

УДК: 577.21: 575.16

## Анализ изменений экспрессии генов RASSF1A, SEMA3B, RHOA, GPX1, RAR-beta, NKIRAS1 при светлоклеточном раке почки

Брага Э.А.<sup>1,2</sup>, Пронина И.В.<sup>1</sup>, Логинов В.И.<sup>1,2</sup>, Казубская Т.П.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии».

125315, Москва, ул. Балтийская, д. 8

<sup>2</sup> Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Медико-генетический научный центр».

115478, Москва, ул. Москворечье, д. 1

<sup>3</sup> Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н.Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

115478, Москва, Каширское ш., д. 23

*Гены короткого плеча хромосомы 3 человека в эпителиальных опухолях подвержены частым делециям/амплификациям, мутациям и метилированию, что отражается на уровне их экспрессии. Нами получены данные об изменении при светлоклеточном раке почки уровней экспрессии 6 генов из критических районов 3 хромосомы человека: SEMA3B, RASSF1A, RAR-beta2, GPX1, RHOA, NKIRAS1. Нами впервые изучена зависимость изменения содержания мРНК этих генов от клинической стадии рака. Анализ изменения экспрессии гена NKIRAS1 при светлоклеточном раке почки проведен впервые. Полученные данные могут быть полезны при выборе прогностических маркеров рака почки.*

**Ключевые слова:** светлоклеточный рак почки; уровень экспрессии генов; гены хромосомы 3.

**Для цитирования:** Брага Э.А., Пронина И.В., Логинов В.И., Казубская Т.П. Анализ изменений экспрессии генов RASSF1A, SEMA3B, RHOA, GPX1, RAR-beta, NKIRAS1 при светлоклеточном раке почки. Патогенез. 2018; 16(4): 141-143

**DOI:** 10.25557/2310-0435.2018.04.141-143

**Для корреспонденции:** Пронина Ирина Валерьевна, e-mail: zolly\_sten@mail.ru

**Финансирование:** Работа выполнена в рамках фундаментальных исследований для государственных академий на 2013-2020 годы (№ 0520-2014-0030).

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Поступила:** 11.11.2018

## Analysis of expression alterations of RASSF1A, SEMA3B, RHOA, GPX1, RAR-beta, and NKIRAS1 genes in clear cell carcinoma

Braga E.A.<sup>1,2</sup>, Pronina I.V.<sup>1</sup>, Loginov V.I.<sup>1,2</sup>, Kazubskaya T.P.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Institute of General Pathology and Pathophysiology, Baltijskaya Str. 8, Moscow 125315, Russian Federation

<sup>2</sup> Medical Genetics Research Center, Moskvorechye Str. 1, Moscow 115478, Russian Federation

<sup>3</sup> N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Kashirskoe Shosse 23, Moscow 115478, Russian Federation

*The genes of the short arm of human chromosome 3 in epithelial tumors are subject to frequent deletions, amplifications, mutations, and methylation, which affects their expression. We studied the expression of 6 genes from critical regions of the human chromosome 3 in clear cell renal cell carcinoma, SEMA3B, RASSF1A, RAR-beta2, GPX1, RHOA, and NKIRAS1. For the first time, the dependence of changes in the mRNA content of these genes on the clinical stage of cancer was studied. Analysis of changes in the expression of the NKIRAS1 gene in clear cell renal cell carcinoma was performed for the first time. The obtained data may be useful for selection of prognostic markers of kidney cancer.*

**Keywords:** clear cell carcinoma (ccRCC – clear cell renal cell carcinoma); gene expression level; chromosome 3 genes.

**For citation:** Braga E.A., Pronina I.V., Loginov V.I., Kazubskaya T.P. [Analysis of expression alterations of RASSF1A, SEMA3B, RHOA, GPX1, RAR-beta, and NKIRAS1 genes in clear cell carcinoma]. Patogenez [Pathogenesis]. 2018; 16(4): 141-143 (in Russian) **DOI:** 10.25557/2310-0435.2018.04.141-143

**For correspondence:** Pronina Irina Valerievna, e-mail: zolly\_sten@mail.ru

**Funding:** The study was supported by the framework of basic research for state academies for 2013-2020 (No. 0520-2014-0030).

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

**Received:** 11.11.2018

### Введение

В соответствии с общепринятой моделью канцерогенеза для развития рака необходимы несколько последовательных мутаций в онкогенах или генах-су-

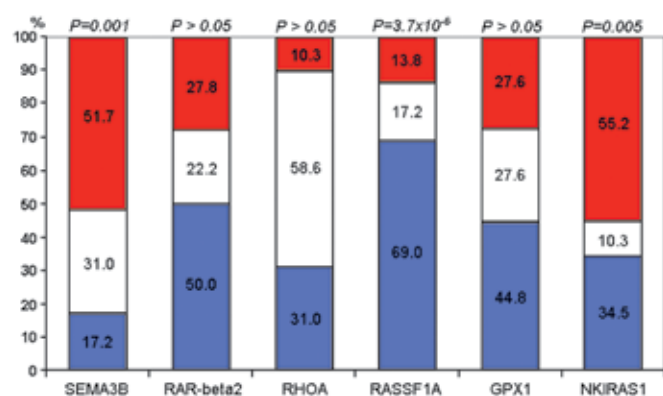
прессорах. Мутировавшая последовательность ДНК транскрибируется в мРНК, которая транслируется в белок с нарушенной функцией. мРНК рассматривается всего лишь как посредник между ДНК (с ее «програм-

Таблица 1.

## Клинические и гистологические характеристики 38 образцов светлоклеточного рака почки.

Клиническая стадия	I	15
	II	9
	III	10
	IV	4
Метастазирование	N0/M0	28
	N1-2	9
	M1	3
Размер опухоли	T1	17
	T2	9
	T3	11
	T4	1

**Примечание:** N0/M0 – отсутствие метастазов; N1-2 – поражение регионарных лимфатических узлов; M1 – отдаленные метастазы (в некоторых образцах присутствовали и поражения регионарных лимфоузлов, и отдаленные метастазы).



**Рис. 1.** Сравнительный анализ экспрессии исследуемых генов при светлоклеточном раке почки. На рисунке показаны доли образцов, меняющих экспрессию в сторону повышения или снижения, и доли образцов не меняющих экспрессию (%). Синим - возрастание экспрессии, красным - снижение экспрессии, белым - отсутствие изменений в экспрессии генов.

мирующим» потенциалом) и белком (с его «исполнительной» функцией). Последние исследования позволяют предположить, что РНК активно изменяется под воздействием различных процессов, включающих нонсенс-опосредованный распад, альтернативный сплайсинг, РНК-редактирование и РНК-интерференцию. Молекулы РНК могут регулировать различные процессы в клетке через взаимодействия с другими РНК, ДНК и молекулами белка [1]. Целью данной работы было составление профилей экспрессии генов короткого плеча хромосомы 3 человека из районов, подверженных частым генетическим и эпигенетическим преобразованиям при скПКР. Профили экспрессии имеют важное значение в понимании патогенеза онкологических заболеваний на молекулярном уровне. В дальнейшем они могут быть использованы для разработки новых маркеров диагностики, прогнозирования течения и лечения рака в соответствии с его характерными молекулярными чертами.

## Материалы и методы исследования

Особенности сбора парных образцов рака почки, выделение и анализ качества суммарной РНК описаны ранее [2]. Клинические и гистологические характеристики образцов приведены в табл. 1.

кДНК синтезировали на матрице суммарной РНК с использованием обратной транскриптазы M-MuLV Reverse Transcriptase (Thermo Fisher Scientific, USA) и вырожденных праймеров длиной 6 нуклеотидов. Количественную ПЦР проводили согласно условиям описанным ранее для генов *RASSF1A*, *SEMA3B*, *RHOA*, *GPX1*, *RAR-beta2*, *NKIRAS1* [2]. В качестве референсного использовали ген *B2M*. Значимыми считали изменения количества мРНК в 5 или более раз.

Статистическую обработку данных проводили с применением точного критерия Фишера.

## Результаты исследования и обсуждение

Экспрессию генов *RASSF1A*, *SEMA3B*, *RHOA*, *GPX1*, *RAR-beta2*, *NKIRAS1* исследовали в тканях опухолей почки и сравнивали с прилежащими гистологически нормальными тканями, полученными от тех же пациентов (рис. 1).

При светлоклеточном раке почки экспрессия гена *RASSF1A* возрастает в 69% случаев и не зависит от стадии. Доля образцов с повышением количества мРНК гена *RAR-beta2* составляет 50%, а со снижением количества мРНК – 28%. Повышение экспрессии гена *RAR-beta2* чаще происходит на ранних стадиях заболевания (55%).

При скПКР количество мРНК гена *RHOA* в большинстве случаев – 59% – не меняется, и повышается лишь в 31% проанализированных нами образцов. Причем, на поздних стадиях светлоклеточного рака доля случаев с возрастанием количества мРНК в 1,5 раза выше (25% на I и II стадиях, 45% на III и IV стадиях).

Ген *SEMA3B* снижает экспрессию при раке почки в 54% случаев, на ранних стадиях немного чаще (60%).

При светлоклеточном раке почки в 28% случаев количество мРНК гена *GPX1* снижается и в 45% случаев повышается (рис. 1). При рассмотрении изменения экспрессии по стадиям было выявлено, что на I стадии светлоклеточного рака почки экспрессия гена *GPX1* в опухоли возрастает в 78% случаев. А уже на II стадии доля случаев с возрастанием количества мРНК уменьшается до 27%, что приблизительно совпадает с данными, полученными для поздних стадий заболевания. Значительное повышение экспрессии гена *GPX1* на первой стадии светлоклеточного рака почки возможно указывает на попытку клеток противостоять малигнизации. В перспективе эти данные можно использовать при создании диагностических маркеров для раннего выявления заболевания.

При светлоклеточном раке почки количество мРНК гена *NKIRAS1* снижается в 55% случаев. Причем на ранних стадиях экспрессия *NKIRAS1* уменьшается в 65% случаев, а на поздних – в 44% случаев. Возрастание экспрессии гена *NKIRAS1* на поздних стадиях происходит почти вдвое чаще: в 44% случаев, чем на ранних стадиях: в 25% случаев.

## Заключение

Таким образом, в ходе работы получены данные об изменении экспрессии генов *SEMA3B*, *RASSF1A*, *RAR-beta2*, *GPX1*, *RHOA*, *NKIRAS1* из критичных районов хромосомы 3 человека при раке почки. Результаты, полученные для генов *SEMA3B*, *RASSF1A*, *GPX1* согласуются с данными литературы [3-6]. Анализ изменения экспрессии генов *RAR-beta2* и *NKIRAS1* при скПКР проведен впервые. Впервые прослежена зависимость изменения содержания мРНК этих 6 генов в опухоли от клинической стадии развития рака и степени анаплазии.

Безусловно, более правильно было бы проводить анализ экспрессии генов в сочетании с анализом изменений в спектре белковых продуктов. Однако, сегодня это пока мало реально, тогда как анализ содержания РНК становится все более рутинным способом исследования.

## Список литературы / References

1. Scholzová E, Malík R, Sevcik J, Kleibl Z. RNA regulation and cancer development. *Cancer Lett.* 2007; 246 (1-2): 12-23. DOI: 10.1016/j.canlet.2006.03.021
2. Pronina I.V., Loginov V.I., Burdennyu A.M., Fridman M.V., Kazubskaya T.P., Dmitriev A.A., Braga E.A. Expression and DNA methylation alterations of seven cancer-associated 3p genes and their predicted regulator miRNAs (miR-129-2, miR-9-1) in breast and ovarian cancers. *Gene.* 2016; 576(1 Pt 3): 483-491. DOI: 10.1016/j.gene.2015.10.059
3. Kashuba V.I., Pavlova T.V., Grigorieva E.V., Kutsenko A., Yenamandra S.P., Li J., Wang F., Protopopov A.I., Zabarovska V.I., Senchenko V., Haraldson K., Eshchenko T., Kobliakova J., Vrontsova O., Kuzmin I., Braga E., Blinov V.M., Kisselev L.L., Zeng Y.X., Ernberg I., Lerman M.I., Klein G., Zabarovsky E.R. High mutability of the tumor suppressor genes RASSF1 and RBSP3 (CTDSPL) in cancer. *PLoS One.* 2009, 4(5), e5231. DOI: 10.1371/journal.pone.0005231
4. Loginov V.I., Dmitriev A.A., Senchenko V.N., Pronina I.V., Khodyrev D.S., Kudryavtseva A.V., Krasnov G.S., Gerashchenko G.V., Chashchina L.I., Kazubskaya T.P., Kondratieva T.T., Lerman M.I., Angeloni D., Braga E.A., Kashuba V.I. Tumor Suppressor Function of the SEMA3B Gene in Human Lung and Renal Cancers. *PLoS One.* 2015, 11; 10(5): e0123369. DOI: 10.1371/journal.pone.0123369
5. Rudenko E., Kondratov O., Gerashchenko G., Lapska Y., Kravchenko S., Koliada O., Vozianov S., Zgonnyk Y., Kashuba V. Aberrant expression of selenium-containing glutathione peroxidases in clear cell renal cell carcinomas. *Exp. Oncol.* 2015; 37(2): 105-110.
6. Hasegawa Y., Takano T., Miyauchi A., Matsuzuka F., Yoshida H., Kuma K., Amino N. Decreased expression of glutathione peroxidase mRNA in thyroid anaplastic carcinoma. *Cancer Lett.* 2002, 182: 69-74.

## Сведения об авторах:

**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»

**Пронина Ирина Валерьевна** – кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории патогеномики и транскриптомики Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»

**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»

**Казубская Татьяна Павловна** – доктор медицинских наук, врач-онкогенетик, старший научный сотрудник лаборатории клинической онкогенетики Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н.Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации