

УДК 616-092

Значимость группы генов длинных некодирующих РНК в прогрессии рака яичников

Лукина С.С.¹, Бурдённый А.М.¹, Пронина И.В.¹, Логинов В.И.^{1,2}, Брага Э.А.^{1,2}

¹ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»
125315, Москва, ул. Балтийская, д. 8

² Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова»
115522, Москва, ул. Москворечье, д. 1

Рак яичников относится к наиболее агрессивным и неблагоприятным формам рака у женщин с быстрым прогрессированием и высоким метастатическим потенциалом. Ключевую роль в развитии этого заболевания может играть нарушение эпигенетической регуляции экспрессии длинных некодирующих РНК (днРНК) вследствие aberrантного метилирования их генов.

Цель: изучить характер метилирования и экспрессии генов днРНК *GAS5*, *HOTAIR* и *SNHG6* в опухолях больных раком яичников и оценить связь этих эпигенетических нарушений с прогрессией и метастазированием заболевания.

Методы: Анализ уровней метилирования и экспрессии днРНК проводили методом ПЦР в реальном времени на выборке парных (опухоль/норма) образцов, полученных от пациенток с раком яичников. Статистический и корреляционный анализ выполняли в программной среде R.

Результаты: Выявлено значимое повышение уровня метилирования генов *GAS5*, *HOTAIR* и *SNHG6* в опухолевой ткани по сравнению с нормой. Тот же результат показан для генов *GAS5* и *SNHG6* при прогрессии опухоли, включая метастазирование. Уровень экспрессии при этом для *HOTAIR* и *SNHG6* значительно снижался в опухоли. Выявлена отрицательная корреляция между уровнем метилирования гена *SNHG6* и уровнем его экспрессии.

Заключение: Полученные данные указывают на важную роль эпигенетической дерегуляции днРНК в патогенезе рака яичников и могут найти применение в прогнозировании и разработке персонализированных подходов к терапии.

Ключевые слова: рак яичников; длинные некодирующие РНК; метилирование; экспрессия.

Для цитирования: Лукина С.С., Бурдённый А.М., Пронина И.В., Логинов В.И., Брага Э.А. Значимость группы генов длинных некодирующих РНК в прогрессии рака яичников. *Патогенез*. 2024; 22(2): 59-62.

DOI: 10.25557/2310-0435.2024.02.59-62

Для корреспонденции: Лукина Светлана Сергеевна, e-mail: sveta_sergeevna349@mail.ru

Финансирование. Работа выполнена за счет средств Российского научного фонда (грант РФФ №20-15-00368-П).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила: 10.06.2024.

The significance of the lncRNA gene group in ovarian cancer progression

Lukina S.S.¹, Burdennyu A.M.¹, Pronina I.V.¹, Loginov V.I.^{1,2}, Braga E.A.^{1,2}

¹ Institute of General Pathology and Pathophysiology
Baltiyskaya St. 8, Moscow 125315, Russian Federation

² Academician N.P. Bochkov Research Centre for Medical Genetics
Moskvorech'ye Str. 1, Moscow 115522, Russian Federation

Ovarian cancer is one of the most aggressive and unfavorable forms of cancer in women with rapid progression and high metastatic potential. A key role in the development of this disease may be played by a disruption in the epigenetic regulation of the expression of long non-coding RNAs (lncRNAs) due to aberrant methylation of their genes.

Objective: To study the methylation and expression patterns of the lncRNA genes *GAS5*, *HOTAIR*, and *SNHG6* in ovarian cancer tumors and evaluate the association of these epigenetic abnormalities with disease progression and metastasis.

Methods: Analysis of lncRNA methylation and expression levels was performed by RT-PCR on paired (tumor/normal) samples obtained from ovarian cancer patients. Statistical and correlation analysis was performed in the R software environment.

Results: A significant increase in the methylation level of the *GAS5*, *HOTAIR*, and *SNHG6* genes was observed in tumor tissue compared to normal tissue. The same result was shown for the *GAS5* and *SNHG6* genes during tumor progression, including metastasis. The expression level for *HOTAIR* and *SNHG6* was significantly decreased in the tumor. A negative correlation was found between the methylation level of the *SNHG6* gene and its expression level.

Conclusion: The obtained data indicate an important role of epigenetic deregulation of lncRNAs in the pathogenesis of ovarian cancer and may find application in predicting and developing personalized approaches to therapy.

Key words: ovarian cancer; long non-coding RNAs; methylation; expression.

For citation: Lukina S.S., Burdennyu A.M., Pronina I.V., Loginov V.I., Braga E.A. [The significance of the lncRNA gene group in ovarian cancer progression]. *Patogenez [Pathogenesis]*. 2024; 22(2): 59-62. (in Russian)

DOI: 10.25557/2310-0435.2024.02.59-62

For correspondence: Lukina Svetlana Sergeevna, e-mail: sveta_sergeevna349@mail.ru

Funding. The work was carried out at the expense of the Russian Science Foundation (RSF grant № 20-15-00368-P).

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Received: 10.06.2024.

Введение

Рак яичников относится к наиболее агрессивным и неблагоприятным формам рака у женщин с быстрым прогрессированием и высоким метастатическим потенциалом [1]. Ключевую роль в развитии этого заболевания может играть нарушение эпигенетической регуляции экспрессии длинных некодирующих РНК (днРНК) вследствие aberrантного метилирования их генов.

Цель исследования: изучить характер метилирования и экспрессии генов днРНК *GAS5*, *HOTAIR* и *SNHG6* в опухолях больных раком яичников и оценить связь этих эпигенетических нарушений с прогрессией и метастазированием заболевания.

Материалы и методы исследования

Для анализа использовали 119 парных образцов опухолевой и условно нормальной ткани яичника от больных раком яичников (РЯ) из НМИЦ онкологии имени Н.Н. Блохина. Опухоли классифицированы по TNM и гистологически верифицированы по критериям ВОЗ [2]. Больные до операции не получали терапию. Работа проведена с соблюдением принципов Хельсинкской декларации [3].

Выделяли высокомолекулярную ДНК и РНК из образцов с высоким содержанием опухолевых клеток. Для оценки уровней метилирования и экспрессии была проведена ПЦР в реальном времени. При оценке уровня метилирования проводилась метил-специфичная ПЦР,

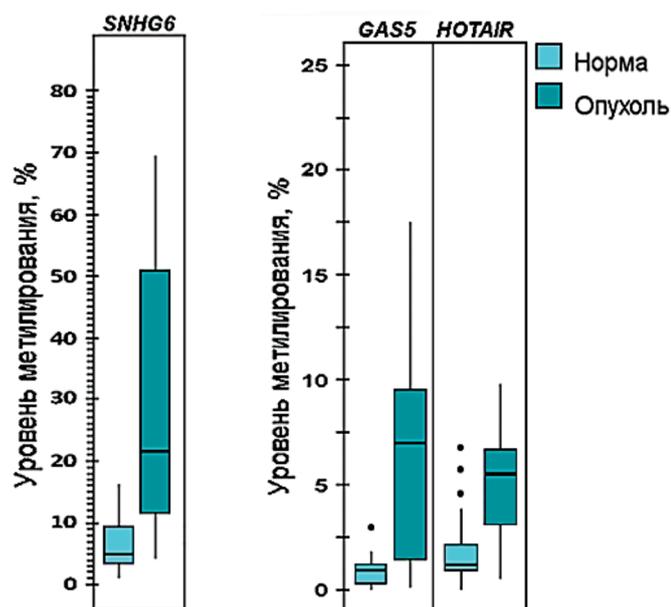


Рис. 1. Профили метилирования генов днРНК *GAS5*, *HOTAIR*, *SNHG6* в образцах РЯ. Рассчитано с применением непараметрического критерия Манна-Уитни; $p < 0,05$

а для определения уровней экспрессии предварительно проводилась обратная транскрипция с образованием кДНК матрицы [4].

Статистический анализ данных экспрессии и метилирования проводили в программной среде R. Для оценки значимости различий между исследуемыми группами ($p \leq 0,05$) были использованы непараметрические критерии Манна-Уитни и Спирмена для независимых событий.

Результаты исследования

Проведенный анализ уровня метилирования выявил повышение уровня метилирования для всех трёх исследованных генов днРНК (рис. 1).

На более тяжёлых клинических стадиях (III-IV) в сравнении с менее тяжёлыми стадиями (I-II), в образцах с большей распространённостью первичной опухоли и в образцах с низкой степенью дифференцировки (G_3) относительно уровня метилирования в образцах с более высокой степенью (G_1 , G_2) наблюдается дальнейшее статистически значимое (в 2-4 раза, $p < 0,05$) повышение уровня метилирования двух генов днРНК (кроме *HOTAIR*), что показано на рис. 2.

В образцах опухолей, для которых имеются данные о наличии диссеминации по брюшине и в группе больных РЯ с наличием метастазов в большой сальник, было обнаружено статистически значимое ($p < 0,01$, $FDR = 0,1$) увеличение уровня метилирования для генов *GAS5* и *SNHG6* (рис. 3, А, Б). При анализе больных с наличием или отсутствием лимфогенных и отдалённых метастазов (N_0M_0 против N_xM_x) выявлено значимое ($p < 0,05$, $FDR = 0,1$) увеличение уровня метилирования для гена *SNHG6*. При сравнении тканей опухоли больных без метастазов с тканями опухолей больных, для которых показано наличие разных типов метастазирования, определены два гена днРНК (*GAS5* и *SNHG6*), уровень метилирования которых значимо выше в группе больных, для которых метастазирование отмечено (рис. 3, В, Г).

Исследовано изменение уровня экспрессии для генов днРНК *GAS5*, *HOTAIR*, *SNHG6* в образцах РЯ. Показано статистически значимое ($p < 0,01$, $FDR = 0,1$) снижение уровня экспрессии в опухолевой ткани для днРНК *HOTAIR* и *SNHG6* (рис. 4), что согласуется с данными о гиперметилировании их генов. При сопоставлении результатов изменения уровня экспрессии с учетом клинко-морфологических параметров опухоли не выявлено значимых изменений. Однако при анализе образцов от больных с диссеминацией по брюшине было обнаружено, что единственной днРНК, значимо снижающей уровень экспрессии, оказалась *HOTAIR*.

Сопоставление результатов по изменениям уровней метилирования и экспрессии для этих трёх днРНК показало статистически значимую корреляцию только для гена *SNHG6* ($r_s = -0,77$, $p < 0,000006$), исследованного на большей выборке образцов

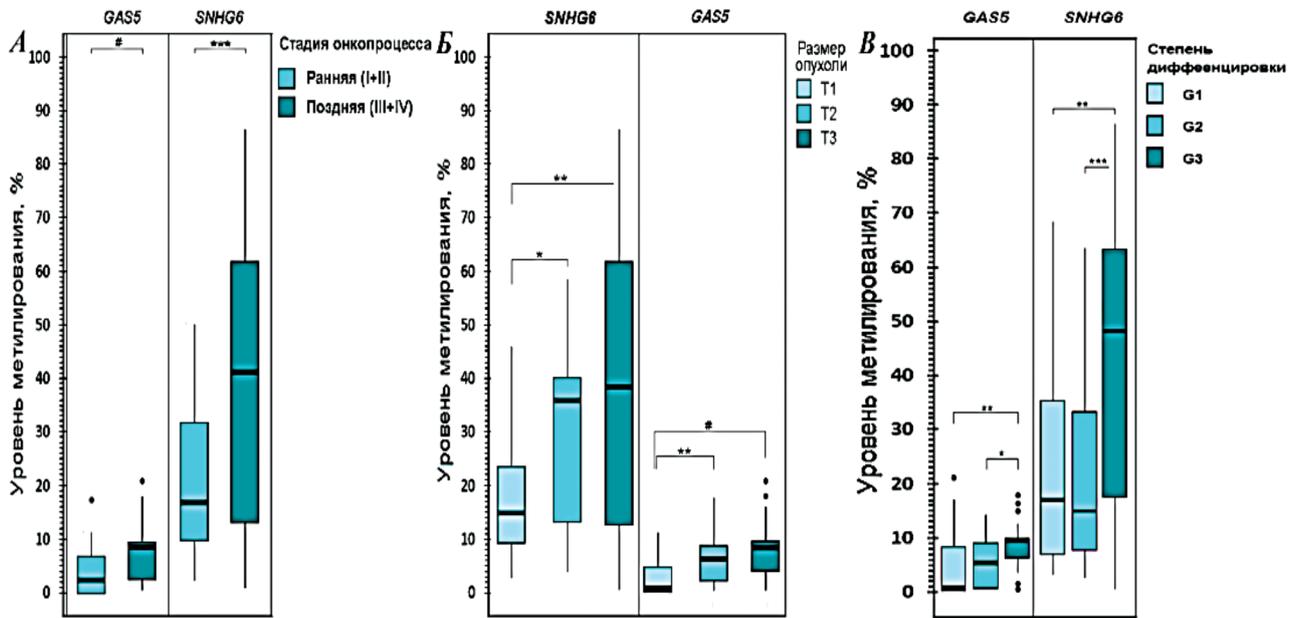


Рис. 2. Связь уровня метилирования генов днРНК *GAS5*, *HOTAIR*, *SNHG6* со стадией онкологического процесса (А); размером опухоли (Б); и степенью дифференцировки (В) при РЯ. Рассчитано с применением непараметрического критерия Манна–Уитни, $p < 0,05$

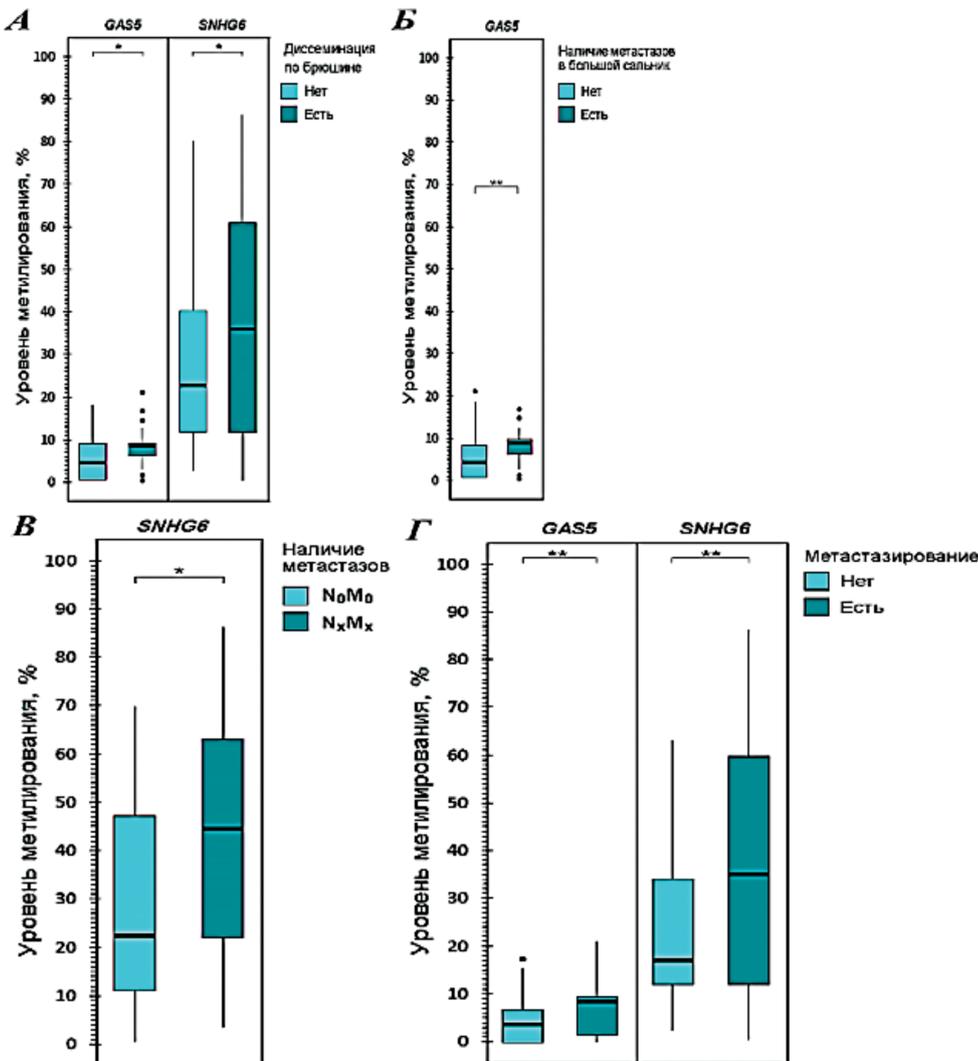


Рис. 3. Сравнение уровня метилирования генов днРНК в группах с различными типами метастазирования: диссеминация по брюшине (А); метастазирование в большой сальник (Б); лимфогенные и/или отдалённые метастазы (N0M0 против NxMx) (В), метастазирование всех типов (Г). Примечание: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$.

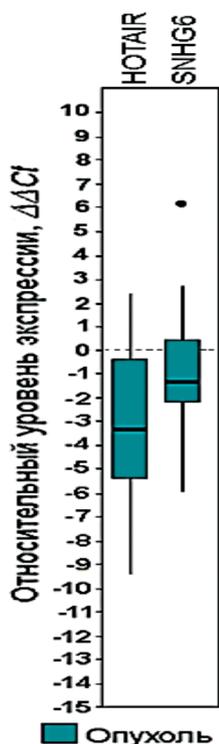


Рис. 4. Диаграммы размахов значений уровня экспрессии генов днРНК *HOTAIR*, *SNHG6* в опухолевой ткани. Рассчитано с применением непараметрического критерия Манна-Уитни, $p < 0,01$

Заключение

Полученные данные указывают на важную роль эпигенетической дерегуляции днРНК в патогенезе

Сведения об авторах:

Лукина Светлана Сергеевна — научный сотрудник лаборатории патогеномики и транскриптомики Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»; <https://orcid.org/0000-0001-6246-2444>

Бурдённий Алексей Михайлович — кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории патогеномики и транскриптомики Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»; <https://orcid.org/0000-0002-9398-8075>

Пронина Ирина Валерьевна — кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории патогеномики и транскриптомики Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»; <https://orcid.org/0000-0002-0423-7801>

Логинов Виталий Игоревич — кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории патогеномики и транскриптомики Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»; старший научный сотрудник лаборатории молекулярной генетики сложно наследуемых заболеваний Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова»; <https://orcid.org/0000-0003-2668-8096>

Брага Элеонора Александровна — доктор биологических наук, профессор, главный научный сотрудник, заведующая лабораторией патогеномики и транскриптомики Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»; ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной генетики сложно наследуемых заболеваний Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова»; <https://orcid.org/0000-0001-5188-4094>

рака яичников и могут найти применение в прогнозировании и разработке персонализированных подходов к терапии.

Литература

1. Barbolina M.V. Molecular Mechanisms Regulating Organ-Specific Metastases in Epithelial Ovarian Carcinoma. *Cancers (Basel)*. 2018; 10(11): 444. DOI: 10.3390/cancers10110444
2. *TNM Classification of Malignant Tumours*. Eds: Brierley J.D., Gospodarowicz M.K., Wittekind C. 8th edition. Oxford: Wiley Blackwell, 2017. 241 p.
3. World Medical Association. World Medical Association Declaration of Helsinki: ethical principles for medical research involving human subjects. *JAMA*. 2013; 310(20): 2191–2194. DOI: 10.1001/jama.2013.281053
4. Бурдённий А.М., Филиппова Е.А., Иванова Н.А., Лукина С.С., Пронина И.В., Логинов В.И., Фридман М.В., Казубская Т.П., Уткин Д.О., Брага Э.А., Кушлинский Н.Е. Гиперметилирование генов новых длинных некодирующих РНК в опухолях яичников и метастазах: двойственный эффект. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2021; 171(3): 353–358. DOI: 10.47056/0365-9615-2021-171-3-353-358

References

1. Barbolina M.V. Molecular Mechanisms Regulating Organ-Specific Metastases in Epithelial Ovarian Carcinoma. *Cancers (Basel)*. 2018; 10(11): 444. DOI: 10.3390/cancers10110444
2. *TNM Classification of Malignant Tumours*. Eds: Brierley J.D., Gospodarowicz M.K., Wittekind C. 8th edition. Oxford: Wiley Blackwell, 2017. 241 p.
3. World Medical Association. World Medical Association Declaration of Helsinki: ethical principles for medical research involving human subjects. *JAMA*. 2013; 310(20): 2191–2194. DOI: 10.1001/jama.2013.281053
4. Burdenyuy A.M., Filippova E.A., Ivanova N.A., Lukina S.S., Pronina I.V., Loginov V.I., Fridman M.V., Kazubskaya T.P., Utkin D.O., Braga E.A., Kushlinskiy N.E. [Hypermethylation of Genes in New Long Noncoding RNA in Ovarian Tumors and Metastases: A Dual Effect]. *Byulleten' ehkspierimental'noi biologii i meditsiny [Bulletin of Experimental Biology and Medicine]*. 2021; 171(3): 370–374. DOI: 10.1007/s10517-021-05230-3 (in Russian)