патологически измененной ткани слизистой толстого кишечника, и 7 образцов «здоровой» ткани. Участок «здоровой» ткани выбирался визуально на расстоянии 10–12 см дистальнее или проксимальнее видимой границы опухоли. Для транспортировки и хранения биоматериала использовался раствор стабилизирующего реагента RNAlater (Thermo Fisher Scientific Inc., США).

Следующий этап выполнялся в Центральной научно-исследовательской лаборатории Рязанского государственного медицинского университета имени академика И. П. Павлова. Гомогенизация ткани проводилась механическим методом, в 500 мкл лизирующего раствора с добавлением меркаптоэтанол. Далее происходило выделение рибонуклеиновой кислоты (РНК) на спин-колонках набора RNeasy Plus Mini Kit (Qiagen, США) с использованием фильтрующих ДНК и РНК-мембран согласно инструкции производителя. Качество и количество РНК в элюированном растворе оценивались с помощью наноспектрофотометра IMPLEN (Германия). Важным показателем качества РНК является интегральный показатель сохранности РНК (англ.: *RNA Integrity Number*, RIN). Выделяют три класса RIN: высокая степень сохранности РНК (RIN \approx 10), частично деградированная РНК (RIN до 5), полностью деградированная РНК (RIN \approx 3) [8].

Анализ полос, соответствующих индивидуальному образцу РНК и маркеру молекулярного размера, проводился автоматически. В результате анализа генерировался профиль и рассчитывались количественные и качественные характеристики образца РНК. При анализе образцов РНК получаемые результаты имитировали электрофоретическое разделение. Мажорные полосы в области 49 и 42 соответствовали 28S и 18S рРНК. В работу брались образцы, строго отвечающие оптимальным параметрам чистоты (с RIN не менее 7,5, а большая часть с показателем 8,0 и выше).

Для оценки экспрессии генов использован набор микрочипов SurePrint G3 HumanGeneExpv3 ArrayKit (Agilent, США). Сканирование микрочипов выполнено на аппарате InnoScan 1100 AL (США).

Данные с микрочипового анализатора были предоставлены для биоинформатической обработки в Медико-генетический научный центр имени академика Н. П. Бочкова (соглашение о сотрудничестве от 30.05.2022). Всего было получено данных от 19 образцов колоректального рака и 7 образцов нормальной ткани (слизистая толстой кишки). Верификация диагноза имела у всех пациентов. Гистологически опухоли были представлены аденокарциномами, преимущественно умеренной дифференцировки. Стадию заболевания устанавливали согласно Международной классификации TNM 8-й редакции (2018 г.). Для импорта, контроля качества полученных данных, поиска дифференциально экспрессируемых генов использовался пакет Limma.

С целью идентификации сигнальных путей и молекулярных функций за счет анализа обогащения сигнальных путей использован пакет ClusterProfiler. Для всех вычислений и пакетов использовался язык программирования R версии 3.6.3.

Для процедуры поиска дифференциально экспрессируемых генов был использован метод moderated t-statistics, который реализован в пакете программ Limma. При множественном тестировании возможны ошибки первого рода (большое количество ложноположительных результатов), которые мы регулировали с помощью поправки на множественное тестирование, установленной нами на уровне 0.09 (из-за относительно небольшого количества образцов, но с целью контроля и недопущения пропуска большого количества ложноположительных результатов). В основе анализа обогащения сигнальных путей лежит гипергеометрический тест, для отсечки наиболее значимых сигнальных путей была также взята поправка на множественное тестирование, установленная на уровне 0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ

После импорта сырых данных, полученных с экспрессионных чипов, проведена проверка на различие между образцами и нормализация входных данных. После нормализации данных — коррекция шума, после чего данные были очищены от плохих и технических микрочиповых зондов. Как можно увидеть на рисунке 1, данным требовалась дополнительная нормализация и последующая фильтрация.

Было обнаружено 505 дифференциально экспрессируемых генов, среди них 337 продемонстрировали сниженную экспрессию в опухолевом материале и 168 — повышенную экспрессию. Было выявлено, что ген *CA1* наименее экспрессируется со средним отрицательным показателем экспрессии ($\log FC = -4,31$), также более низкие значения экспрессии выявлены у генов *TMIGD1*, *GUCA2B*, *ZG16*, *AQP8*, *SLC4A4*, *CDKN2B-AS1*, *CA4*. Напротив, ген *H19* демонстрирует самую высокую среднюю положительную экспрессию ($\log FC = 4,23$). Помимо этого гена, высокую экспрессию демонстрируют *FOXQ1*, *INHBA*, *MMP1*, *CDH3*, *CXCL2*, *MDF1*, *THBS2*. На рисунке 2 графически отражены результаты поиска дифференциально экспрессируемых генов.

Для получения данных о роли дифференциально экспрессируемых генов в биологических процессах, молекулярных функциях и сигнальных путях мы использовали GO (англ.: *Gene Ontology*), KEGG (англ.: *Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes*) анализ, а также miTarBase анализ для генов, которые регулируются с помощью малых интерферирующих (микро-) РНК (миРНК).

В ходе анализа было выявлено 44 и 75 биологических процессов, регулируемых с помощью пониженной и повышенной экспрессии генов соответственно (рис. 3).

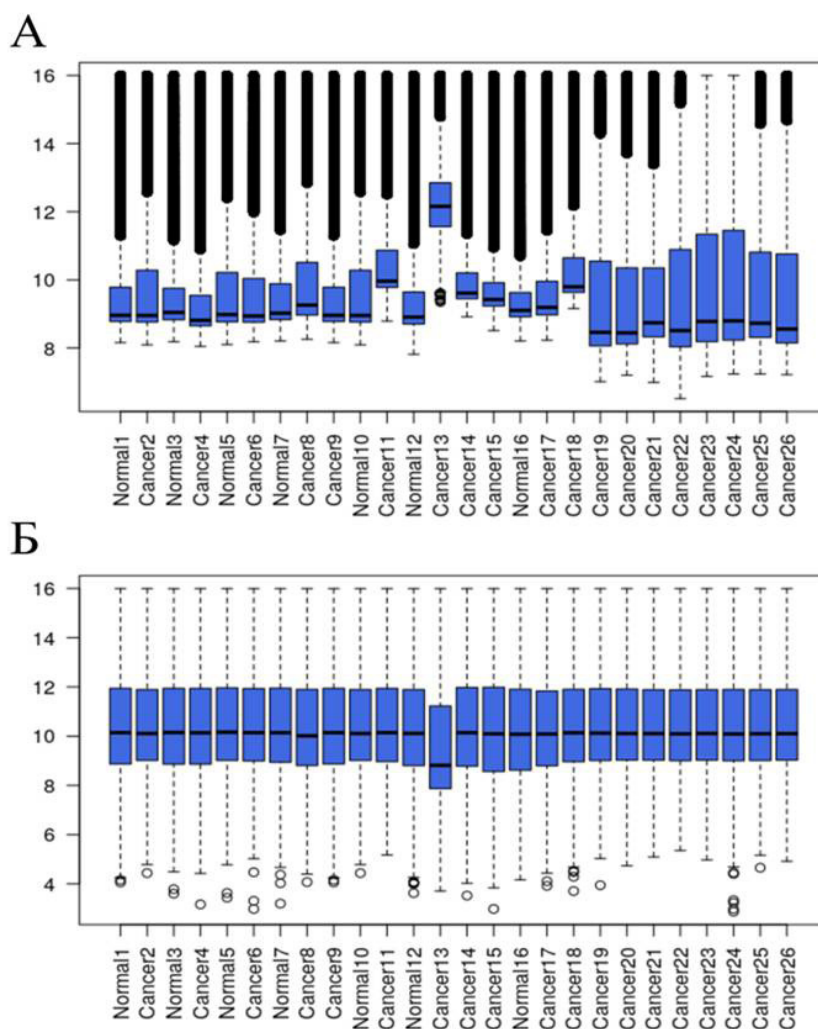


Рис. 1. Диаграммы размаха для (А) сырых данных, полученных с экспрессионных чипов и (Б) данных, полученных после фильтрации и проведении нормализации.

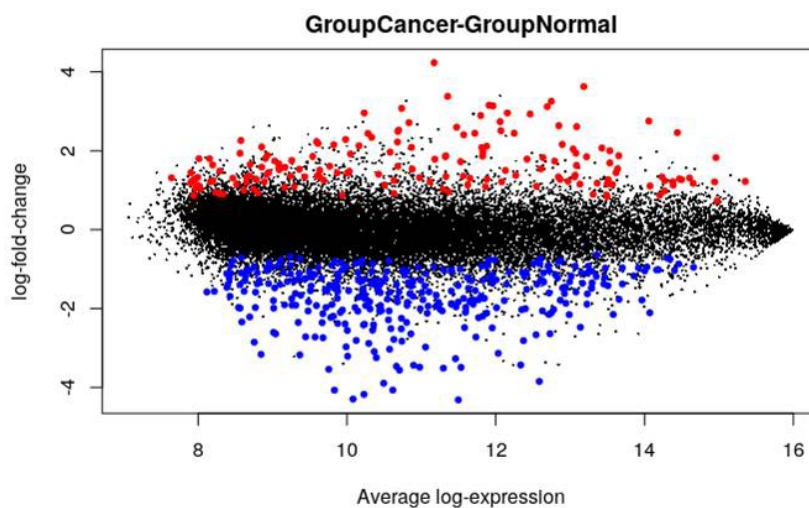


Рис. 2. Идентификация дифференциально экспрессируемых генов при раке толстого отдела кишечника.
Примечание: красные и синие точки указывают повышенную и пониженную экспрессию генов в опухолевом материале пациентов.

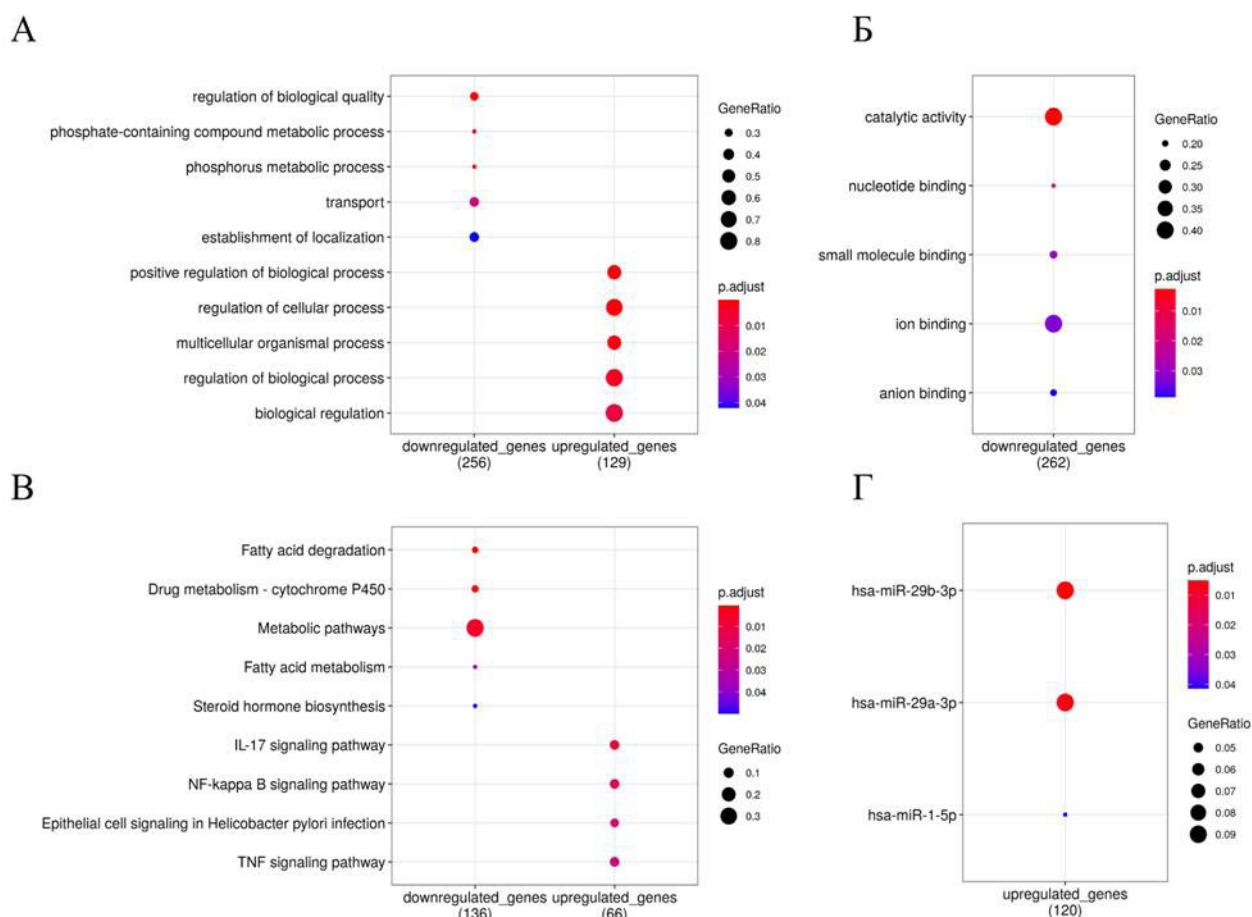


Рис. 3. Анализ биологических процессов (А), молекулярных функций (Б), сигнальных путей (В) и миРНК (Г) для групп с повышенной и пониженной экспрессией генов. По оси х — группы экспрессий, по оси у — измененные в ходе повышенной и пониженной экспрессии генов различные процессы и сигнальные пути.

Указанные биологические, молекулярные процессы, а также сигнальные пути играют важную роль в процессах регуляции, транспорта, адгезии молекул, каталитической активности, метаболизма лекарственных средств, биосинтеза, деградации и метаболизма жирных кислот. Нами получены данные о сигнальных путях «*NF-kappa B*», «*TNF*» и регуляции различных миРНК.

ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе анализа данных экспрессии генов, полученных с микрочипов, было выявлено 337 с пониженной и 168 с повышенной экспрессией. Ген *CA1* (карбоангидраза 1) отражает самую низкую экспрессию в опухолевом материале, что подтверждается другими исследованиями экспрессионного профиля [9]. *CA1* является потенциальным онкогеном и способствует аномальной кальцификации, апоптозу и миграции клеток при раке молочной железы [10]. Изоферменты карбоангидразы

могут играть важную роль в развитии рака, поскольку контролируют гомеостаз pH в опухолях, что, по-видимому, моделирует поведение раковых клеток [11].

Экспрессия гена *H19* (ген длинной некодирующей РНК) повышена в опухолевом материале, что может приводить к активации эпителиально-мезенхимального перехода и в дальнейшем к метастазированию и инвазии [12, 13]. Дальнейшие исследования подтвердили, что экспрессия *H19* приводит к активации сигнального пути *Raf-ERK* и индуцированию эпителиально-мезенхимального перехода, что, по-видимому, коррелирует с метастазированием у пациентов с колоректальным раком [14]. Также гены, задействованные в эпителиально-мезенхимальном переходе, участвуют не только в миграции и инвазии раковых клеток, но и в угнетении клеточной гибели, регуляции клеточного цикла, а также в процессах, ответственных за резистентность к лучевой терапии и химиотерапии [15, 16].

Для более объемного анализа и понимания значения полученных профилей экспрессируемых генов

в биологических процессах мы использовали анализ обогащения набора генов (англ.: *Gene Set Enrichment Analysis*, GSEA) на базе данных Gene Ontology (GO). Например, проведенный на основе статистических методов анализ обогащения набора генов, которые активируются при определенных условиях (в частности, при раке), обнаружил, какие термины (совокупности генов) из этой базы данных представлены в избытке (гиперэкспрессированны) или недостатке по сравнению с генами в здоровой ткани. Считается, что обнаруженные таким образом различия отражаются на морфо-функциональном уровне.

Анализ баз «GO: BP» и «GO: MF» показал, что термины биологических процессов «*regulation of biological quality*», «*phosphate-containing compound metabolic process*», «*phosphorus metabolic process*», «*transport*» и «*establishment of localization*» изменены при пониженной экспрессии генов, тогда как «*positive regulation of biological process*», «*regulation of cellular process*», «*multicellular organismal process*», «*regulation of biological process*» и «*biological regulation*» изменены при повышенной экспрессии генов. Термины «*catalytic activity*», «*nucleotide binding*», «*small molecule binding*», «*ion binding*» и «*anion binding*» изменяют свою активность при сниженной экспрессии генов [17–21]. Однако основные механизмы, через которые соответствующие гены в этих биологических и молекулярных терминах способствуют онкогенезу все еще остаются неописанными. Следовательно, дальнейшее исследование этих идентифицированных биологических и молекулярных терминов может помочь как в выяснении основных механизмов канцерогенеза КРР, так и персонификации подходов к терапии данных больных.

Анализ сигнальных путей с помощью базы данных KEGG выявил, что сигнальные пути «*Fatty acid degradation*», «*Drug metabolism — cytochrome P450*», «*Metabolic pathways*», «*Fatty acid metabolism*» и «*Steroid hormone biosynthesis*» изменены при пониженной экспрессии генов, в то время как сигнальные пути «*IL-17*», «*NF-kappa B*», «*TNF*» изменены при повышенной экспрессии генов. Сигнальные пути «*Fatty acid degradation*» и «*Fatty acid metabolism*» играют важную роль в патогенезе различных онкологических заболеваний. В недавнем исследовании C. Ding, et al. получена сигнатура из генов жирных кислот, которые эффективно предсказывают выживаемость для пациентов с колоректальным раком, а также устойчивость к 5-фторурацилу [21]. Сигнальный путь «*Drug metabolism — cytochrome P450*» и сниженная экспрессия генов, связанных с ним, может свидетельствовать о приобретенной устойчивости к 5-фторурацилу [22]. Гены, которые связаны с «*Metabolic pathways*», имеют высокий потенциал к терапевтическим воздействиям [23]. Гены, которые высоко экспрессируются в сигнальном пути «*IL-17 signaling pathway*», могут приводить к онкогенезу

путем стимулирования выработки ростовых факторов и гликолізу, ангиогенезу, метастазированию рака толстой кишки [24]. Высокая экспрессия генов сигнального пути «*NF-kappa B*» приводит к прогрессированию колоректального рака, в то время как терапевтическое воздействие на гены этого сигнального пути приводит к снижению пролиферации, метастазированию и ангиогенезу и повышает уровень апоптоза и чувствительности к химиотерапевтическим препаратам [25]. Гены, принадлежащие к сигнальному пути «*TNF*», экспрессия которых повышена, вносят свой вклад в микроокружение опухоли, и их гиперэкспрессия может приводить к эпителиально-мезенхимальному переходу и последующему метастазированию [26].

Повышение экспрессии генов, связанных с hsa-miR-29b-3p, приводит к повышению ангиогенеза и эпителиально-мезенхимальному переходу, что ассоциировано с плохой выживаемостью у пациентов с колоректальным раком [27]. Роль hsa-miR-29a-3p как онкогена или онкосупрессора и связанных с ним генов до сих пор остается неутонченной, однако его рассматривают как диагностический и прогностический маркер [28]. По данным A. Safa, et al. hsa-miR-1-5p может подавлять прогрессирование колоректального рака, в то время как активная экспрессия генов, связанная с этой миРНК, будет мешать этому процессу [29].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, был выполнен анализ экспрессионного профиля больных колоректальным раком, получены данные о 505 дифференциально экспрессируемых генах, среди них 337 проявили сниженную экспрессию в опухолевом материале и 168 — повышенную экспрессию. Наиболее высокую экспрессию продемонстрировали гены, связанные с миРНК (hsa-miR-29b-3p и hsa-miR-1-5p), а также гены *H19*, *FOXQ1*, *INHBA*, *MMP1*, *CDH3*, *CXCL2*, *MDF1*, *THBS2*. Напротив, гены *TMIGD1*, *GUCA2B*, *ZG16*, *AQP8*, *SLC4A4*, *CDKN2B-AS1*, *CA4*, а также ген *CA1* продемонстрировали низкую экспрессию в опухолевом материале.

Экспрессия генов, ответственных за функционирование сигнальных путей «*IL-17*», «*NF-kappa B*», «*TNF*» увеличена в опухолевых образцах. Гены, ответственные за сигнальные пути «*Fatty acid degradation*», «*Drug metabolism — cytochrome P450*», «*Metabolic pathways*», «*Fatty acid metabolism*» и «*Steroid hormone biosynthesis*», показали сниженную экспрессию в опухолевом материале. Полученные результаты экспрессионного профиля могут быть экстраполированы на клинические данные, для поиска предикторов прогноза и ответа на лечение пациентов данной группы. Такие маркеры в перспективе позволят персонифицировать подход к лечению каждого пациента.

ДОПОЛНИТЕЛЬНО

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания Минобрнауки России № FGFF-2022-0004 для Медико-генетического научного центра имени академика Н. П. Бочкова (2023).

Конфликт интересов. Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Вклад авторов: Мерцалов С. А. — постановка целей и задач, работа с пациентами, сбор лабораторного материала, работа с первичным материалом, проведение статистического анализа, анализ литературы, формулировка выводов, редактирование; Куликов Е. П. — постановка целей и задач, работа с пациентами, сбор лабораторного материала, работа с первичным материалом, проведение статистического анализа, анализ литературы, формулировка выводов, редактирование; Стрельников В. В. — проведение статистического анализа, анализ литературы, формулировка выводов, построение графиков и диаграмм, редактирование; Калинин А. И. — проведение статистического анализа, анализ литературы, формулировка выводов, построение графиков и диаграмм, редактирование; Шумская Е. И. — пробоподготовка и микрочиповый анализ, редактирование, работа с первичным материалом, проведение лабораторных исследований; Пискунов Р. О. — работа с пациентами, анализ литературы, оформление работы, перевод текста, формулировка выводов. Авторы подтверждают соответствие своего авторства международным критериям ICMJE (все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией).

Funding. The work was performed within the framework of the state assignment of the Ministry of Education and Science of Russia No. FGFF-2022-0004 for Research Center for Medical Genetics: Moscow to carry out research in 2023.

Conflict of interests. The authors declare no conflicts of interests.

Contribution of the authors: S. A. Mertsalov — setting goals and objectives, working with patients, collecting laboratory material, working with primary material, conducting statistical analysis, analyzing the literature, drawing conclusions; E. P. Kulikov — setting goals and objectives, working with patients, collecting laboratory material, working with primary material, conducting statistical analysis, analyzing the literature, drawing conclusions; V. V. Strel'nikov — conducting statistical analysis, analyzing the literature, drawing conclusions, construction of graphs and charts, editing; A. I. Kalinkin — article concept, bioinformatic and statistical information processing, construction of graphs and charts, editing; E. I. Shumskaya — sample preparation and microarray analysis, editing, work with primary material, conducting laboratory research; R. O. Piskunov — working with patients, analyzing the literature, completing the paper, translating the text, and drawing conclusions. The authors confirm the correspondence of their authorship to the ICMJE International Criteria. All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published and agree to be accountable for all aspects of the work.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

- Каприн А.Д., Старинский В.В., Шахзадова А.О., ред. Злокачественные новообразования в России в 2020 году (заболеваемость и смертность). М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России; 2021.
- Dienstmann R., Mason M.J., Sinicrope F.A., et al. Prediction of overall survival in stage II and III colon cancer beyond TNM system: a retrospective, pooled biomarker study // *Annals of Oncology*. 2017. Vol. 28, No. 5. P. 1023–1031. doi: [10.1093/annonc/mdx052](https://doi.org/10.1093/annonc/mdx052)
- Böckelman C., Engelmann B.E., Kaprio T., et al. Risk of recurrence in patients with colon cancer stage II and III: a systematic review and meta-analysis of recent literature // *Acta Oncologica*. 2015. Vol. 54, No. 1. P. 5–16. doi: [10.3109/0284186X.2014.975839](https://doi.org/10.3109/0284186X.2014.975839)
- Куликов Е.П., Судаков А.И., Никифоров А.А., и др. Значение полиморфизма генов в развитии колоректального рака // Российский медико-биологический вестник имени академика И. П. Павлова. 2020. Т. 28, № 2. С. 127–134. doi: [10.23888/PAVLOVJ2020282127-134](https://doi.org/10.23888/PAVLOVJ2020282127-134)
- Brenner H., Kloor M., Pox C.P. Colorectal cancer // *Lancet*. 2014. Vol. 383, No. 9927. P. 1490–1502. doi: [10.1016/S0140-6736\(13\)61649-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(13)61649-9)
- Cardoso F., van't Veer L.J., Bogaerts J., et al.; MINDACT Investigators. 70-Gene Signature as an Aid to Treatment Decisions in Early-Stage Breast Cancer // *The New England Journal of Medicine*. 2016. Vol. 375, No. 8. P. 717–729. doi: [10.1056/NEJMoA1602253](https://doi.org/10.1056/NEJMoA1602253)
- Greiner T.C. mRNA Microarray Analysis in Lymphoma and Leukemia. In: Finn WG, Petron LAC, editors. Hematopathology in Oncology. Cancer Treatment and Research. Springer; Boston, MA; 2004. Vol. 121. doi: [10.1007/1-4020-7920-6_1](https://doi.org/10.1007/1-4020-7920-6_1)
- Андреева Т.В., Кунижева С.С. Анализ регуляторных РНК, связанных с развитием болезней мозга. М.: Цифровичок; 2012.
- Liu H.Y., Zhang C.J. Identification of differentially expressed genes and their upstream regulators in colorectal cancer // *Cancer Gene Therapy*. 2017. Vol. 24, No. 6. P. 244–250. doi: [10.1038/cgt.2017.8](https://doi.org/10.1038/cgt.2017.8)
- Zheng Y., Xu B., Zhao Y., et al. CA1 contributes to microcalcification and tumorigenesis in breast cancer // *BMC Cancer*. 2015. Vol. 15. P. 679. doi: [10.1186/s12885-015-1707-x](https://doi.org/10.1186/s12885-015-1707-x)
- Kummola L., Hämäläinen J.M., Kivelä J., et al. Expression of a novel carbonic anhydrase, CA XIII, in normal and neoplastic colorectal mucosa // *BMC Cancer*. 2005. Vol. 5. P. 41. doi: [10.1186/1471-2407-5-41](https://doi.org/10.1186/1471-2407-5-41)
- Zhou W., Ye X.-L., Xu J., et al. The lncRNA H19 mediates breast cancer cell plasticity during EMT and MET plasticity by differentially sponging miR-200b/c and let-7b // *Science Signaling*. 2017. Vol. 10, No. 483. P. eaak9557. doi: [10.1126/scisignal.aak9557](https://doi.org/10.1126/scisignal.aak9557)
- De Craene B., Berx G. Regulatory networks defining EMT during cancer initiation and progression // *Nature Reviews. Cancer*. 2013. Vol. 13, No. 2. P. 97–110. doi: [10.1038/nrc3447](https://doi.org/10.1038/nrc3447)
- Zhang Y., Huang W., Yuan Y., et al. Long non-coding RNA H19 promotes colorectal cancer metastasis via binding to hnRNP A2B1 // *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*. 2020. Vol. 39, No. 1. P. 141. doi: [10.1186/s13046-020-01619-6](https://doi.org/10.1186/s13046-020-01619-6)
- Mejlvang J., Kriaevska M., Vandewalle C., et al. Direct repression of cyclin D1 by SIP1 attenuates cell cycle progression in cells undergoing an epithelial mesenchymal transition // *Molecular Biology of the Cell*. 2007. Vol. 18, No. 11. P. 4615–4624. doi: [10.1091/mbc.e07-05-0406](https://doi.org/10.1091/mbc.e07-05-0406)
- Ansieau S., Bastid J., Doreau A., et al. Induction of EMT by twist proteins as a collateral effect of tumor-promoting inactivation of premature senescence // *Cancer Cell*. 2008. Vol. 14, No. 1. P. 79–89.

doi: [10.1016/j.ccr.2008.06.005](https://doi.org/10.1016/j.ccr.2008.06.005)

17. Yu C., Chen F., Jiang J., et al. Screening key genes and signaling pathways in colorectal cancer by integrated bioinformatics analysis // *Molecular Medicine Reports*. 2019. Vol. 20, No. 2. P. 1259–1269. doi: [10.3892/mmr.2019.10336](https://doi.org/10.3892/mmr.2019.10336)
18. Qiu X., Feng J.-R., Wang F., et al. Profiles of differentially expressed genes and overexpression of NEBL indicates a positive prognosis in patients with colorectal cancer // *Molecular Medicine Reports*. 2018. Vol. 17, No. 2. P. 3028–3034. doi: [10.3892/mmr.2017.8210](https://doi.org/10.3892/mmr.2017.8210)
19. Lascorz J., Chen B., Hemminki K., et al. Consensus pathways implicated in prognosis of colorectal cancer identified through systematic enrichment analysis of gene expression profiling studies // *PLoS One*. 2011. Vol. 6, No. 4. P. e18867. doi: [10.1371/journal.pone.0018867](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0018867)
20. Li C., Gao Y., Lu C., et al. Identification of potential biomarkers for colorectal cancer by clinical database analysis and Kaplan-Meier curves analysis // *Medicine*. 2023. Vol. 102, No. 6. P. e32877. doi: [10.1097/MD.00000000000032877](https://doi.org/10.1097/MD.00000000000032877)
21. Bian Q., Chen J., Qiu W., et al. Four targeted genes for predicting the prognosis of colorectal cancer: A bioinformatics analysis case // *Oncology Letters*. 2019. Vol. 18, No. 5. P. 5043–5054. doi: [10.3892/ol.2019.10866](https://doi.org/10.3892/ol.2019.10866)
22. Ding C., Shan Z., Li M., et al. Characterization of the fatty acid metabolism in colorectal cancer to guide clinical therapy // *Molecular Therapy Oncolytics*. 2021. Vol. 20. P. 532–544. doi: [10.1016/j.omto.2021.02.010](https://doi.org/10.1016/j.omto.2021.02.010)
23. Shen Y., Tong M., Liang Q., et al. Epigenomics alternations and dynamic transcriptional changes in responses to 5-fluorouracil

- stimulation reveal mechanisms of acquired drug resistance of colorectal cancer cells // *The Pharmacogenomics Journal*. 2018. Vol. 18, No. 1. P. 23–28. doi: [10.1038/tpj.2016.91](https://doi.org/10.1038/tpj.2016.91)
24. Qiu C., Zhang Y., Chen L. Impaired Metabolic Pathways Related to Colorectal Cancer Progression and Therapeutic Implications // *Iranian Journal of Public Health*. 2020. Vol. 49, No. 1. P. 56–67.
25. Razi S., Noveiry B.B., Keshavarz-Fathi M., et al. IL-17 and colorectal cancer: From carcinogenesis to treatment // *Cytokine*. 2019. Vol. 116. P. 7–12. doi: [10.1016/j.cyto.2018.12.021](https://doi.org/10.1016/j.cyto.2018.12.021)
26. Soleimani A., Rahmani F., Ferns G.A., et al. Role of the NF- κ B signaling pathway in the pathogenesis of colorectal cancer // *Gene*. 2020. Vol. 726. P. 144132. doi: [10.1016/j.gene.2019.144132](https://doi.org/10.1016/j.gene.2019.144132)
27. Goodla L., Xue X. The Role of Inflammatory Mediators in Colorectal Cancer Hepatic Metastasis // *Cells*. 2022. Vol. 11, No. 15. P. 2313. doi: [10.3390/cells11152313](https://doi.org/10.3390/cells11152313)
28. Ding D., Li C., Zhao T., et al. LncRNA H19/miR-29b-3p/PGRN Axis Promoted Epithelial-Mesenchymal Transition of Colorectal Cancer Cells by Acting on Wnt Signaling // *Molecules and Cells*. 2018. Vol. 41, No. 5. P. 423–435. doi: [10.14348/molcells.2018.2258](https://doi.org/10.14348/molcells.2018.2258)
29. Mo W.-Y., Cao S.-Q. MiR-29a-3p: a potential biomarker and therapeutic target in colorectal cancer // *Clinical & Translational Oncology*. 2023. Vol. 25, No. 3. P. 563–577. doi: [10.1007/s12094-022-02978-6](https://doi.org/10.1007/s12094-022-02978-6)
30. Safa A., Bahroudi Z., Shoorei H., et al. miR-1: A comprehensive review of its role in normal development and diverse disorders // *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2020. Vol. 132. P. 110903. doi: [10.1016/j.biopha.2020.110903](https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.110903)

REFERENCES

1. Kaprin AD, Starinskiy VV, Shakhzadova AO, editors. *Zlokachestvennyye novoobrazovaniya v Rossii v 2020 godu (zabolevayemost' i smertnost')*. Moscow; 2021. (In Russ).
2. Dienstmann R, Mason MJ, Sinicrope FA, et al. Prediction of overall survival in stage II and III colon cancer beyond TNM system: a retrospective, pooled biomarker study. *Ann Oncol*. 2017;28(5):1023–31. doi: [10.1093/annonc/mdx052](https://doi.org/10.1093/annonc/mdx052)
3. Böckelman C, Engelmann BE, Kaprio T, et al. Risk of recurrence in patients with colon cancer stage II and III: a systematic review and meta-analysis of recent literature. *Acta Oncol*. 2015;54(1):5–16. doi: [10.3109/0284186X.2014.975839](https://doi.org/10.3109/0284186X.2014.975839)
4. Kulikov EP, Sudakov AI, Nikiforov AA, et al. Significance of gene polymorphism in development of colorectal cancer. *I. P. Pavlov Russian Medical Biological Herald*. 2020;28(2):127–34. (In Russ). doi: [10.23888/PAVLOVJ2020282127-134](https://doi.org/10.23888/PAVLOVJ2020282127-134)
5. Brenner H, Kloor M, Pox CP. Colorectal cancer. *Lancet*. 2014; 383(9927):1490–502. doi: [10.1016/S0140-6736\(13\)61649-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(13)61649-9)
6. Cardoso F, van't Veer LJ, Bogaerts J, et al.; MINDACT Investigators. 70-Gene Signature as an Aid to Treatment Decisions in Early-Stage Breast Cancer. *N Engl J Med*. 2016;375(8):717–29. doi: [10.1056/NEJMoa1602253](https://doi.org/10.1056/NEJMoa1602253)
7. Greiner TC. mRNA Microarray Analysis in Lymphoma and Leukemia. In: Finn WG, Petron LAC, editors. *Hematopathology in Oncology. Cancer Treatment and Research*. Springer; Boston, MA; 2004. Vol. 121. doi: [10.1007/1-4020-7920-6_1](https://doi.org/10.1007/1-4020-7920-6_1)
8. Andreyeva TV, Kunizheva SS. *Analiz regulatorynykh RNK, svyazannykh s razvitiem bolezney mozga*. Moscow: Tsifrovichok; 2012. (In Russ).
9. Liu HY, Zhang CJ. Identification of differentially expressed genes and their upstream regulators in colorectal cancer. *Cancer Gene Ther*. 2017;24(6):244–50. doi: [10.1038/cgt.2017.8](https://doi.org/10.1038/cgt.2017.8)
10. Zheng Y, Xu B, Zhao Y, et al. CA1 contributes to microcalcification and tumorigenesis in breast cancer. *BMC Cancer*. 2015;15:679. doi: [10.1186/s12885-015-1707-x](https://doi.org/10.1186/s12885-015-1707-x)
11. Kummola L, Hämäläinen JM, Kivelä J, et al. Expression of a novel carbonic anhydrase, CA XIII, in normal and neoplastic colorectal mucosa. *BMC Cancer*. 2005;5:41. doi: [10.1186/1471-2407-5-41](https://doi.org/10.1186/1471-2407-5-41)
12. Zhou W, Ye X-L, Xu J, et al. The lncRNA H19 mediates breast cancer cell plasticity during EMT and MET plasticity by differentially sponging miR-200b/c and let-7b. *Sci Signal*. 2017;10(483):eaak9557. doi: [10.1126/scisignal.aak9557](https://doi.org/10.1126/scisignal.aak9557)
13. De Craene B, Berx G. Regulatory networks defining EMT during cancer initiation and progression. *Nat Rev Cancer*. 2013;13(2):97–110. doi: [10.1038/nrc3447](https://doi.org/10.1038/nrc3447)
14. Zhang Y, Huang W, Yuan Y, et al. Long non-coding RNA H19 promotes colorectal cancer metastasis via binding to hnRNP A2B1. *J Exp Clin Cancer Res*. 2020;39(1):141. doi: [10.1186/s13046-020-01619-6](https://doi.org/10.1186/s13046-020-01619-6)
15. Mejlvang J, Kriaevska M, Vandewalle C, et al. Direct repression of cyclin D1 by SIP1 attenuates cell cycle progression in cells undergoing an epithelial mesenchymal transition. *Mol Biol Cell*. 2007;18(11):4615–24. doi: [10.1091/mbc.e07-05-0406](https://doi.org/10.1091/mbc.e07-05-0406)
16. Ansieau S, Bastid J, Doreau A, et al. Induction of EMT by twist proteins

as a collateral effect of tumor-promoting inactivation of premature senescence. *Cancer Cell*. 2008;14(1):79–89. doi: [10.1016/j.ccr.2008.06.005](https://doi.org/10.1016/j.ccr.2008.06.005)

17. Yu C, Chen F, Jiang J, et al. Screening key genes and signaling pathways in colorectal cancer by integrated bioinformatics analysis. *Mol Med Rep*. 2019;20(2):1259–69. doi: [10.3892/mmr.2019.10336](https://doi.org/10.3892/mmr.2019.10336)

18. Qiu X, Feng J-R, Wang F, et al. Profiles of differentially expressed genes and overexpression of NEBL indicates a positive prognosis in patients with colorectal cancer. *Mol Med Rep*. 2018;17(2):3028–34. doi: [10.3892/mmr.2017.8210](https://doi.org/10.3892/mmr.2017.8210)

19. Lascorz J, Chen B, Hemminki K, et al. Consensus pathways implicated in prognosis of colorectal cancer identified through systematic enrichment analysis of gene expression profiling studies. *PLoS One*. 2011;6(4):e18867. doi: [10.1371/journal.pone.0018867](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0018867)

20. Li C, Gao Y, Lu C, et al. Identification of potential biomarkers for colorectal cancer by clinical database analysis and Kaplan-Meier curves analysis. *Medicine*. 2023;102(6):e32877. doi: [10.1097/MD.00000000000032877](https://doi.org/10.1097/MD.00000000000032877)

21. Bian Q, Chen J, Qiu W, et al. Four targeted genes for predicting the prognosis of colorectal cancer: A bioinformatics analysis case. *Oncol Lett*. 2019;18(5):5043–54. doi: [10.3892/ol.2019.10866](https://doi.org/10.3892/ol.2019.10866)

22. Ding C, Shan Z, Li M, et al. Characterization of the fatty acid metabolism in colorectal cancer to guide clinical therapy. *Mol Ther Oncolytics*. 2021;20:532–44. doi: [10.1016/j.omto.2021.02.010](https://doi.org/10.1016/j.omto.2021.02.010)

23. Shen Y, Tong M, Liang Q, et al. Epigenomics alternations and dynamic transcriptional changes in responses to 5-fluorouracil stimulation reveal

mechanisms of acquired drug resistance of colorectal cancer cells. *Pharmacogenomics J*. 2018;18(1):23–8. doi: [10.1038/tpj.2016.91](https://doi.org/10.1038/tpj.2016.91)

24. Qiu C, Zhang Y, Chen L. Impaired Metabolic Pathways Related to Colorectal Cancer Progression and Therapeutic Implications. *Iran J Public Health*. 2020;49(1):56–67.

25. Razi S, Noveiry BB, Keshavarz-Fathi M, et al. IL-17 and colorectal cancer: From carcinogenesis to treatment. *Cytokine*. 2019;116:7–12. doi: [10.1016/j.cyto.2018.12.021](https://doi.org/10.1016/j.cyto.2018.12.021)

26. Soleimani A, Rahmani F, Ferns GA, et al. Role of the NF-κB signaling pathway in the pathogenesis of colorectal cancer. *Gene*. 2020;726:144132. doi: [10.1016/j.gene.2019.144132](https://doi.org/10.1016/j.gene.2019.144132)

27. Goodla L, Xue X. The Role of Inflammatory Mediators in Colorectal Cancer Hepatic Metastasis. *Cells*. 2022;11(15):2313. doi: [10.3390/cells11152313](https://doi.org/10.3390/cells11152313)

28. Ding D, Li C, Zhao T, et al. LncRNA H19/miR-29b-3p/PGRN Axis Promoted Epithelial-Mesenchymal Transition of Colorectal Cancer Cells by Acting on Wnt Signaling. *Mol Cells*. 2018;41(5):423–35. doi: [10.14348/molcells.2018.2258](https://doi.org/10.14348/molcells.2018.2258)

29. Mo W-Y, Cao S-Q. MiR-29a-3p: a potential biomarker and therapeutic target in colorectal cancer. *Clin Transl Oncol*. 2023;25(3):563–77. doi: [10.1007/s12094-022-02978-6](https://doi.org/10.1007/s12094-022-02978-6)

30. Safa A, Bahroudi Z, Shoorei H, et al. miR-1: A comprehensive review of its role in normal development and diverse disorders. *Biomed Pharmacother*. 2020;132:110903. doi: [10.1016/j.biopha.2020.110903](https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.110903)

ОБ АВТОРАХ

Мерцалов Сергей Александрович, к.м.н., доцент;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8804-3034>;
eLibrary SPIN: 3925-4546; email: mrst16rzn@yandex.ru

Куликов Евгений Петрович, д.м.н., профессор;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4926-6646>;
eLibrary SPIN: 8925-0210; email: e.kulikov@rzgmu.ru

Стрельников Владимир Викторович, д.б.н.;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9283-902X>;
eLibrary SPIN: 9118-7267; e-mail: vstrel@list.ru

Калинкин Алексей Игоревич;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9215-4581>;
eLibrary SPIN: 6746-0447; e-mail: alexeika2@yandex.ru

Шумская Евгения Игоревна;
ORCID: <https://orcid.org/0009-0002-7223-6058>;
eLibrary SPIN: 3047-7723; e-mail: evenok84@mail.ru

***Пискунов Роман Олегович**;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3238-3192>;
e-mail: feodal123@yandex.ru

AUTHOR'S INFO

Sergey A. Mertsalov, MD, Cand. Sci. (Med.), Associate Professor;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8804-3034>;
eLibrary SPIN: 3925-4546; email: mrst16rzn@yandex.ru

Evgeniy P. Kulikov, MD, Dr. Sci. (Med.), Professor;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4926-6646>;
eLibrary SPIN: 8925-0210; email: e.kulikov@rzgmu.ru

Vladimir V. Strel'nikov, Dr. Sci. (Biol.);
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9283-902X>;
eLibrary SPIN: 9118-7267; e-mail: vstrel@list.ru

Aleksey I. Kalinkin;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9215-4581>;
eLibrary SPIN: 6746-0447; e-mail: alexeika2@yandex.ru

Evgeniya I. Shumskaya;
ORCID: <https://orcid.org/0009-0002-7223-6058>;
eLibrary SPIN: 3047-7723; e-mail: evenok84@mail.ru

***Roman O. Piskunov**;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3238-3192>;
e-mail: feodal123@yandex.ru

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author