

Для цитирования: Служев М.И., Зарайский М.И., Семиглазов В.В., Семиглазова Т.Ю., Ткаченко Е.В., Кондратьев С.В., Бриш Н.А., Алексеева Ю.В., Петрик Ю.В., Сидорова А.Н. Сравнительный анализ профилей экспрессии генов опухолевого контроля и микроРНК в опухолевой и перифокальной ткани у пациентов с колоректальным раком. Сибирский онкологический журнал. 2022; 21(2): 55–64. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-2-55-64

For citation: Sluzhev M.I., Zaraisky M.I., Semiglazov V.V., Semiglazova T.Yu., Tkachenko E.V., Kondratev S.V., Brish N.A., Alekseeva Yu.V., Petrik Yu.V., Sidorova A.N. Comparative analysis of tumor control gene and microRNA expression profiles in tumor and adjacent tissues in patients with colorectal cancer. Siberian Journal of Oncology. 2022; 21(2): 55–64. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-2-55-64

## СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ПРОФИЛЕЙ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ ОПУХОЛЕВОГО КОНТРОЛЯ И МИКРОРНК В ОПУХОЛЕВОЙ И ПЕРИФОКАЛЬНОЙ ТКАНИ У ПАЦИЕНТОВ С КОЛОРЕКТАЛЬНЫМ РАКОМ

М.И. Служев<sup>1,2</sup>, М.И. Зарайский<sup>2,3</sup>, В.В. Семиглазов<sup>1,2</sup>, Т.Ю. Семиглазова<sup>1,3</sup>, Е.В. Ткаченко<sup>1</sup>, С.В. Кондратьев<sup>1</sup>, Н.А. Бриш<sup>1</sup>, Ю.В. Алексеева<sup>1</sup>, Ю.В. Петрик<sup>1</sup>, А.Н. Сидорова<sup>1</sup>

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России, г. Санкт-Петербург, Россия<sup>1</sup>

Россия, 197758, г. Санкт-Петербург, пос. Песочный, ул. Ленинградская, 68.

E-mail: sluzhemaxim@mail.ru<sup>1</sup>

ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России, г. Санкт-Петербург, Россия<sup>2</sup>

Россия, 197022, г. Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, 6–8<sup>2</sup>

ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова»

Минздрава России, г. Санкт-Петербург, Россия<sup>3</sup>

Россия, 191015, г. Санкт-Петербург, ул. Кирочная, 41<sup>3</sup>

### Аннотация

**Введение.** В развитии и прогрессировании колоректального рака (КРР) важную роль играют различные гены опухолевого контроля и микроРНК. Экспрессия этих генов может значительно отличаться в опухолевой и перифокальной здоровой ткани. Нет точных данных, на каком расстоянии от опухоли находится перифокальная здоровая ткань с точки зрения экспрессии генов. **Цель исследования** – изучить профили экспрессии генов опухолевого контроля (*E2F3*, *TGFB*, *NFKB*, *KLF-12*, *EGFR* и *MMP9*), а также экспрессии генов микроРНК (микроРНК-15, -16, -21 и -210) в опухолевой и перифокальной здоровой тканях при КРР. **Материал и методы.** В исследование были включены 19 пациентов с диагнозом КРР. В рамках постановки диагноза при колоноскопии забирался материал опухолевой и рядом расположенной перифокальной визуально здоровой ткани на расстоянии 1–2 см от края опухоли. В полученном материале исследовали уровни экспрессии генов опухолевого контроля (*E2F3*, *TGFB*, *NFKB*, *KLF-12*, *EGFR* и *MMP9*), а также уровни экспрессии генов микроРНК (микроРНК-15, -16, -21 и -210). **Результаты.** Было обнаружено снижение уровня экспрессии *E2F3* (Медиана 3,73, Q1-Q3 2,64 УЕ против Медиана 6,5, Q1-Q3 6,39 УЕ,  $p=0,01$ ) и микроРНК-16 (Медиана 2,83, Q1-Q3 4,74 УЕ против Медиана 4,29, Q1-Q3 3,73 УЕ,  $p=0,027$ ) и повышение уровня экспрессии микроРНК-21 (Медиана 2,64, Q1-Q3 1,38 УЕ против Медиана 1,41, Q1-Q3 1,21 УЕ,  $p<0,001$ ) в опухолевой ткани по сравнению с нормальной тканью у пациентов с КРР. **Заключение.** Выявлены значимые отличия в экспрессии генов *E2F3*, микроРНК-16 и микроРНК-21. Повышенный уровень экспрессии *E2F3* и микроРНК-16 на расстоянии 1–2 см от опухоли может быть предиктором рецидива и прогрессирования опухоли, а повышенная экспрессия микроРНК-21 в опухолевой ткани по сравнению с перифокальной, возможно, является негативным прогностическим фактором. Данная информация может быть использована в дальнейших клинических исследовательских работах.

**Ключевые слова:** микроРНК, колоректальный рак, экспрессия генов, *E2F3*, микроРНК-16, микроРНК-21, перифокальная ткань.

# COMPARATIVE ANALYSIS OF TUMOR CONTROL GENE AND MICRORNA EXPRESSION PROFILES IN TUMOR AND ADJACENT TISSUES IN PATIENTS WITH COLORECTAL CANCER

**M.I. Sluzhev<sup>1,2</sup>, M.I. Zaraisky<sup>2,3</sup>, V.V. Semiglazov<sup>1,2</sup>, T.Yu. Semiglazova<sup>1,3</sup>,  
E.V. Tkachenko<sup>1</sup>, S.V. Kondratev<sup>1</sup>, N.A. Brish<sup>1</sup>, Yu.V. Alekseeva<sup>1</sup>, Iu.V. Petrik<sup>1</sup>,  
A.N. Sidorova<sup>1</sup>**

N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology, St. Petersburg, Russia<sup>1</sup>  
68, Leningradskaya St., 197758, St. Petersburg, Russia. E-mail: sluzhemaxim@mail.ru<sup>1</sup>  
I.P. Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, St. Petersburg, Russia<sup>2</sup>  
6–8, Lva Tolstogo St., 1970222, St. Petersburg, Russia<sup>2</sup>  
I.I. Mechnikov North-Western State Medical University, St. Petersburg, Russia<sup>3</sup>  
41, Kirochnaya St., 191015, St. Petersburg, Russia<sup>3</sup>

## Abstract

**Background.** Various tumor control genes and microRNAs (miRNA) play an important role in the development and progression of colorectal cancer (CRC). The expression of these genes can differ significantly in tumor and adjacent healthy tissues. There is no exact data at what distance from the tumor the adjacent healthy tissue is located in terms of gene expression. **The aim of the investigation** was to study the tumor control genes (*E2F3*, *TGFB*, *NFKB*, *KLF-12*, *EGFR* and *MMP9*), as well as the *microRNA* genes (*microRNA-15*, -16, -21 and -210) expression profiles in tumor and adjacent healthy tissues. **Material and Methods.** The study included 19 patients diagnosed with colorectal cancer. The tumor control genes (*E2F3*, *TGFB*, *NFKB*, *KLF-12*, *EGFR* and *MMP9*), as well as the *miRNA* genes (*miRNA-15*, -16, -21 and -210) expression levels were investigated in tumor and adjacent normal tissue samples taken during colonoscopy. **Results.** A decrease in the level of expression of *E2F3* (median 3,73, Q1-Q3 2,64 REU vs. median 6,5, Q1-Q3 6,39 REU, p=0,01) and *miRNA-16* (median 2,83, Q1-Q3 4,74 REU vs. median 4,29, Q1-Q3 3,73 REU, p=0,027) and an increase in the expression level of *miRNA-21* (median 2,64, Q1-Q3 1,38 REU vs. median 1,41, Q1-Q3 1,21 REU, p<0,001) were found in tumor tissue compared to normal tissue of patients with CRC. **Conclusion.** Significant differences in the *E2F3*, *miRNA-16* and *miRNA-21* gene expressions were revealed. An increased level of *E2F3* and *miRNA-16* expressions at a distance of 1–2 cm from the tumor may be a predictor of tumor recurrence and progression, and an increased *miRNA-21* expression in tumor tissue as compared to adjacent tissue may be a negative prognostic factor. This information can be used in further clinical research.

**Key words:** miRNA, colorectal cancer, gene expression, *E2F3*, *miRNA-16*, *miRNA-21*, adjacent tissue.

## Введение

Колоректальный рак (КРР) занимает лидирующие позиции в структуре заболеваемости и смертности среди всех злокачественных новообразований. Хирургическое удаление опухоли с последующей химиотерапией является стандартом лечения КРР. Общепризнанным подходом к выбору края резекции опухоли при КРР является иссечение кишки в пределах не менее 10 см от опухоли при операциях по поводу рака ободочной кишки, не менее 5 см – при операциях по поводу рака дистальной трети сигмовидной кишки, ректосигмоидного отдела толстой кишки и рака прямой кишки [1, 2]. Однако по данным анализа 17 исследований ширина резекции 1 см и более может быть достаточной в отдельных случаях при раке прямой кишки, и это не увеличивает риск рецидива [3]. Аналогичные данные в обзоре представил С.-Г. Кер, где безопасное расстояние при хирургическом лечении рака прямой кишки составило от 1 до 3 см [4].

Отсутствие опухолевой ткани в конкретной области может быть подтверждено гистологически. Однако существуют генетические особенности, которые могут быть определены только путем молекулярно-генетического исследования. Имеющиеся данные дают основания для оценки различий геномного профиля опухолевой и перифокальной тканей. На образцах опухолей и прилежащей нормальной ткани толстой кишки мышей показано, что профиль экспрессии генов значительно отличается в опухолевой и перифокальной нормальной ткани на расстоянии 1–2 см и 4 см от опухоли [5]. Однако до сих пор нет данных о качественных различиях опухолевой и перифокальной ткани на генном уровне у пациентов с КРР в зависимости от расстояния от опухоли.

В онкогенезе и метастазировании КРР участвует множество различных факторов: белков сигнalingа, межклеточного взаимодействия, факторов транскрипции, эпигенетических факторов. Одним из наиболее изученных сигнальных путей, повреж-

дающихся при КПР, является путь фактора роста опухоли (TGF-В) [6]. M. Nakano et al. показали, что сигнальный путь TGF-В участвует в прогрессировании КПР, приводя к дедифференцировке неопухолевых стволовых клеток в опухолевые стволовые [7].

Другими важными факторами контроля онкогенеза КПР являются гены семейства *E2F*. Так, ген *E2F3* обеспечивает точную передачу генетического материала каждой дочерней клетке во время клеточного цикла [8]. Однако он может участвовать и в развитии опухолевого процесса. В частности, показано, что уровни экспрессии *E2F3* были выше в опухолевых тканях, что может быть причиной усиления пролиферации и роста клеток КПР [9]. Существует универсальный фактор – ген *NFkB*. Он является важным участником в передаче сигналов, способствующих развитию метастатического процесса при КПР [10]. Экспрессия рецептора эпидермального фактора роста (EGFR) наблюдается в большинстве случаев КПР, при этом гиперэкспрессия EGFR достоверно связана с плохим прогнозом и чаще наблюдается при распространенном опухолевом процессе [11]. Семейство Крупель-подобных транскрипционных факторов (*KLF*) также участвует в контроле роста, пролиферации, апоптоза и ангиогенеза. В частности, *KLF8* способствует онкогенезу, инвазии и метастазированию клеток КПР [12], а потеря *KLF3* коррелировала с агрессивными фенотипами и плохими результатами выживания [13]. Матриксная металлопротеиназа 9 (MMP9), известная также как «желатиназа В», участвует в ремоделировании структур внеклеточного матрикса. Изменение экспрессии MMP-9 может влиять на эффективность лечения злокачественных новообразований. Например, гиперэкспрессия MMP9 предсказывает плохую выживаемость и хороший ответ на химиотерапию у пациентов с КПР [14].

МикроРНК представляют собой большую группу некодирующих РНК, которые не могут быть транслированы в белок. МикроРНК регулируют экспрессию более 30 % генов человека [15]. Аномальная экспрессия микроРНК является значимым элементом канцерогенеза [16]. Низкая экспрессия микроРНК-15 коррелирует с плохим прогнозом пациента с КПР [17]. Гиперэкспрессия микроРНК-15 увеличивает чувствительность клеток рака толстой кишки к 5-фторурацилу и оксалиплатину [18]. Снижение экспрессии микроРНК-16 может быть маркером плохого прогноза [19]. W. Zhang et al. показали в метаанализе, что низкий уровень экспрессии микроРНК-16 был связан с плохим прогнозом при солидных опухолях [20]. Повышенная экспрессия микроРНК-21 и микроРНК-210 наблюдается при КПР [19, 21]. По данным метаанализа, гиперэкспрессия микроРНК-21 при колоректальном раке связана с плохой выживаемостью [22].

Перечисленные выше гены играют важную роль в онкогенезе КПР и могут служить отличительными характеристиками опухолевого процесса. Это дает возможность провести сравнительный анализ экспрессии генов для определения различия между опухолевой тканью и перифокальной тканью на расстоянии 1–2 см.

**Цель исследования** – изучить профили экспрессии генов опухолевого контроля (*E2F3*, *TGFB*, *NFKB*, *KLF-12*, *EGFR* и *MMP9*), а также экспрессии генов микроРНК (микроРНК-15, -16, -21 и -210) в опухолевой и перифокальной здоровой тканях при КПР.

### Материал и методы

Исследование выполнено в соответствии с Хельсинской декларацией [23]. С 02.2020 по 04.2021 в обсервационное исследование было включено 20 пациентов, из них 13 мужчин и 7 женщин (табл. 1), которые соответствовали критериям включения и подписали информированное согласие. Из анализа был исключен 1 пациент (мужчина) в связи с наличием значительного воспалительного компонента в биопсийных тканях, что могло искажить окончательные результаты. В исследование были включены мужчины и женщины в возрасте от 42 до 80 лет с подозрением на КПР, которым в плановом порядке производили верификацию опухоли. Все пациенты с верифицированным КПР получали стандартное лечение в соответствии с национальными и международными рекомендациями по клинической практике с учетом стадии заболевания.

У каждого пациента с помощью видеоколоноскопии была выполнена биопсия опухоли и нормальной здоровой эпителиальной ткани толстой кишки. Участок «здоровой» ткани выбирался визуально врачом-эндоскопистом на расстоянии 1–2 см от опухоли. Биоматериал (опухоль и здоровая ткань кишечника) исследовали на уровне экспрессии генов опухолевого контроля (*E2F3*, *TGFB*, *NFKB*, *KLF-12*, *EGFR* и *MMP9*), относительно референц-гена *GAPDH*, а также на уровне экспрессии генов микроРНК (микроРНК-15, -16, -21 и -210), используя в качестве референц-гена малую ядерную РНК *U6*.

Исследование относительной экспрессии генов опухолевого контроля, а также генов микроРНК проводили по полуколичественному протоколу [24]. Тотальную РНК выделяли из биоматериала (биопсийный материал) с помощью реактива ExtractRNA (Евроген, Москва) в соответствии с инструкцией.

Для приготовления кДНК генов опухолевого контроля использовали набор для обратной транскрипции «ОТ-1» (Синтол, Москва) в модификации для гексануклеотидных праймеров, согласно инструкции. Приготовление кДНК генов микроРНК проводили технологией StemLoop со специфическими праймерами, раздельно для

Таблица 1/Table 1

Характеристика пациентов Characteristics of patients		Значение/Values
Возраст, лет/Age, years		63,2 ± 11
Мужчины/Males		12 (63 %)
Женщины/Females		7 (37 %)
N0		10 (53 %)
N+		9 (47 %)
Стадия I/Stage I		5 (26 %)
Стадия II/Stage II		4 (21 %)
Стадия III/Stage III		4 (21 %)
Стадия IV/Stage IV		6 (32 %)
Low-grade		16 (84 %)
High-grade		3 (16 %)
M1 HEP		5 (26 %)
M1 PUL/PLE		3 (16 %)
Левая половина ободочной кишки, рак прямой кишки/Left side of the colon, rectal cancer		15 (80 %)
Правая половина ободочной кишки/Right half of the colon		2 (10 %)
Первично-невыясненная локализация/Primary unexplained localization		2 (10 %)

Примечание: Low-grade – низкая степень злокачественности; High-grade – высокая степень злокачественности; M1 HEP – наличие метастазов в печени; M1 PUL/PLE – наличие метастазов в легких и/или плевре.

Note: Low-grade – low degree of malignancy; High-grade – high degree of malignancy; M1 HEP – the presence of metastases in the liver; M1 PUL/PLE – the presence of metastases in the lungs and / or pleura.

Таблица 2/Table 2

### Последовательности праймеров для обратной транскрипции генов микроРНК Primer sequences for reverse transcription of miRNA genes

МикроРНК/MicroRNA	Последовательности праймеров/Primer sequences
МикроРНК-15	GTCGTATCCAGTGCAGGGTCCGAGGTATTGCACTGGATAACGACCACAAA
МикроРНК-16	GTCGTATCCAGTGCAGGGTCCGAGGTATTGCACTGGATAACGACCGCCAA
МикроРНК-21	GTCGTATCCAGTGCAGGGTCCGAGGTATTGCACTGGATAACGACTCAAC
МикроРНК-210	GTCGTATCCAGTGCAGGGTCCGAGGTATTGCACTGGATAACGACTCAGCC
U6	GTCGTATCCAGTGCAGGGTCCGAGGTATTGCACTGGATAACGACAAAAATATG

каждой микроРНК и гена сравнения U6 (табл. 2) с использованием набора для обратной транскрипции «ОТ-1» (Синтол, Москва). Температурный профиль реакции был следующий: 16 °C – 30 мин, 42 °C – 30 мин, 85 °C – 5 мин.

В качестве полимеразной цепной реакции (ПЦР) смеси была использована 2,5× реакционная смесь с интактирующим красителем EVA Green (Синтол, Москва). Амплификацию проводили в режиме RealTime на приборе DTLite-4 (ДНК-Технология, Москва) по стандартной двухпраймерной схеме по полукачественному протоколу. Праймеры для ПЦР представлены в табл. 3. Температурный профиль амплификации генов опухолевого контроля: 95 °C – 7 мин, затем 40 циклов (95 °C – 15 сек и 56 °C – 1 мин), для микроРНК: 95 °C – 5 мин, затем 45 циклов (95 °C – 15 сек и 60 °C – 1 мин). Оценку относительного уровня экспрессии генов проводили по протоколу  $\Delta Ct$  и рассчитывали по формуле  $2^{-(A-B)}$ , где A – Ct гена микроРНК, а B – Ct гена U6 [25]. Полученный результат выражали в условных единицах экспрессии (УЕ).

Статистический анализ проводили с использованием непараметрических методов. Тип распределения был протестирован с использованием гистограмм распределения и критерии Шапиро–Уилка и Колмогорова–Смирнова. Категориальные данные представлены как частота и процент. Непрерывные переменные представлены как среднее ± стандартное отклонение. Количественные параметры когорт сравнивали с использованием критерия Манна–Уитни. Корреляции между стадией, степенью злокачественности, локализацией первичной опухоли, поражением лимфатических узлов и печени, с одной стороны, и всеми факторами – с другой анализировали с использованием ранговой корреляции Спирмена. Уровень  $p < 0,05$  считался статистически значимым. Для статистических тестов использовали программный пакет SPSS 23.0 (IBM, Чикаго, Иллинойс).

### Результаты

Оценка уровней экспрессии генов опухолевого контроля проводилась путем сравнения экс-

**Последовательности праймеров для ПЦР**  
**PCR primer sequences**

Ген/Gene	Последовательности праймеров/Primer sequences
<i>E2F3</i> (прямой)/(forward)	GCACTACGAAGTCCAGATAGTCC
<i>E2F3</i> (обратный)/(reverse)	AGACTGCAGCCCATCCATTG
<i>TGFB</i> (прямой)/(forward)	GCCCTGGACACCCAACATTG
<i>TGFB</i> (обратный)/(reverse)	CGTGTCCAGGCTCAAATG
<i>NFKB</i> (прямой)/(forward)	CCTCTCTCTAATCAGCCCTCTG
<i>NFKB</i> (обратный)(reverse)	GAGGACCTGGGAGTAGATGAG
<i>EFFR</i> (прямой)/(forward)	GGGTTCAGAGGCTGATTGTGATAGA
<i>EGFR</i> (обратный)(reverse)	CGCCTTGACTGAGGACAGCATA
<i>KLF-12</i> (прямой)/(forward)	CACCTGGAAATGTGAACAACA
<i>KLF-12</i> (обратный)/(reverse)	TTTTACTTTGTCAGGGAGATAGGC
<i>MMP9</i> (прямой)/(forward)	CGCAGACATCGTCATCCAGT
<i>MMP9</i> (обратный)/(reverse)	GGATTGGCCTTGGAAAGATGA
<i>GAPDH</i> (прямой)/(forward)	AGAAGGCTGGGGCTCATTTG
<i>GAPDH</i> (обратный)/(reverse)	AGGGGCCATCCACAGTCTTC
<i>МикроРНК-15/MicroRNA-15</i>	GACGCCTAGCAGCACATA
<i>МикроРНК-16/MicroRNA-16</i>	CCGGAGTAGCAGCACGTAAT
<i>МикроРНК-21/MicroRNA-21</i>	GCCCCTAGCTTATCAGACTGATG
<i>МикроРНК-210/MicroRNA-210</i>	CAGAGTGTGCTGCGTGTGA
<i>U6</i>	GCGCGTCGTGAAGCGTTC
<i>Общий праймер для микроРНК/Total primer for microRNA</i>	GTGCAGGGTCCGAGGT

прессии в двух группах: 1) опухолевый биоптат и 2) визуально здоровая перифокальная область. Относительные уровни экспрессии генов *E2F3*, *TGFB*, *NFKB*, *KLF-12*, *EGFR* и *MMP9* представлены на рис. 1. Уровень экспрессии гена *E2F3* был статистически значимо выше в нормальной ткани по сравнению с опухолевой (Медиана 6,5, Q1-Q3 6,39 UE vs Медиана 3,73, Q1-Q3 2,64 UE, p=0,01).

Уровни экспрессии остальных генов не показали статистически значимых отличий в исследуемых группах.

Оценка уровней экспрессии генов опухолевого контроля проводилась также путем сравнения экспрессии в группах материала кишки из фокуса опухоли и здоровой перифокальной области. Относительные уровни экспрессии генов *микроРНК-15*,

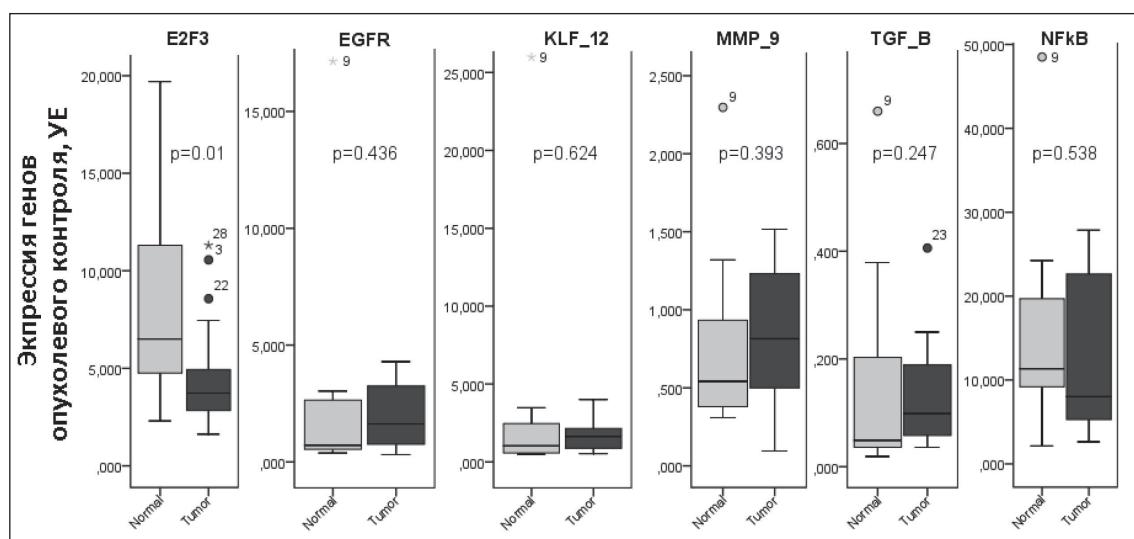


Рис.1. Экспрессия генов опухолевого контроля в нормальной и опухолевой тканях.

Примечание: Normal – визуально здоровая перифокальная ткань; Tumor – опухолевая ткань; UE – условные единицы

Fig. 1. Expression of tumor control genes in normal and tumor tissues.

Note: Normal – visually healthy perifocal tissue; Tumor – tumor tissue; UE (REU) – relative units of expression

-16, -21 и -210 представлены на рис. 2. Уровень экспрессии генов *микроРНК-16* был статистически значимо выше в нормальной ткани (Медиана 4,29, Q1-Q3 3,73 UE vs Медиана 2,83, Q1-Q3 4,74 UE,  $p=0,027$ ), а уровень экспрессии генов *микроРНК-21*, наоборот, статистически значимо оказался выше в опухолевой ткани (Медиана 2,64, Q1-Q3 1,38 UE vs Медиана 1,41, Q1-Q3 1,21 UE,  $p<0,001$ ).

При многофакторном анализе корреляций уровней экспрессии исследуемых генов в ткани опухоли между собой и клиническими данными были получены следующие результаты. Существует положительная корреляция экспрессии генов *E2F3* с *TGFB* и *NFKB* ( $r=0,67$ ,  $p=0,035$  и  $r=0,73$ ,  $p<0,001$  соответственно). Также выявлена положительная корреляция между экспрессией генов *TGFB* и *NFKB* ( $r=0,84$ ,  $p=0,002$ ). Найдена сильная положительная корреляция экспрессии генов *EGFR* с *KLF* и *MMP-9* ( $r=0,81$ ,  $p=0,004$  и  $r=0,84$ ,  $p=0,003$  соответственно). Кроме того, зарегистрирована корреляция между экспрессиями генов *KLF-12* и *MMP-9* ( $r=0,66$ ,  $p=0,038$ ).

При оценке связи экспрессии исследуемых генов с клиническими данными выявлена отрицательная корреляция уровня экспрессии генов *микроРНК-210* с опухолевым поражением лимфатических узлов, метастатическим поражением печени и стадией опухолевого процесса ( $r=-0,59$ ,  $p=0,008$ ;  $r=-0,54$ ,  $p=0,018$ ;  $r=-0,60$ ,  $p=0,007$  соответственно). Также обнаружена корреляция экспрессии генов *микроРНК-210* с *микроРНК-16* и *микроРНК-15* ( $r=0,55$ ,  $p=0,014$  и  $r=0,70$ ,  $p=0,025$  соответственно). Отдельно хотелось бы подчеркнуть отсутствие корреляций *микроРНК-21* со всеми исследуемыми генами.

При многофакторном анализе корреляций уровней экспрессии исследуемых генов между собой в перифокальной области были получены следующие результаты. Обнаружено наличие высокодостоверной статистической положительной корреляции экспрессии гена *E2F3* и генов *KLF-12* и *NFKB* ( $r=0,49$ ,  $p=0,035$  и  $r=0,72$ ,  $p=0,001$  соот-

ветственно). Схожие экспрессионные характеристики имел и ген *EGFR* с генами *KLF-12* и *NFKB* ( $r=0,85$ ,  $p=0,002$  и  $r=0,65$ ,  $p=0,042$  соответственно). Дополнительно к указанным ген *KLF-12* имел положительную корреляцию с экспрессией генов *TGFB* и *NFKB* ( $r=0,69$ ,  $p=0,029$  и  $r=0,62$ ,  $p=0,004$  соответственно) и отрицательную корреляцию с экспрессией *микроРНК-15* ( $r=-0,65$ ,  $p=0,043$ ), -16 ( $r=-0,63$ ,  $p=0,004$ ) и -210 ( $r=-0,47$ ,  $p=0,040$ ). Экспрессия гена *MMP-9* коррелировала с таковой гена *TGFB* ( $r=0,78$ ,  $p=0,008$ ). Также выявлена положительная корреляция экспрессий генов *TGFB* и *NFKB* ( $r=0,65$ ,  $p=0,042$ ).

При оценке экспрессионных взаимодействий генов *микроРНК* показано, что *микроРНК-15* имела отрицательную корреляцию с генами *TGFB* ( $r=-0,67$ ,  $p=0,033$ ) и *NFKB* ( $r=-0,71$ ,  $p=0,023$ ) и положительную с *микроРНК-16* ( $r=0,67$ ,  $p=0,035$ ), -21 ( $r=0,90$ ,  $p<0,001$ ) и 210 ( $r=0,66$ ,  $p=0,038$ ). Дополнительно, экспрессия *микроРНК-210* высоко коррелировала с *микроРНК-16* ( $r=0,59$ ,  $p=0,008$ ).

### Обсуждение

Настоящая работа посвящена изучению экспрессионного профиля некоторых генов, в том числе и регуляторных, включенных в онкологический процесс, в опухолевой и перифокальной тканях при КРР. В качестве исследуемого материала использовались биоптаты, полученные при колоноскопии. Перифокальная область рассматривалась как ткань толстой кишки в 1–2 см от видимого опухолевого очага. Были найдены значимые отличия в экспрессии генов *E2F3*, *микроРНК-16* и *микроРНК-21* в опухолевой и перифокальной тканях на расстоянии 1–2 см от опухоли. В нашей работе не обнаружено достоверных различий в экспрессии генов опухолевого контроля *TGFB*, *NFKB*, *KLF-12*, *EGFR* и *MMP9*, а также экспрессии генов *микроРНК-15* и *микроРНК-210*.

Согласно полученным данным, уровень экспрессии *E2F3* в нормальной ткани оказался выше, чем в опухолевой ткани. Повышение уровня экспрессии *E2F3* наблюдается при усилении пролифе-

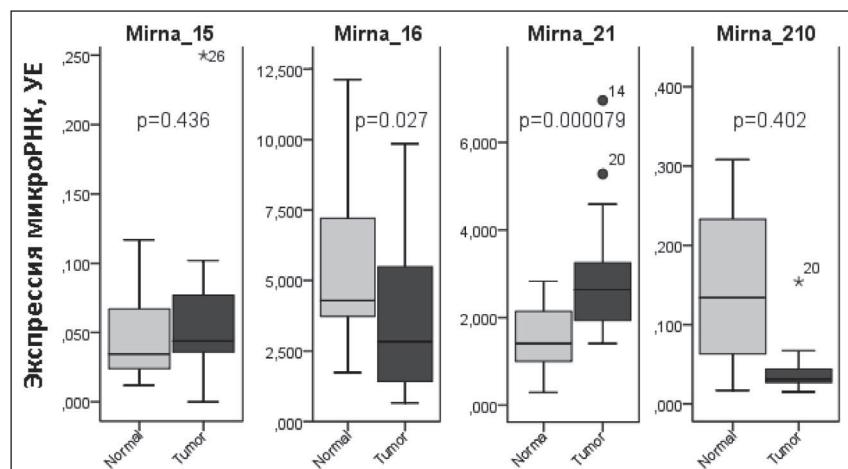


Рис. 2. Экспрессия генов микроРНК в нормальной и опухолевой тканих.  
Примечание: Normal – визуально здоровая перифокальная ткань;

Tumor – опухолевая ткань;  
UE – условные единицы

Fig. 2. Expression of microRNA genes in normal and tumor tissues

Note: Normal – visually healthy perifocal tissue; Tumor – tumor tissue; UE (REU) – relative units of expression

рации и роста клеток [9]. Повышенный рост клеток нормальной ткани несет риски злокачественного перерождения и прогрессирования. С другой стороны, сниженная экспрессия *E2F3* в опухолевой ткани также является неблагоприятным признаком, так как может служить причиной генетической нестабильности и тем самым увеличивать метастатический потенциал опухолевых клеток [8].

Выявлено, что у пациентов с повышенной экспрессией *E2F3* повышены также экспрессии *TGF-B* и *NFkB*. Белок *NFkB* является частью сигнального пути *AKT/NFkB/MDR1*, ответственного за развитие резистентности к лекарственной терапии при колоректальном раке [26]. Учитывая наличие корреляции с *NFkB*, высокая экспрессия *E2F3* потенциально является прогностическим фактором развития лекарственной устойчивости. Данное наблюдение может быть подтверждено только в рамках последующих клинических исследований.

Нарушение регуляции экспрессии *микроРНК* связано с инициацией и прогрессированием злокачественного новообразования. Негативные последствия в отношении прогноза при КРР имеет изменение экспрессии нескольких *микроРНК*.

Выявлена низкая экспрессия *микроРНК-16* в опухолевой ткани по сравнению с перифокальной. Известно, что *микроРНК-16* снижает пролиферацию и индуцирует апоптоз опухолевых клеток при колоректальном раке [27]. С. Farace et al. сообщили, что низкая экспрессия *микроРНК-16* при колоректальном раке является неблагоприятным прогностическим фактором [19]. Сниженная экспрессия *микроРНК-16* в опухолевой ткани в нашей работе может являться фактором негативного прогноза.

Уровень экспрессии *микроРНК-21* оказался выше в опухолевой ткани. Как показали Y. Wu et al., *микроРНК-21* при колоректальном раке способствует росту и инвазии опухолевых клеток с помощью подавления активности опухолевого супрессора *PTEN* [28]. Y. Yu et al. показали в метаанализе, что повышенная экспрессия *микроРНК-21* в тканях предсказывала снижение общей выживаемости и выживаемости без прогрессирования у пациентов с КРР [22]. Повышенная экспрессия *микроРНК-21* в опухолевой ткани в нашей работе может являться негативным прогностическим фактором рецидива и прогрессирования колоректального рака.

Уровень экспрессии *микроРНК-210* в перифокальной ткани оказался выше, чем в опухолевой, хотя разница и не была статистически значима. Как показали K.E. Tagscherer et al., гиперэкспрессия *микроРНК-210* может индуцировать апоптоз опухолевых клеток через ROS механизм [29]. Однако в работах других авторов было показано, что экспрессия *микроРНК-210* повышена при опухолевом процессе [19, 21], в особенности в условиях гипоксии [30]. Учитывая эти данные, не исключено, что высокая экспрессия *микроРНК-210* в нормальной

перифокальной ткани может быть фактором повышенного риска рецидива, развития опухоли *de novo* и неблагоприятного прогноза. Обнаружено, что чем ниже экспрессия генов *микроРНК-210* в опухолевой ткани, тем более вероятно метастатическое поражение лимфатических узлов, печени, а также выше стадия опухолевого процесса.

Кроме того, выявлена корреляция экспрессии *EGFR* с *KLF* и *MMP-9*, а также корреляция экспрессии *KLF* и *MMP-9* между собой. *EGFR* и *KLF* являются важными участниками роста опухолевых клеток, в то время как *MMP-9* участвует в ремоделировании структур внеклеточного матрикса и может обеспечивать необходимые изменения в ткани, способствуя развитию опухолевого процесса. Гиперэкспрессия этих факторов связана с плохим прогнозом при КРР [11, 12, 14].

Важно отметить, что при перекрестном анализе экспрессионных ландшафтов нормальной и опухолевой ткани нами был выявлен ряд идентичных взаимосвязей. Так, экспрессия *микроРНК-210* имела одинаково достоверную корреляцию с *микроРНК-15* и *-16*, ген *NFkB* – с генами *E2F3* и *TGFB*, а ген *KLF-12* – с геном *EGFR*.

Таким образом, опухолевая и перифокальная ткани при КРР имеют значимые различия в уровнях экспрессии генов *E2F3*, *микроРНК-16* и *микроРНК-21*, определяющих регуляцию опухолевого процесса.

### Заключение

Обнаружено снижение уровня экспрессии *E2F3* и *микроРНК-16* и повышение уровня экспрессии *микроРНК-21* в опухолевой ткани по сравнению с нормальной тканью у пациентов с КРР. Это дает возможность дифференцировать опухолевую и перифокальную ткань на расстоянии 1–2 см от опухоли не только гистологическим, но и молекулярно-генетическим методом исследования. Повышенный уровень экспрессии *E2F3* и *микроРНК-16* на расстоянии 1–2 см от опухоли может быть предиктором злокачественного перерождения, рецидива и прогрессирования опухоли. Экспрессия гена *E2F3* коррелирует с уровнем экспрессии гена *NFkB*, ответственного за развитие резистентности к лекарственной терапии, и потенциально может служить неблагоприятным прогностическим фактором лекарственной устойчивости. Повышенная экспрессия *микроРНК-21* в опухолевой ткани может являться негативным прогностическим фактором.

Существует возможная диагностическая ценность таких факторов, как *микроРНК-210*, *KLF* и *MMP-9*. Повышенная экспрессия *микроРНК-210* в перифокальной ткани, а *KLF* и *MMP-9* в опухолевой ткани может быть фактором рецидива и неблагоприятного прогноза.

Совместная оценка экспрессионных характеристик генов контроля опухолевого роста и

генов-регуляторов – *микроРНК* – в опухолевой и нормальной ткани на до- или интраоперационном этапах, безусловно, может рассматриваться как потенциальный прогностический критерий. Так, возможно, чем более различным является характер генетической дисрегуляции в ткани опухоли и перифокальной ткани, остающейся после резекции,

## ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Каприн А.Д. Клинические рекомендации. Злокачественные новообразования ободочной кишки и ректосигмоидного отдела. Общероссийский национальный союз Ассоциация онкологов России; 2020. [Kaprin A.D. Clinical guidelines. Malignant neoplasms of the colon and rectosigmoid region. All-Russian National Union. Association of Oncologists of Russia; 2020. (in Russian)].
2. Каприн А.Д. Клинические рекомендации. Рак прямой кишки. Общероссийский национальный союз Ассоциация онкологов России; 2020. [Kaprin A.D. Clinical guidelines. Rectal cancer. All-Russian National Union Association of Oncologists of Russia; 2020. (in Russian)].
3. Bujko K., Rutkowski A., Chang G.J., Michalski W., Chmielik E., Kusnierz J. Is the 1-cm rule of distal bowel resection margin in rectal cancer based on clinical evidence? A systematic review. *Ann Surg Oncol.* 2012; 19(3): 801–8. doi: 10.1245/s10434-011-2035-z.
4. Ker C.-G. Surgical safety margin of gastroenterological cancer surgery: A truth or a dream? *Formosan J Sur.* 2014; 47(3): 83–9.
5. Aran D., Camarda R., Odegaard J., Paik H., Oskotsky B., Krings G., Goga A., Sirota M., Butte A.J. Comprehensive analysis of normal adjacent to tumor transcriptomes. *Nat Commun.* 2017; 8(1): 1077. doi: 10.1038/s41467-017-01027-z.
6. Cai J., Xia L., Li J., Ni S., Song H., Wu X. Tumor-Associated Macrophages Derived TGF-β-Induced Epithelial to Mesenchymal Transition in Colorectal Cancer Cells through Smad2,3-4/Snail Signaling Pathway. *Cancer Res Treat.* 2019; 51(1): 252–66. doi: 10.4143/crt.2017.613.
7. Nakano M., Kikushige Y., Miyawaki K., Kunisaki Y., Mizuno S., Takenaka K., Tamura S., Okumura Y., Ito M., Ariyama H., Kusaba H., Nakamura M., Maeda T., Baba E., Akashi K. Dedifferentiation process driven by TGF-beta signaling enhances stem cell properties in human colorectal cancer. *Oncogene.* 2019; 38(6): 780–93. doi: 10.1038/s41388-018-0480-0.
8. Saavedra H.I., Maiti B., Timmers C., Altura R., Tokuyama Y., Fukasawa K., Leone G. Inactivation of E2F3 results in centrosome amplification. *Cancer Cell.* 2003; 3(4): 333–46. doi: 10.1016/s1535-6108(03)00083-7.
9. Yao H., Lu F., Shao Y. The E2F family as potential biomarkers and therapeutic targets in colon cancer. *PeerJ.* 2020; 8. doi: 10.7717/peerj.8562.
10. Jana A., Krett N.L., Guzman G., Khalid A., Ozden O., Staudacher J.J., Bauer J., Baik S.H., Carroll T., Yazici C., Jung B. NFκB is essential for activin-induced colorectal cancer migration via upregulation of PI3K-MDM2 pathway. *Oncotarget.* 2017; 8(23): 37377–93.
11. Del Carmen S., Corchete L.A., Gervas R., Rodriguez A., Garcia M., Álazar J.A., García J., Bengoechea O., Muñoz-Bellvis L., Sayagués J.M., Abad M. Prognostic implications of EGFR protein expression in sporadic colorectal tumors: Correlation with copy number status, mRNA levels and miRNA regulation. *Sci Rep.* 2020; 10(1): 4662. doi: 10.1038/s41598-020-61688-7.
12. Yan Q., Zhang W., Wu Y., Wu M., Zhang M., Shi X., Zhao J., Nan Q., Chen Y., Wang L., Cheng T., Li J., Bai Y., Liu S., Wang J. KLF8 promotes tumorigenesis, invasion and metastasis of colorectal cancer cells by transcriptional activation of FHL2. *Oncotarget.* 2015; 6(28): 25402–17.
13. Wang X., Jiang Z., Zhang Y., Wang X., Liu L., Fan Z. RNA sequencing analysis reveals protective role of kruppel-like factor 3 in colorectal cancer. *Oncotarget.* 2017; 8(13): 21984–93. doi: 10.18632/oncotarget.15766.
14. Yang X.Z., Cui S.Z., Zeng L.S., Cheng T.T., Li X.X., Chi J., Wang R., Zheng X.F., Wang H.Y. Overexpression of Rab1B and MMP9 predicts poor survival and good response to chemotherapy in patients with colorectal cancer. *Aging (Albany NY).* 2017; 9(3): 914–31. doi: 10.18632/aging.101200.
15. Lewis B.P., Burge C.B., Bartel D.P. Conserved seed pairing, often flanked by adenines, indicates that thousands of human genes are microRNA targets. *Cell.* 2005; 120(1): 15–20. doi: 10.1016/j.cell.2004.12.035.
16. Truong A.D., Rengaraj D., Hong Y., Hoang C.T., Hong Y.H., Lillehoj H.S. Differentially expressed JAK-STAT signaling pathway genes and target microRNAs in the spleen of necrotic enteritis-afflicted chicken lines. *Res Vet Sci.* 2017; 115: 235–43. doi: 10.1016/j.rvsc.2017.05.018.
17. Fesler A., Liu H., Ju J. Modified miR-15a has therapeutic potential for improving treatment of advanced stage colorectal cancer through inhibition of BCL2, BMI1, YAP1 and DCLK1. *Oncotarget.* 2017; 9(2): 2367–83. doi: 10.18632/oncotarget.23414.
18. Liu L., Wang D., Qiu Y., Dong H., Zhan X. Overexpression of microRNA-15 increases the chemosensitivity of colon cancer cells to 5-fluorouracil and oxaliplatin by inhibiting the nuclear factor-κB signaling pathway and inducing apoptosis. *Exp Ther Med.* 2017; 2655–60. doi: 10.3892/etm.2017.5675.
19. Farace C., Pisano A., Griñan-Lison C., Solinas G., Jiménez G., Serra M., Carrillo E., Scognamillo F., Attene F., Montella A., Marchal J.A., Madeddu R. Dereulation of cancer-stem-cell-associated miRNAs in tissues and sera of colorectal cancer patients. *Oncotarget.* 2020; 11(2): 116–30. doi: 10.18632/oncotarget.27411.
20. Zhang W., Zhou F., Jiang D., Mao Y., Ye D. Association of the Expression Level of miR-16 with Prognosis of Solid Cancer Patients: A Meta-Analysis and Bioinformatic Analysis. *Disease Markers.* 2020; 1–9.
21. Sabry D., El-Deek S.E.M., Maher M., El-Baz M.A.H., El-Bader H.M., Amer E., Hassan E.A., Fathy W., El-Deek H.E.M. Role of miRNA-210, miRNA-21 and miRNA-126 as diagnostic biomarkers in colorectal carcinoma: impact of HIF-1α-VEGF signaling pathway. *Mol Cell Biochem.* 2019; 454(1–2): 177–89. doi: 10.1007/s11010-018-3462-1.
22. Yu Y., Chen Z., Liu H., Jin W., Ding Z., Zheng S. Tissue microRNA-21 expression predicted recurrence and poor survival in patients with colorectal cancer&nbsp;&ndash; a meta-analysis. *OTT.* 2016; 2615.
23. World Medical Association. World Medical Association Declaration of Helsinki: ethical principles for medical research involving human subjects. *JAMA.* 2013; 310(20): 2191–4. doi: 10.1001/jama.2013.281053.
24. Sazanov A.A., Kiselyova E.V., Zakharenko A.A., Romanov M.N., Zaraysky M.I. Plasma and saliva miR-21 expression in colorectal cancer patients. *J Appl Genet.* 2017; 58(2): 231–7. doi: 10.1007/s13353-016-0379-9.
25. Seliverstov R.Yu., Zaraiskiy M.I., Tyurin R.V., Naryshkin A.G., Valerko V.G., Semiglavov V.V., Takahachi Ch. Microrna in monitoring of the evolution of glial cerebral tumors. *Sib J Onkol.* 2020; 19(3): 47–53. doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-3-47-53.
26. Yuan Z., Liang X., Zhan Y., Wang Z., Xu J., Qiu Y., Wang J., Cao Y., Le VM., Ly H.T., Xu J., Li W., Yin P., Xu K. Targeting CD133 reverses drug-resistance via the AKT/NF-κB/MDR1 pathway in colorectal cancer. *Br J Cancer.* 2020; 122(9): 1342–53. doi: 10.1038/s41416-020-0783-0.
27. Ma Q., Wang X., Li Z., Li B., Ma F., Peng L., Zhang Y., Xu A., Jiang B. microRNA-16 represses colorectal cancer cell growth in vitro by regulating the p53/survivin signaling pathway. *Oncol Rep.* 2013; 29(4): 1652–8. doi: 10.3892/or.2013.2226.
28. Wu Y., Song Y., Xiong Y., Wang X., Xu K., Han B., Bai Y., Li L., Zhang Y., Zhou L. MicroRNA-21 (Mir-21) Promotes Cell Growth and Invasion by Repressing Tumor Suppressor PTEN in Colorectal Cancer. *Cell Physiol Biochem.* 2017; 43(3): 945–58. doi: 10.1159/000481648.
29. Tagscherer K.E., Fassl A., Sinkovic T., Richter J., Schecher S., Macher-Goepfner S., Roth W. MicroRNA-210 induces apoptosis in colorectal cancer via induction of reactive oxygen. *Cancer Cell Int.* 2016; 16: 42. doi: 10.1186/s12935-016-0321-6.
30. Nijhuis A., Thompson H., Adam J., Parker A., Gammon L., Lewis A., Bundy J.G., Soga T., Jalaly A., Propper D., Jeffery R., Suraweera N., McDonald S., Thaha M.A., Feakins R., Lowe R., Bishop C.L., Silver A. Remodelling of microRNAs in colorectal cancer by hypoxia alters metabolism profiles and 5-fluorouracil resistance. *Hum Mol Genet.* 2017; 26(8): 1552–64. doi: 10.1093/hmg/ddx059.

тем менее вероятным становится риск развития послеоперационных рецидивов КРР.

Полученные данные могут служить основой для клинических исследований прогностической и предиктивной значимости экспрессии различных генов, связанных с генезом КРР, в опухолевой и периферических тканях.

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

**Служев Максим Иванович**, врач-онколог, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России; аспирант кафедры онкологии ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России (г. Санкт-Петербург, Россия). SPIN-код: 7816-5007. ORCID: 0000-0002-6346-1029.

**Зарайский Михаил Игоревич**, доктор медицинских наук, профессор кафедры клинической лабораторной диагностики с курсом молекулярной медицины, ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России; профессор кафедры медицинской генетики, ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Минздрава России (г. Санкт-Петербург, Россия). SPIN: 7722-6396. Author ID (Scopus): 57199513914. ORCID: 0000-0002-7605-4369.

**Семиглазов Владислав Владимирович**, доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник научного отдела общей онкологии и урологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России; заведующий кафедрой онкологии, ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России (г. Санкт-Петербург, Россия). Researcher ID (WOS): AAH-9574-2020. Author ID (Scopus): 7006310596. ORCID: 0000-0002-8825-5221.

**Семиглазова Татьяна Юрьевна**, доктор медицинских наук, заведующая отделом инновационных методов терапевтической онкологии и реабилитации, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России; профессор кафедры онкологии, ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Минздрава России (г. Санкт-Петербург, Россия). SPIN-код: 9773-3759. Author ID (Scopus): 8562948700. ORCID: 0000-0002-4305-6691

**Ткаченко Елена Викторовна**, кандидат медицинских наук, заведующая отделением краткосрочной химиотерапии, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России (г. Санкт-Петербург, Россия). ORCID: 0000-0001-6375-8335.

**Кондратьев Сергей Валерьевич**, врач-онколог, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России (г. Санкт-Петербург, Россия). ORCID: 0000-0002-7266-1604.

**Бриш Надежда Александровна**, врач-онколог, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России (г. Санкт-Петербург, Россия). ORCID: 0000-0001-6995-1048.

**Алексеева Юлия Владимировна**, врач-онколог, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России (г. Санкт-Петербург, Россия). ORCID: 0000-0001-5609-1237.

**Петрик Юрий Владимирович**, врач-эндоскопист, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России (г. Санкт-Петербург, Россия). SPIN: 2559-4294. ORCID: 0000-0002-0538-7369.

**Сидорова Александра Николаевна**, врач-эндоскопист, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России (г. Санкт-Петербург, Россия). SPIN: 9022-4125. ORCID: 0000-0001-8286-8302.

## ВКЛАД АВТОРОВ

**Служев Максим Иванович**: разработка концепции научной работы, составление черновика рукописи.

**Зарайский Михаил Игоревич**: разработка концепции научной работы, составление черновика рукописи.

**Семиглазов Владислав Владимирович**: анализ научной работы, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

**Семиглазова Татьяна Юрьевна**: окончательное утверждение публикуемой версии рукописи.

**Ткаченко Елена Викторовна**: анализ научной работы, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

**Кондратьев Сергей Валерьевич**: критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

**Бриш Надежда Александровна**: критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

**Алексеева Юлия Владимировна**: критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

**Петрик Юрий Владимирович**: существенный вклад в получение и анализ результатов данной работы.

**Сидорова Александра Николаевна**: существенный вклад в получение и анализ результатов данной работы.

**Финансирование**

*Это исследование не потребовало дополнительного финансирования.*

**Конфликт интересов**

*Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.*

## ABOUT THE AUTHORS

**Maksim I. Sluzhev**, MD, Oncologist, N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology; Postgraduate of Oncology Department, I.P. Pavlov First Saint Petersburg State Medical University (St. Petersburg, Russia). ORCID: 0000-0002-6346-1029.

**Michail I. Zaraisky**, MD, Professor, Department of Clinical Laboratory Diagnostics with the Course of Molecular Medicine, I.P. Pavlov First Saint Petersburg State Medical University; Professor, Department of Medical Genetics, I.I. Mechnikov North-Western State Medical University (St. Petersburg, Russia). Author ID (Scopus): 57199513914. ORCID: 0000-0002-7605-4369.

**Vladislav V. Semiglazov**, MD, DSc, Leading Researcher, Scientific Department of General Oncology and Urology, N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology; Head of Oncology Department, I.P. Pavlov First Saint Petersburg State Medical University (St. Petersburg, Russia). Researcher ID (WOS): AAH-9574-2020. Author ID (Scopus): 7006310596. ORCID: 0000-0002-8825-5221.

**Tatiana Yu. Semiglazova**, MD, DSc, Head of Department of Innovative Methods of Therapeutic Oncology and Rehabilitation, N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology; Professor, Oncology Department, I.I. Mechnikov North-Western State Medical University (St. Petersburg, Russia). Author ID (Scopus): 8562948700. ORCID: 0000-0002-4305-6691.

**Elena V. Tkachenko**, MD, PhD, Head of the Department of Chemotherapy, N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology (St. Petersburg, Russia). ORCID: 0000-0001-6375-8335.

**Sergei V. Kondratev**, MD, Oncologist, N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology (St. Petersburg, Russia). ORCID: 0000-0002-7266-1604.

**Nadezhda A. Brish**, MD, Oncologist, N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology (St. Petersburg, Russia). ORCID: 0000-0001-6995-1048

**Yuliya V. Alekseeva**, MD, Oncologist, N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology (St. Petersburg, Russia). ORCID: 0000-0001-5609-1237.

**Iuriy V. Petrik**, MD, Endoscopist, N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology (St. Petersburg, Russia). ORCID: 0000-0002-0538-7369.

**Aleksandra N. Sidorova**, MD, Endoscopist, N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology (St. Petersburg, Russia). ORCID: 0000-0001-8286-8302.

#### AUTHOR CONTRIBUTIONS

**Maksim I. Sluzhev**: study conception, drafting of the manuscript.

**Michail I. Zaraisky**: study conception, drafting of the manuscript.

**Vladislav V. Semiglazov**: supervision, critical revision with the introduction of valuable intellectual content.

**Tatiana Yu. Semiglazova**: final approval of the published version of the manuscript.

**Elena V. Tkachenko**: supervision, critical revision with the introduction of valuable intellectual content.

**Sergei V. Kondratev**: critical revision with the introduction of valuable intellectual content.

**Nadezhda A. Brish**: critical revision with the introduction of valuable intellectual content.

**Yuliya V. Alekseeva**: critical revision with the introduction of valuable intellectual content.

**Iuriy V. Petrik**: data collection and analysis.

**Aleksandra N. Sidorova**: data collection and analysis.

#### Funding

*This study required no funding.*

#### Conflict of interests

*The authors declare that they have no conflict of interest.*