

DOI: 10.17650/2313-805X-2022-9-4-78-88



Экспрессионная гетерогенность генов семейства ABC-транспортеров и генов химиочувствительности в опухоли желудка, канцероматозе и метастазах в лимфатические узлы

М.М. Цыганов^{1,2}, И.А. Цыденова¹, В.А. Маркович¹, М.К. Ибрагимова¹⁻³, Е.О. Родионов¹,
С.А. Тузиков¹, Н.В. Литвяков¹

¹Научно-исследовательский институт онкологии ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук»; Россия, 634009 Томск, переулок Кооперативный, 5;

²ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России; Россия, 634050 Томск, Московский тракт, 2;

³Национальный исследовательский Томский государственный университет, Россия; 634050 Томск, проспект Ленина, 36

Контакты: Матвей Михайлович Цыганов TsyganovMM@yandex.ru

Введение. Установлено, что метастатическим опухолям (в частности раку желудка) свойственна гетерогенность между первичными и метастатическими очагами. Такой тип гетерогенности является причиной низкой эффективности терапии, поэтому его следует учитывать при лечении первично-метастатических форм опухоли. В связи с этим сравнительный анализ экспрессии генов ABC-транспортеров и генов химиочувствительности позволит в определенной мере охарактеризовать резистентность и чувствительность первичной опухоли, канцероматоза и метастазов к терапии и дать основу для персонализированного подхода в лечении.

Цель – оценка экспрессионной гетерогенности генов ABC-транспортеров и генов химиочувствительности в опухоли желудка, канцероматозе и метастазах в лимфатические узлы.

Материалы и методы. В исследование включен 41 больной с диссеминированным раком желудка IV стадии с канцероматозом брюшины. Всем пациентам выполнена операция в объеме паллиативной гастрэктомии по Ру. После хирургического вмешательства в зависимости от показаний проводилась химиотерапия по схемам GemCar + C, FOLFIRI + C, XELIRI + C, PC. РНК выделяли с помощью набора RNeasy Plus mini Kit (Qiagen, Германия). Уровень экспрессии генов ABC-транспортеров (*ABCB1*, *ABCC1*, *ABCC2*, *ABCC5*, *ABCG1*, *ABCG2*) и генов химиочувствительности (*BRCA1*, *RRM1*, *ERCC1*, *TOP1*, *TOP2α*, *TUBβ3*, *TYMS*, *GSTP1*) в первичной опухоли, канцероматозе и метастазах в лимфатические узлы оценивали с помощью полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР).

Результаты. Показано, что уровень экспрессии исследуемых генов сильно варьирует. Из генов ABC-транспортеров наибольшее значение экспрессии для опухолевой ткани желудка, канцероматоза и метастаза в лимфатические узлы выявлено для *ABCG1* ($3,1 \pm 1,1$; max 32,0), *ABCG2* ($7,9 \pm 2,3$; max 54,1) и *ABCC2* ($9,6 \pm 3,8$; max 100,9) соответственно. Среди генов химиочувствительности гиперэкспрессия в этих тканях была характерна только для *TOP2α* ($17,2 \pm 5,9$; max 161,9; $10,8 \pm 4,1$; max 105,1; $35,3 \pm 0,8$; max 439,6 соответственно). Установлено, что уровень экспрессии генов *TOP2α* и *BRCA1* выше в метастазах в лимфатических узлах по сравнению с опухолевой тканью желудка и канцероматозом ($p = 0,005$ и $p = 0,001$ соответственно), тогда как экспрессия гена *ABCC1* статистически значимо выше в канцероматозе ($p = 0,03$).

Заключение. Таким образом, прослеживается высокий уровень экспрессионной гетерогенности при раке желудка, влияющей на паттерны экспрессии различных генов в разных локализациях. Точное определение профиля экспрессии исследуемых генов в первичной опухоли и метастазах позволит подобрать тактику лечения и схемы химиотерапии, которые с наибольшей вероятностью будут эффективны в каждом конкретном случае.

Ключевые слова: диссеминированный рак желудка, канцероматоз, гены семейства ABC-транспортеров, гены химиочувствительности, гетерогенность опухоли, экспрессия

Для цитирования: Цыганов М.М., Цыденова И.А., Маркович В.А. и др. Экспрессионная гетерогенность генов семейства ABC-транспортеров и генов химиочувствительности в опухоли желудка, канцероматозе и метастазах в лимфатические узлы. Успехи молекулярной онкологии 2022;9(4):78–88. DOI: 10.17650/2313-805X-2022-9-4-78-88

Expression heterogeneity of ABC-transporter family genes and chemosensitivity genes in gastric tumor, carcinomatosis and lymph node metastases

M.M. Tsyganov^{1,2}, I.A. Tsydenova¹, V.A. Markovich¹, M.K. Ibragimova¹⁻³, E.O. Rodionov¹, S.A. Tuzikov¹, N.V. Litvyakov¹

¹Cancer Research Institute of the Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences; 5 Cooperative Lane, Tomsk 634009, Russia;

²Siberian State Medical University, Ministry of Health of Russia; 2 Moskovsky Tract, Tomsk 634050, Russia;

³National Research Tomsk State University; 36 Lenina Prospekt, Tomsk 634050, Russia

Contacts: Matvey Mikhailovich Tsyganov TsyganovMM@yandex.ru

Introduction. Metastatic tumors (particularly gastric cancer) have been found to be characterized by heterogeneity between the primary tumor and metastases. This type of heterogeneity comes to the fore when treating primary-metastatic forms of tumor and is an important reason for the low effectiveness of their treatment. In this regard, comparative analysis of ABC-transporter gene expression and chemosensitivity genes will allow to characterize to a certain extent the resistance and sensitivity of primary tumor, carcinomatosis and metastases to therapy and provide the basis for personalized treatment approach.

Aim. To evaluate expression heterogeneity of ABC-transporter genes and chemosensitivity genes in gastric tumor, carcinomatosis and lymph node metastases.

Materials and methods. Overall 41 patients with disseminated gastric cancer stage IV with carcinomatosis of peritoneum were included in the investigation. All patients underwent surgery according to Roux palliative gastrectomy. After surgery patients underwent chemotherapy depending on indications. RNA was isolated using RNeasy Plus mini kit (Qiagen, Germany). The expression level of ABC transporter genes (*ABCB1*, *ABCC1*, *ABCC2*, *ABCC5*, *ABCG1*, *ABCG2*) and chemosensitivity genes (*BRCA1*, *RRM1*, *ERCC1*, *TOP1*, *TOP2a*, *TUBB3*, *TYMS*, *GSTP1*) was assessed by reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) in primary tumor, carcinomatosis and lymph node metastases.

Results. The expression levels of the genes under study were shown to vary widely. For ABC transporter genes, *ABCG1* (3.1 ± 1.1 ; max 32.0), *ABCG2* (7.9 ± 2.3 ; max 54.1), *ABCG2* (9.6 ± 3.8 ; max 101.0) were the most expressed genes in gastric tumor tissue, carcinomatosis and lymph node metastasis, respectively. Hyperexpression among chemosensitivity genes at all three sites was characteristic only of *TOP2a* (17.2 ± 6.0 ; max. 161.9; 10.8 ± 4.1 ; max. 105.1; 35.3 ± 0.8 ; max. 439.6, respectively). We found that *TOP2a* and *BRCA1* gene expression levels were higher in lymph node metastasis compared with gastric tumor tissue and carcinomatosis (at $p = 0.005$ and $p = 0.001$). Whereas *ABCC1* gene expression was statistically significantly higher in carcinomatosis ($p = 0.03$).

Conclusion. Thus, a high level of expression heterogeneity is observed in gastric cancer, which affects the expression patterns of various genes in different localizations. The expression profile can be used to determine the level of heterogeneity and approach to personalized therapy tactics.

Keywords: disseminated gastric cancer, carcinomatosis, genes of the ABC transporter family, chemosensitivity genes, tumor heterogeneity, expression

For citation: Tsyganov M.M., Tsydenova I.A., Markovich V.A. et al. Expression heterogeneity of ABC-transporter family genes and chemosensitivity genes in gastric tumor, carcinomatosis and lymph node metastases. *Uspekhi molekulyarnoy onkologii* = *Advances in Molecular Oncology* 2022;9(4):78–88. (In Russ.). DOI: 10.17650/2313-805X-2022-9-4-78-88

ВВЕДЕНИЕ

Рак желудка (РЖ) — одно из самых распространенных злокачественных новообразований во всем мире. Эта патология является 3-й по значимости причиной смерти от рака [1]. Только в 2018 г. в мире было диагностировано около 1 млн случаев РЖ [1]. Рак желудка является одним из наиболее злокачественных типов рака в связи с быстрым прогрессированием, развитием отдаленных метастазов и устойчивостью к традиционной химиотерапии. Предпринимаются значительные усилия, чтобы понять механизм этой устойчивости и улучшить результаты лечения. Считается, что внутриопухолевая гетерогенность является основной причиной неэффективности терапии местно-распространенных операбельных опухолей [2], в том числе РЖ [3]. В то же время помимо широко известной внутриопухолевой гетерогенности для метастатических опу-

холей характерна гетерогенность между первичной опухолью и метастазами (лимфогенными и отдаленными) [4]. Ее необходимо учитывать при лечении первичных метастатических опухолей, поскольку она является важной причиной низкой результативности терапии [5]. Это связано с тем, что даже при индивидуальном подходе довольно сложно подобрать эффективные схемы лечения в случаях как первичной опухоли, так и метастазов. В данном отношении первично-метастатический РЖ является особенно сложной локализацией, поскольку помимо отдаленных метастазов и метастазов в регионарные лимфатические узлы (ЛУ) он может давать метастазы в брюшину или канцероматоз.

Исследование X. De Aretxabala и соавт., выполненное в 1989 г., показало, что уровень хромосомной гетерогенности между первичной опухолью желудка

и метастазами в ЛУ составляет 33 % [6]. М. Amato и соавт. [7] изучали гетерогенность экспрессии рецептора эпидермального фактора роста 2 (human epidermal growth factor receptor 2, HER2) (важного маркера для назначения герцептина больным РЖ) между первичной опухолью и отдаленными метастазами и обнаружили, что у 2 (33 %) из 6 пациентов с HER2-положительной первичной опухолью метастазы были HER2-негативными и у 6 (75 %) из 8 пациентов с HER2-положительными метастазами первичная опухоль была HER2-негативна. Эти результаты ставят под сомнение целесообразность назначения трастузумаба пациентам только на основе HER2-статуса первичной опухоли.

В еще одном исследовании различия в иммуногистохимической экспрессии HER2 между первичными и парными метастатическими ЛУ наблюдались в 1 % случаев [8]. Были изучены амплификации генов *EGFR*, *HER2*, *FGFR2*, *MET*, *PIK3CA*, *KRAS*, *MYC* и *CCNE1* в первичной опухоли желудка и метастазах в ЛУ и продемонстрировано, что более чем у 68 % пациентов статус амплификаций генов в первичной опухоли и лимфогенных метастазах не совпадает [9]. Экспрессия *PD-L1* и мутационная нагрузка показали значительную гетерогенность между исходными первичными опухолями и метастазами (дискордантность 39 и 31 % соответственно). При этом анализ связи *PD-L1* и уровня мутационной нагрузки с показателями выживаемости без прогрессирования не выявил статистически значимых различий, также не была установлена связь с ответом на действие ингибиторов иммунных контрольных точек [10].

Анализ литературы показал, что в основном изучается гетерогенность между первичной опухолью желудка и сайтами прогрессии в плане маркеров чувствительности к таргетной терапии или иммунотерапии. Практически отсутствуют данные о гетерогенности маркеров чувствительности/резистентности к конвенциональной терапии, несмотря на ее широкое использование для лечения РЖ. В настоящей работе изучается гетерогенность экспрессии генов семейства ABC-транспортеров и генов химиочувствительности (*RRM1*, *ERCC1*, *TOP1*, *TOP2a*, *TYMS*, *TUBβ3*, *GSTP1*, *BRCA1*) в первичной опухоли желудка, лимфогенных, отдаленных метастазах и канцероматозе у одних и тех же пациентов с первично-метастатическим раком.

ABC-транспортеры представляют собой семейство трансмембранных белков, которые играют большую роль в переносе различных экзогенных и эндогенных веществ через мембраны против градиента концентрации посредством гидролиза аденозинтрифосфата (АТФ) [11]. Установлено, что ABC-транспортеры ответственны за формирование химиорезистентности при различных онкологических заболеваниях [12–14]. В то же время низкая экспрессия в опухоли желудка таких генов, как *ABCC1*, *ABCC3*, *ABCC7*, *ABCC8*, *ABCC9* и *ABCC10*, связана с высокими показателями общей

выживаемости (log rank test $p \leq 0,05$) [15]. В исследовании Т.М. Агаújo и соавт. продемонстрировано, что амплификация гена *ABCA13* увеличивает риск метастазирования РЖ в ЛУ [16]. Экспрессия генов эксцизионной (*ERCC1*), гомологичной репарации (*BRCA1*), тимидилат-синтетазы (*TYMS*), рибонуклеотидредуктазы М1 (*RRM1*), β-тубулина III (*TUBβ3*) и топоизомеразы IIα (*TOP2a*), связанная с чувствительностью к конвенциональным препаратам [17], различается в опухолевых клетках, в том числе и при РЖ, и связана с клинико-патологическими характеристиками пациентов [18–20].

Таким образом, изучение молекулярно-генетических особенностей РЖ имеет непосредственное отношение к клинической практике, поскольку, помимо дальнейшего выяснения патогенеза, создает основу для определения прогностических и диагностических маркеров, поиска новых мишеней для терапевтических препаратов и является основой для подбора персонализированного лечения.

Цель исследования — анализ межсайтовой гетерогенности экспрессии генов семейства ABC-транспортеров и генов химиочувствительности у пациентов с диссеминированным РЖ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Пациенты. В исследование был включен 41 пациент с диссеминированным РЖ IV стадии (T3–4N0–3M1) с канцероматозом брюшины: 22 (54 %) пациента младше 50 лет и 19 (46 %) — старше 50 лет. В большинстве случаев больные были мужского пола (54 %), реже — женского (46 %). У всех пациентов была аденокарцинома с низкой и/или умеренной степенью дифференцировки. Больные находились на лечении в клинике Научно-исследовательского института онкологии Томского национального исследовательского медицинского центра Российской академии наук с 2017 по 2020 г. Исследование проводилось в соответствии с Хельсинкской декларацией 1964 г. (исправленной в 2013 г.) [21].

Всем пациентам выполнена операция в объеме паллиативной гастрэктомии по Ру. После хирургического вмешательства в зависимости от показаний проводилась химиотерапия по схемам GemCap + C (интраперитонеально) (гемзар в дозе 800 мг/м² внутривенно в 1-й и 8-й дни; цисплатин в дозе 50 мг интраперитонеально на водной нагрузке в 4-й день; капецитабин в дозе 1500 мг/м² в течение 14 дней, интервал 21 день), FOLFIRI + C (интраперитонеально) (иринотекан в дозе 170 мг/м² — внутривенная инфузия 90 мин; лейковорин в дозе 400 мг/м² — внутривенная инфузия 2 ч в 1-й день; 5-фторурацил в дозе 400 мг/м² внутривенно струйно, затем в дозе 2400 мг/м² — внутривенная инфузия 46 ч; цисплатин в дозе 50 мг интраперитонеально на водной нагрузке во 2-й день, интервал 21 день); XELIRI + C (интраперитонеально) (иринотекан в дозе 230 мг/м² — внутривенная инфузия 60–90 мин

в 1-й день; цисплатин в дозе 50 мг интраперитонеально на водной нагрузке во 2-й день; капецитабин в дозе 1800 мг/м² в день в течение 14 дней, интервал 21 день); РС (паклитаксел в дозе 135 мг/м² внутривенно в 1-й день; цисплатин интраперитонеально в 4-й день; паклитаксел интраперитонеально в 8-й день, интервал 21 день). Химиотерапия проводилась при удовлетворительных общем состоянии и лабораторных показателях пациентов без отклонений от нормы.

У 1 пациента наблюдалась опухоль Т3, у остальных – Т4. Кроме того, в 3 (7 %) из 41 случаев отсутствовали метастазы в регионарных ЛУ, у 5 (12 %) наблюдались метастазы в 1–2 ЛУ, у 6 (15 %) – в 3–6 (N1 и N2 соответственно). У большинства пациентов (в 15 (37 %) случаях) выявлено поражение ≥7 регионарных ЛУ.

В качестве исследуемых образцов использовали операционный материал – опухолевую ткань желудка (забор производился к центру опухоли полнослойно), неизмененную ткань желудка (забор производился на максимальном отдалении от края опухоли полнослойно), ткань канцероматоза, метастатический материал в ЛУ. Материал забирался в объеме ~30–60 мм³ и помещался в раствор RNeasy Lysis Buffer (Qiagen, США). После 24-часовой инкубации при +4 °С образцы биоматериала сохраняли при температуре –80 °С для дальнейшего выделения РНК.

Выделение РНК. РНК была выделена с помощью набора RNeasy Plus mini Kit (Qiagen, Германия). Концентрацию и чистоту выделения РНК оценивали с помощью спектрофотометра NanoDrop-2000 (Thermo Scientific, США). Концентрация РНК составила от 50 до 200 нг/мкл; $A_{260}/A_{280} = 1,85–2,05$; $A_{260}/A_{230} = 1,80–2,08$. Целостность РНК определяли с помощью капиллярного электрофореза на приборе Tape Station (Agilent Technologies, США). Число целостности РНК (RNA integrity number, RIN) составило 6,6–9,2. Для получения комплементарной ДНК (кДНК) на матрице РНК проводили реакцию обратной транскрипции с использованием набора RevertAid™ (Thermo Fisher Scientific, США) со случайными гексануклеотидными праймерами в соответствии с инструкцией производителя.

Количественная полимеразная цепная реакция. Уровень экспрессии 6 генов семейства ABC-транспортеров (*ABCB1*, *ABCC1*, *ABCC2*, *ABCC5*, *ABCG1*, *ABCG2*) и 8 генов химиочувствительности (*BRCA1*, *RRM1*, *ERCC1*, *TOP1*, *TOP2α*, *TUBβ3*, *TYMS*, *GSTP1*) определяли с помощью количественной ПЦР в режиме реального времени (по технологии TaqMan) на амплификаторе Rotor-Gene-6000 (Corbett Research, Австралия). Полимеразную цепную реакцию проводили в 3 репликах. Объем реакционной смеси составил 15 мкл. Она включала 250 мкМ дезоксинуклеотидов (dNTPs) («СибЭнзайм», Россия), 300 нМ прямого и обратного праймеров, 200 нМ зонда, 2,5 мМ MgCl₂, 19SE-буфер (67 мМ Tris – HCl (pH 8,8 при 25 °С), 16,6 мМ (NH₄)₂SO₄, 0,01 % Tween-20), 2,5 ед HotStart Taq polymerase

(«СибЭнзайм», Россия) и 50 нг кДНК. Программа амплификации включала 1 цикл для полной денатурации матрицы и праймеров (10 мин при 94 °С) и 40 циклов: 1-й шаг – денатурация матрицы (10 с при 94 °С); 2-й шаг – отжиг праймеров (20 с при 60 °С). Два референсных гена – *GAPDH* (glyceraldehydes-3-phosphatedehydrogenase) и *ACTB* (actin beta) – были использованы в качестве эталонных генов. Уровень экспрессии генов был нормализован по отношению к экспрессии генов-рефери и экспрессии в нормальной ткани желудка каждого пациента по методу Pfaffl [22] и измерялся в условных единицах. Для определения отношения экспрессии между образцом и калибратором использовалась следующая формула:

$$\text{Ratio} = \frac{(E_{\text{target}})^{\Delta C_{\text{target}}(\text{calibrator-test})}}{(E_{\text{ref}})^{\Delta C_{\text{ref}}(\text{calibrator-test})}},$$

где E – эффективность реакции; Ct – пороговый цикл генов-мишеней (target) и гена-рефери (ref); $\Delta C_{\text{target}}(\text{calibrator-test}) = C_{\text{t}} \text{ гена-мишени в калибраторе} - C_{\text{t}} \text{ гена-мишени в опытном образце}$; $\Delta C_{\text{ref}}(\text{calibrator-test}) = C_{\text{t}} \text{ гена-рефери в калибраторе} - C_{\text{t}} \text{ гена-рефери в опытном образце}$.

Праймеры и зонды представлены в табл. 1.

Статистические методы. Статистическая обработка данных проводилась с использованием пакета программ Statistica 8.0 (StatSoft Inc., США). Для каждой выборки вычисляли среднее арифметическое и среднюю квадратичную ошибку. Для проверки гипотезы о значимости различий между исследуемыми группами использовали U-критерий Манна–Уитни. Различия между исследуемыми группами считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В настоящем исследовании проведен анализ экспрессии 6 генов семейства ABC-транспортеров и 8 генов химиочувствительности в 3 сайтах по каждому пациенту. Исследовали опухолевую ткань желудка, канцероматоз брюшины, метастаз в ЛУ. В табл. 2 представлены параметры экспрессии исследуемых генов.

Согласно данным, представленным в табл. 2, уровень экспрессии исследуемых генов сильно варьировал. Из генов ABC-транспортеров наибольшее значение экспрессии для опухолевой ткани желудка, канцероматоза и метастаза в ЛУ выявлено для *ABCG1* ($3,1 \pm 1,1$; max 32,0), *ABCG2* ($7,9 \pm 2,3$; max 54,1) и *ABCC2* ($9,6 \pm 3,8$; max 100,9) соответственно. Среди генов химиочувствительности гиперэкспрессия в этих тканях была характерна только для *TOP2* ($17,2 \pm 5,9$; max 161,9; $10,8 \pm 4,1$; max 105,1; $35,3 \pm 0,8$; max 439,6 соответственно).

Выявлен высокий уровень экспрессионной гетерогенности у пациентов с РЖ (рис. 1, 2). Сравнение экспрессии генов семейства ABC-транспортеров продемонстрировало, что только ген *ABCC1* показал

Таблица 1. Последовательность праймеров и проб исследованных генов

Table 1. Sequence of primers and samples of the genes studied

| Ген Gene | Ампликон, п. н. Amplicon, bp | Последовательность Sequence |
|-------------|---------------------------------|---|
| GAPDH | 124 | F 5'-gccagccgagccacatc-3' |
| | | R 5'-ggcaacaatattccactttaccaga-3' |
| | | Probe 5'-cgccaataacgaccaaatccg-3' |
| ACTB | 73 | F 5'-gagaagatgaccagatcatgtt -3' |
| | | R 5'-atagcacagcctggatagcaa -3' |
| | | Probe 5'-agaccttcaacacccagccat -3' |
| ABCB1 | 93 | F 5'-gattgacagctacagcacgg-3' |
| | | R 5'-ggtcgggtgggatagtga-3' |
| | | Probe 5'-tgccgaacacattggaaggaaa-3' |
| ABCC1 | 87 | F 5'-agtggtgctcggaaaag-3' |
| | | R 5'-cggagcccttgatagcca-3' |
| | | Probe 5'-tggctgagatggacaaagtggag-3' |
| ABCC2 | 85 | F 5'-cctgtcggctctggaa-3' |
| | | R 5'-tgcccttgatggtgatgtg-3' |
| | | Probe 5'-atgctgggagaatggaaaatgt-3' |
| ABCC5 | 76 | F 5'-caagagggtaaactggttga-3' |
| | | R 5'-ctaaaatggctgaaatgagagag-3' |
| | | Probe 5'-ggcagtggtggaaagtggaaa-3' |
| ABCG1 | 7 | F 5'-cctactacctggccaagaccat-3' |
| | | R 5'-agtacacgatgctcagtaggc-3' |
| | | Probe 5'-acgtgcccttccagatcatgtccca gt-3' |
| ABCG2 | 97 | F 5'-aaaggatgtctaagcaggga-3' |
| | | R 5'-tgaggccaataaggtgagg-3' |
| | | Probe 5'-tcgaggctgatgaatggagaag-3' |
| RRM1 | 94 | F 5'-actaagcacctgactatgctatcc-3' |
| | | R 5'-cttccatcacatcactgaacacttt-3' |
| | | Probe 5'-cagccaggatcgctgtcttaactg ca-3' |
| ERCC1 | 121 | F 5'-ggcagcgaattcccgaacta-3' |
| | | R 5'-agttcttccccaggctctgc-3' |
| | | Probe 5'-accacaacctgcaccagactacat cca-3' |
| BRCA1 | 107 | F 5'-acagctgtgtggtgctctgtg-3' |
| | | R 5'-cattgtcctctgtccaggcatc-3' |
| | | Probe 5'-catcattacccttggcacaggtgt-3' |

| | | |
|-------|----|---|
| TOP1 | 97 | F 5'-ggcgagtgatctaaggataatgaa -3' |
| | | R 5'-tggatatcttaaagggtaca gcgaa -3' |
| | | Probe 5'-accattttcccatcatcctttgttctga gc -3' |
| TOP2α | 75 | F 5'-agtcgcttcagggttctgtag-3' |
| | | R 5'-tttcatttacaggctgcaatgg-3' |
| | | Probe 5'-cccttcagaccgtcac catgga-3' |
| TUBβ3 | 71 | F 5'-gggccaagtctgggaagtc-3' |
| | | R 5'-cgagtcgcccagctagtgtg-3' |
| | | Probe 5'-atgagcatggcatcgacc cagc-3' |
| TYMS | 91 | F 5'-tctggaagggtgttttggga-3' |
| | | R 5'-tcccagatttctactccctt-3' |
| | | Probe 5'-tccttagcattgtggat ccctga-3' |
| GSTP1 | 84 | F 5'-ctggtggacatggtgaatgac-3' |
| | | R 5'-cttgcccgcctcatagtgtg-3' |
| | | Probe 5'-aggacctccgctgcaatacatctc-3' |

Примечание. Все пробы – FAM → bHQ1; F – прямой праймер; R – обратный праймер; probe – зонд.

Note. All samples – FAM → bHQ1; F – direct primer; R – reverse primer.

статистически значимую разницу в уровне экспрессии между исследуемыми сайтами по каждому пациенту (см. рис. 1). Экспрессия гена *ABCC1* была статистически значимо выше при канцероматозе брюшины ($p = 0,03$).

Установлено, что уровень экспрессии гена *ABCC1* в канцероматозе ($1,9 \pm 0,5$) статистически значимо выше, чем в метастазе в ЛУ ($1,2 \pm 0,2$) ($p = 0,03$). Также на уровне выраженной тенденции экспрессия *ABCC1* была больше в канцероматозе по сравнению с первичным опухолевым узлом ($p = 0,07$) (см. рис. 1б).

Выявлено, что уровень экспрессии гена *TOP2α* выше в метастазе в ЛУ ($35,3 \pm 0,8$) по сравнению с канцероматозом ($10,8 \pm 4,1$) ($p = 0,03$) (см. рис. 2з). Показаны статистически значимые различия в экспрессии исследуемого гена между опухолевой тканью ($17,2 \pm 6,0$) и канцероматозом ($10,8 \pm 4,1$) ($p = 0,01$). Аналогичные результаты получены для *BRCA1* (см. рис. 2з). Достоверные различия в уровне экспрессии наблюдаются между опухолевой тканью и канцероматозом ($p = 0,005$) и метастазом в ЛУ и канцероматозом ($p = 0,01$). Несмотря на большой разброс в уровне экспрессии исследуемых генов, у некоторых пациентов отмечаются высокие показатели экспрессии во всех образцах, что может свидетельствовать о наличии общих механизмов чувствительности и/или резистентности.

Таблица 2. Параметры экспрессии исследуемых генов в разных образцах

Table 2. Expression parameters of the studied genes in different samples

| Ген Gene | Экспрессия генов в опухоли желудка (у. е.) Gene expression in gastric tumor | | | Экспрессия генов в канцероматозе (у. е.) Gene expression in carcinomatosis | | | Экспрессия генов в метастазе в лимфатический узел (у. е.) Gene expression in metastasis to a lymph node | | |
|--------------|--|---------------------|-------|---|---------------------|-------|--|---------------------|-------|
| | Mean ± SE | Median (IR 25–75 %) | Max | Mean ± SE | Median (IR 25–75 %) | Max | Mean ± SE | Median (IR 25–75 %) | Max |
| <i>ABCB1</i> | 1,0 ± 0,2 | 0,7 (0–1,4) | 4,0 | 0,9 ± 0,2 | 0,3 (0–1,4) | 4,7 | 1,4 ± 0,51 | 0,4 (0–1,51) | 12,6 |
| <i>ABCC1</i> | 1,1 ± 0,2 | 0,8 (0,3–1,2) | 5,6 | 1,9 ± 0,5 | 0,9 (0,3–2,4) | 13,5 | 1,2 ± 0,23 | 0,9 (0,23–1,41) | 5,0 |
| <i>ABCC2</i> | 1,8 ± 0,8 | 0,1 (0–1,6) | 25,5 | 5,5 ± 2,5 | 0,12 (0–1,3) | 57,9 | 1,8 ± 0,71 | 0,1 (0–1,71) | 17,3 |
| <i>ABCC5</i> | 2,12 ± 0,5 | 0,4 (0,1–2,7) | 12,4 | 3,6 ± 1,0 | 0,6 (0,1–2,9) | 21,8 | 2,2 ± 0,79 | 0,5 (0,05–2,52) | 24,2 |
| <i>ABCG1</i> | 3,1 ± 1,1 | 0,5 (0,1–2,1) | 32,0 | 2,9 ± 0,9 | 0,45 (0,2–2,4) | 24,8 | 2,3 ± 0,68 | 0,7 (0,1–2,25) | 15,5 |
| <i>ABCG2</i> | 2,8 ± 0,6 | 1,5 (0,6–4,3) | 19,9 | 7,9 ± 2,23 | 1,9 (0,6–10,01) | 54,1 | 9,6 ± 3,77 | 2,1 (0,93–6,5) | 101,0 |
| <i>RRM1</i> | 3,2 ± 1,2 | 1,1 (0,7–2,6) | 45,56 | 1,7 ± 0,3 | 1,1 (0,7–2,2) | 9,3 | 2,5 ± 0,8 | 1,2 (0,6–3,2) | 24,9 |
| <i>ERCC1</i> | 1,2 ± 0,4 | 0,7 (0–1,3) | 13,6 | 0,9 ± 0,3 | 0,4 (0–1,0) | 6,9 | 0,8 ± 0,3 | 0,2 (0–1,2) | 5,6 |
| <i>TOP1</i> | 2,7 ± 0,8 | 0,6 (0–3,2) | 23,4 | 2,34 ± 0,6 | 0,7 (0,15–3,7) | 17,5 | 9,4 ± 7,1 | 1,1 (0,1–4,0) | 234,8 |
| <i>TOP2α</i> | 17,2 ± 6,0 | 2,6 (0,7–9,3) | 161,9 | 10,8 ± 4,1 | 2,4 (0,4–9,6) | 105,1 | 35,3 ± 0,8 | 4,7 (0,9–16,1) | 439,6 |
| <i>TYMS</i> | 5,3 ± 1,5 | 1,7 (0,5–5,9) | 49,9 | 2,5 ± 0,7 | 1,2 (0–2,5) | 21,3 | 3,8 ± 16,0 | 1,7 (0,29–5,6) | 15,9 |
| <i>TUBβ3</i> | 5,7 ± 1,5 | 2,0 (0,9–3,9) | 37,8 | 9,2 ± 6,2 | 1,8 (0,4–3,9) | 211,6 | 7,4 ± 2,5 | 2,3 (0,87–8,5) | 77,7 |
| <i>GSTP1</i> | 3,8 ± 1,2 | 0,6 (0,2–3,4) | 33,7 | 3,78 ± 1,9 | 1,2 (0,3–2,56) | 66,8 | 2,7 ± 0,8 | 0,9 (0,31–3,1) | 24,3 |
| <i>BRCA1</i> | 2,5 ± 0,4 | 2,2 (0,7–3,4) | 12,7 | 2,7 ± 1,0 | 0,6 (0,1–1,5) | 32,2 | 4,4 ± 2,3 | 1,6 (0,7–3,2) | 77,1 |

Примечание. Mean ± SE – среднее значение экспрессии ± ошибка средней; Median – медиана; IR – межквартильный диапазон; max – максимальное значение экспрессии.

Note. Mean ± SE – mean expression value ± standard error; IR – interquartile range; max – maximum expression value.

ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящее время хорошо известно, что при различных локализациях внутриопухолевая гетерогенность влияет на характер экспрессии генов, и профиль экспрессии может быть использован для определения уровня гетерогенности [23]. В недавней работе было показано, что при иерархической кластеризации с использованием профиля экспрессии всех генов (gene expression profiling, GEP) большинство (61/71; 86 %) образцов опухолей были сгруппированы по пациентам, что указывает на большую гетерогенность между пациентами, нежели на внутриопухолевую гетерогенность [24]. Тем не менее внутриопухолевая гетерогенность является особенностью РЖ. В частности, независимо от расположения опухолевых клеток желудка, отсутствие экспрессии гена *ARID1A* или его низкая экспрессия наблюдаются только в 14,7 % случаев РЖ [25].

При этом согласно полученным нами данным продемонстрирована внутри- и межопухолевая гетерогенность при РЖ в уровне экспрессии генов семейства ABC-транспортеров и генов химиочувствительности. Несмотря на изученность ABC-генов и формирования лекарственной резистентности, вопрос об их гетеро-

генности при РЖ не решен. Была выявлена разница в экспрессии *ABCC1* и *TOP2α* в зависимости от локализации. Оба гена связаны с чувствительностью опухоли к доксорубину. Если высокий уровень экспрессии *ABCC1* ассоциирован с резистентностью опухоли к данному препарату [26], то гиперэкспрессия *TOP2α* при лечении больных доксорубином сопряжена с более вероятным ответом на лечение ($p = 0,002$) по сравнению с группой пациентов, получавших доцетаксел [26]. Это подтверждается рядом других исследований, в ходе которых установлено, что некоторые ABC-гены играют роль в формировании химиорезистентности у больных РЖ. Были продемонстрированы низкие показатели выживаемости у пациентов, у которых наблюдалась гиперэкспрессия *ABCB1* ($p = 0,030$) [27]. Ген *ABCC4* высоко экспрессируется в нескольких типах клеток РЖ [28]. Напротив, в нормальных клетках слизистой оболочки желудка экспрессия *ABCC4* очень низкая или не определяется. При этом ингибирование экспрессии гена *ABCC4* может подавлять пролиферацию клеток РЖ с множественной лекарственной устойчивостью и повышать чувствительность клеток к химиотерапевтическим препаратам.

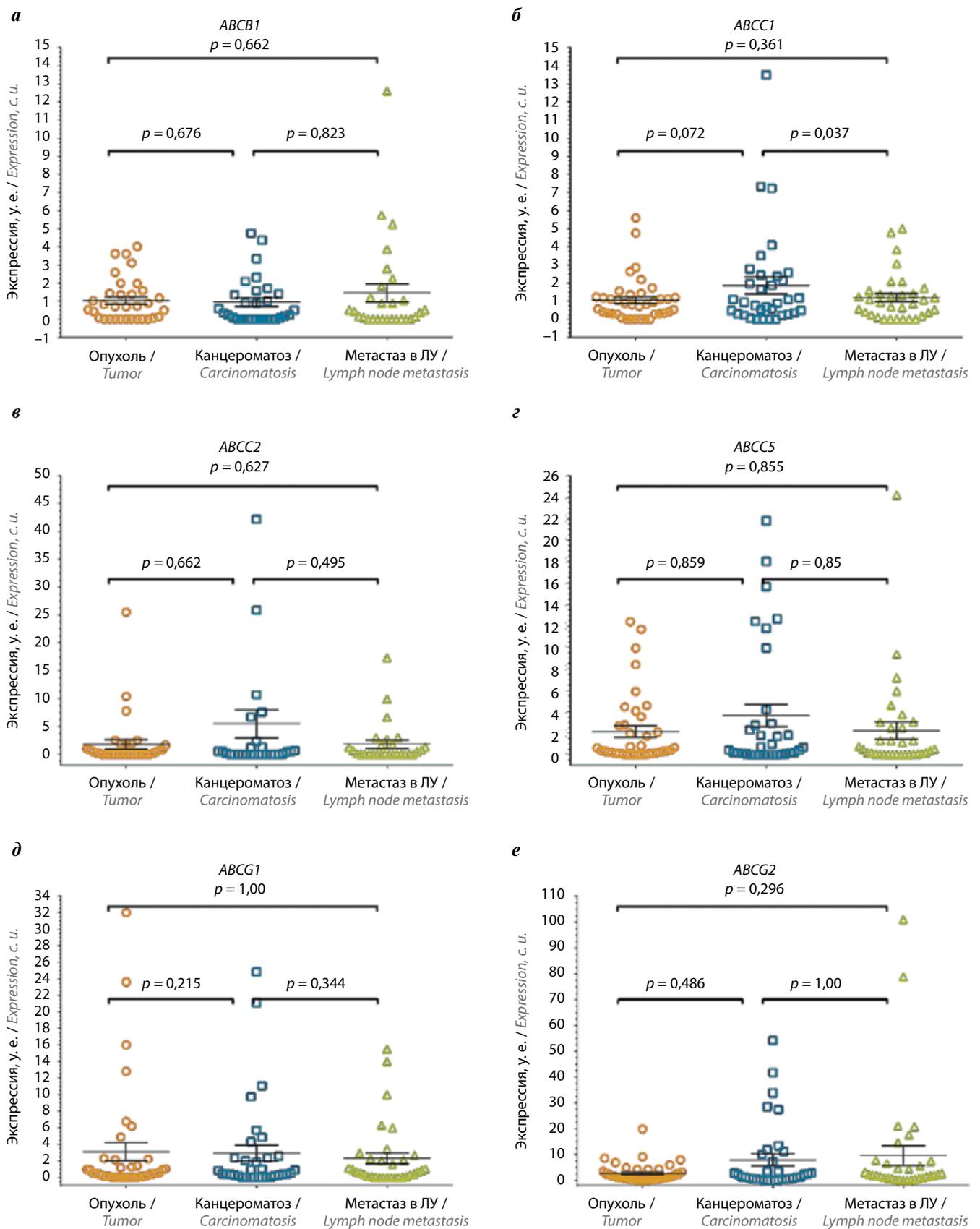


Рис. 1. Сравнение уровня экспрессии исследуемых генов семейства ABC-транспортёров в разных сайтах. Для проверки гипотезы о значимости различий между исследуемыми группами использовали U-критерий Манна–Уитни. ЛУ – лимфатический узел

Fig. 1. Comparison of the expression level of the studied ABC-transporter family genes in different studied sites. Mann–Whitney U test was used to test the hypothesis about the significance of differences between the study groups

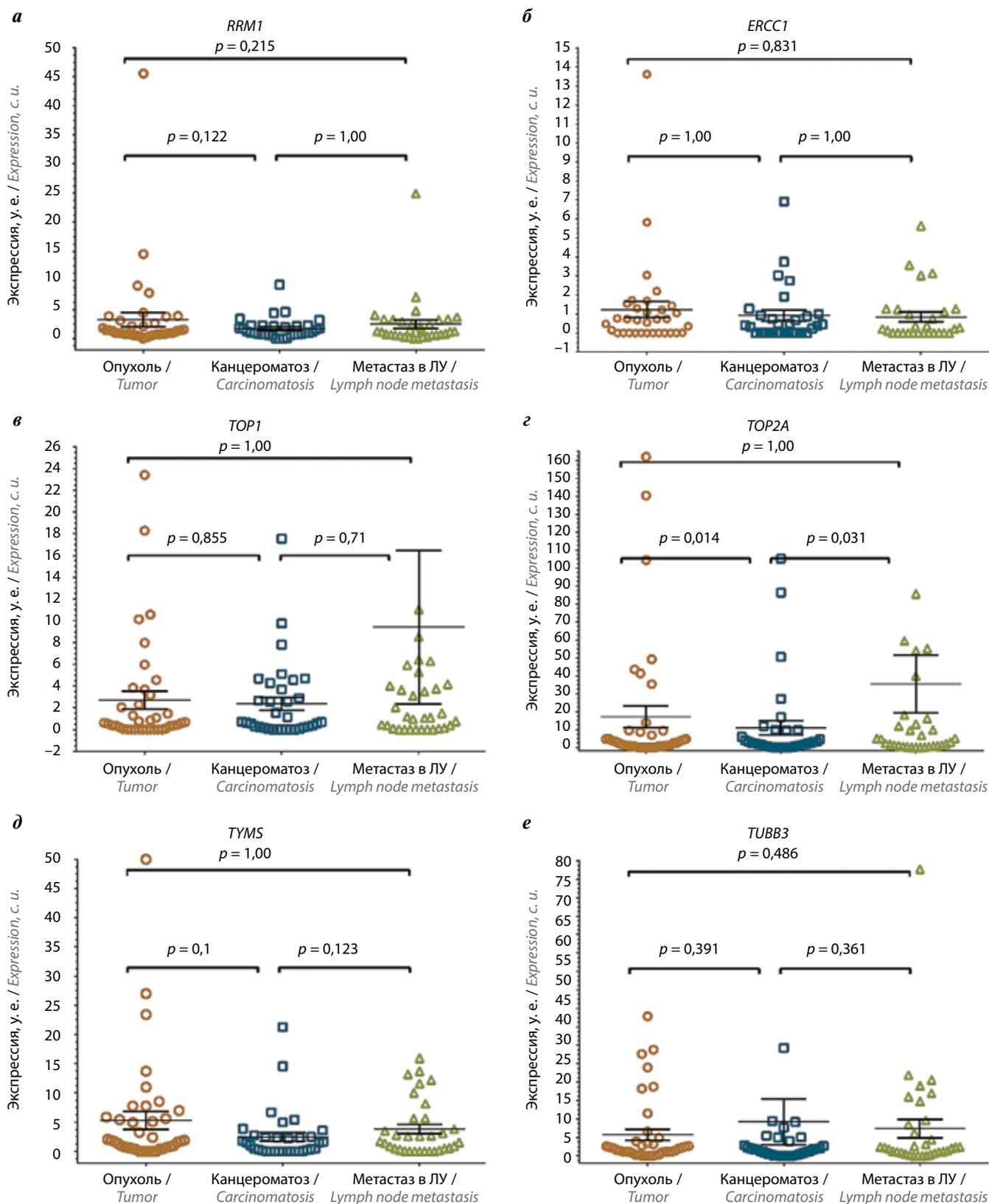


Рис. 2. Сравнение уровня экспрессии генов химиочувствительности *RRM1* (а), *ERCC1* (б), *TOP1* (в), *TOP2A* (г); *TYMS* (д), *TUBB3* (е), *GSTP1* (ж), *BRCA1* (з) в разных сайтах. Для более удобной визуализации вариации уровня экспрессии исследуемых генов на рис. в (ген *TOP1*) отсутствует значение экспрессии 234,8; на рис. г (ген *TOP2a*) – экспрессии 314,7 и 439,6; на рис. е (ген *TUBB3*) – экспрессии 211,6;
Fig. 2. Comparison of the expression level of the studied chemosensitivity *RRM1* (a), *ERCC1* (б), *TOP1* (в), *TOP2A* (г); *TYMS* (д), *TUBB3* (е), *GSTP1* (ж), *BRCA1* (з) genes in different studied sites. The expression level was measured in arbitrary units (c. u.); for more convenient visualization of the variation in the level of expression of the studied genes, in fig. в (*TOP1* gene) there is no expression value of 234.8; Fig. г (*TOP2a* gene) – expression value 314.7 and 439.6; Fig. е (*TUBB3* gene) – expression value 211.6;

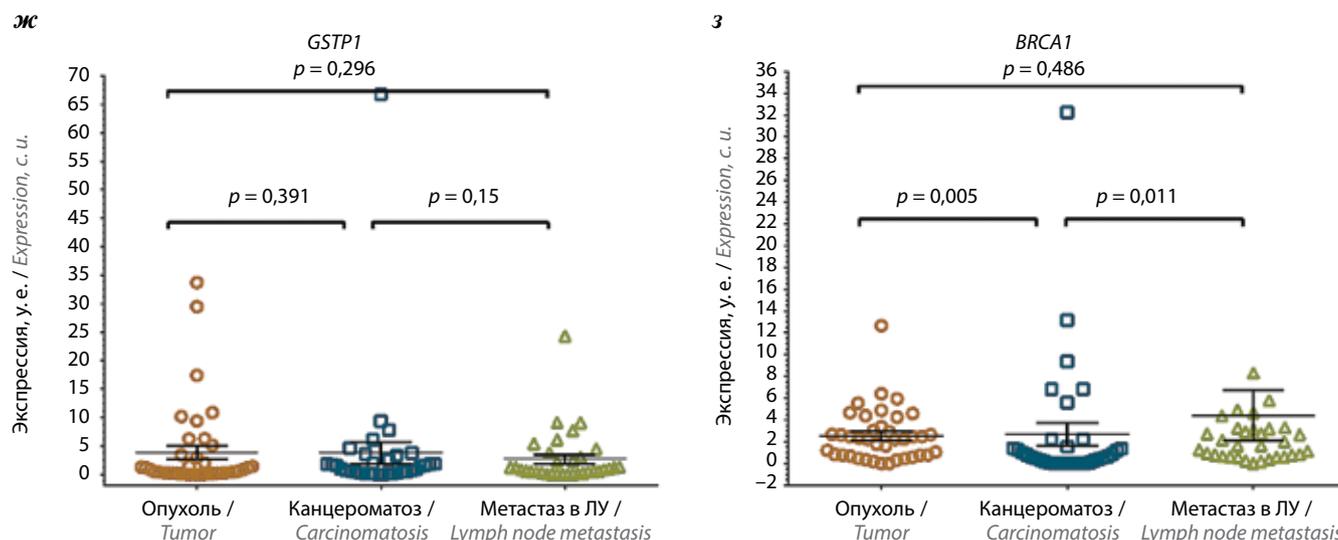


Рис. 2. Окончание: на рис. 3 (ген *BRCA1*) – экспрессии 77,1. Для проверки гипотезы о значимости различий между исследуемыми группами использовали U-критерий Манна–Уитни. ЛУ – лимфатический узел

Fig. 2. The end: fig. 3 (*BRCA1* gene) – expression value 77.1; Mann–Whitney U test was used to test the hypothesis about the significance of differences between the study groups

Аналогичное исследование было проведено в отношении гена *ABCB1* [29]. Его продукт представляет собой трансмембранный переносчик, который участвует в формировании механизма множественной лекарственной устойчивости в опухолевых клетках за счет активного выброса лекарственных средств. Нокаунт гена *ABCB1* повышает накопление адриамицина (доксорубицина) в этих клетках и соответственно увеличивает чувствительность к лечению.

Что касается генов химиочувствительности, то в недавнем исследовании были проанализированы 12 генов, влияющих на эффективность лечения РЖ. Для генов химиочувствительности был показан высокий уровень экспрессии в опухолевой ткани желудка. Наибольший уровень экспрессии выявлен для гена *TOP2a*. Для *BRCA1*, *TUBβ3* и *RRM1* также были получены статистически значимые результаты ($p < 0,05$). Проведение анализа по парным корреляциям, основанного на различиях экспрессии между опухолевой и соседними тканями, позволило выявить метаболический кластер таких генов, как *BRCA1*, *TYMS*, *TOP2a* и *STMN1* [30]. В еще одном исследовании рассматривалась связь между клинико-патологическими характеристиками и экспрессией *ERCC1*, *BRCA1*, *RRM1* и *TOP2a*. Показано, что экспрессия *TYMS* и *TUBβ3* коррелирует с возрастом, при этом у пациентов старше 57 лет наблюдается более низкая экспрессия *TYMS* ($p = 0,044$) и *TUBβ3* ($p = 0,024$). Кроме того, более низкая экспрессия *TUBβ3* выявлена у пациентов женского пола ($p = 0,026$) и больных с наличием в семейном анамнезе РЖ ($p = 0,025$). Для остальных исследуемых генов не было обнаружено корреляций между клинико-патологическими характеристиками и экспрессией [31]. В недавнем исследовании оценка экспрессии генов химиочувствительности в ткани первичного РЖ пока-

зала, что высокая экспрессия *TOP2a* связана с риском развития гематогенного метастазирования, а также является хорошим прогностическим фактором для рецидивов ($p < 0,0001$) [32].

Наши предыдущие проспективные исследования рака молочной железы и легкого показали возможность применения оценки экспрессии генов ABC-транспортеров и генов химиочувствительности для персонализированного назначения схемы химиотерапии [33–35]. Согласно полученным данным снижение экспрессии ABC-генов в процессе лечения сопряжено с эффективностью химиотерапии и достижением более высоких показателей безметастатической выживаемости. Однако, к сожалению, при РЖ проводятся лишь ассоциативные исследования, проспективные работы в этой области не выполняются. Также показано, что низкая экспрессия *BRCA1* связана с высокой частотой ответа опухоли на химиотерапию таксанами (67 % (6/9) против 32 % (17/54); $p = 0,04$). При этом низкий уровень *TUBβ3* тоже коррелировал с повышенной вероятностью ответа опухоли (43 % (21/49) против 8 % (1/13); $p = 0,02$) и увеличением показателей общей выживаемости (10,5 мес против 7,1 мес; $p = 0,02$) [36].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, природа РЖ крайне неоднородная. Для метастатических форм злокачественных новообразований характерна гетерогенность между первичной опухолью и метастазами (лимфогенными и/или отдаленными). Такая разновидность гетерогенности является важной причиной низкой эффективности терапии, поэтому ее необходимо учитывать при лечении первично-метастатического РЖ. Это обуславливает актуальность дальнейших исследований в данном направлении.

Л И Т Е Р А Т У Р А / R E F E R E N C E S

- Smyth E.C., Nilsson M., Grabsch H.I. et al. Gastric cancer. *Lancet* 2020;396(10251):635–48. DOI: 10.1016/s0140-6736(20)31288-5
- Bhatia S., Frangioni J.V., Hoffman R.M. et al. The challenges posed by cancer heterogeneity. *Nat Biotechnol* 2012;30(7):604–10. DOI: 10.1038/nbt.2294
- Pectasides E., Stachler M.D., Derks S. et al. Genomic heterogeneity as a barrier to precision medicine in gastroesophageal adenocarcinoma. *Cancer Discov* 2018;8(1):37–48. DOI: 10.1158/2159-8290.cd-17-0395
- Gullo I., Carneiro F., Oliveira C., Almeida G.M. Heterogeneity in gastric cancer: from pure morphology to molecular classifications. *Pathobiology* 2018;85(1–2):50–63. DOI: 10.1159/000473881
- Marusyk A., Polyak K. Tumor heterogeneity: causes and consequences. *Biochim Biophys Acta* 2010;1805(1):105–17. DOI: 10.1016/j.bbcan.2009.11.002
- De Aretxabala X., Yonemura Y., Sugiyama K. et al. Gastric cancer heterogeneity. *Cancer* 1989;63(4):791–8. DOI: 10.1002/1097-0142(19890215)63:4<791::aid-cncr2820630431>3.0.co;2-w
- Amato M., Perrone G., Righi D. et al. HER2 status in gastric cancer: comparison between primary and distant metastatic disease. *Pathol Oncol Res* 2017;23(1):55–61. DOI: 10.1007/s12253-016-0082-5
- Cho E.Y., Park K., Do I. et al. Heterogeneity of ERBB2 in gastric carcinomas: a study of tissue microarray and matched primary and metastatic carcinomas. *Mod Pathol* 2013;26(5):677–84. DOI: 10.1038/modpathol.2012.205
- Silva A.N., Coffa J., Menon V. et al. Frequent coamplification of receptor tyrosine kinase and downstream signaling genes in Japanese primary gastric cancer and conversion in matched lymph node metastasis. *Ann Surg* 2018;267(1):114–21. DOI: 10.1097/SLA.0000000000002042
- Zhou K.I., Peterson B., Serritella A. et al. Spatial and temporal heterogeneity of PD-L1 expression and tumor mutational burden in gastroesophageal adenocarcinoma at baseline diagnosis and after chemotherapy. *Clin Cancer Res* 2020;26(24):6453–63. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-20-2085.
- Robey R.W., Pluchino K.M., Hall M.D. et al. Revisiting the role of ABC transporters in multidrug-resistant cancer. *Nat Rev Cancer* 2018;18(7): 452–64. DOI: 10.1038/s41568-018-0005-8
- Liu X. ABC family transporters, in drug transporters in drug disposition, effects and toxicity. *Adv Exp Med Biol* 2019;1141(1):13–100. DOI: 10.1007/978-981-13-7647-4_5
- Amawi H., Sim H.-M., Tiwari A.K. et al. ABC family transporters, in drug transporters in drug disposition, effects and toxicity. *Adv Exp Med Biol* 2019;1141(1):549–80. DOI: 10.1007/978-981-13-7647-4_5
- Tsyganov M.M., Freidin M.B., Ibragimova M.K. et al. Genetic variability in the regulation of the expression cluster of *MDR* genes in patients with breast cancer. *Cancer Chem Pharmacol* 2017;80(2):251–60. DOI: 10.1007/s00280-017-3354-1
- Mao X., He Z., Zhou F. et al. Prognostic significance and molecular mechanisms of adenosine triphosphate-binding cassette subfamily C members in gastric cancer. *Medicine (Baltimore)* 2019;98(50):1–12. DOI: 10.1097/MD.00000000000018347
- Araújo T., Seabra A., Lima E. et al. Recurrent amplification of *RTEL1* and *ABCA13* and its synergistic effect associated with clinicopathological data of gastric adenocarcinoma. *Mol Cytogenet* 2016;9(1):1–7. DOI: 10.1186/s13039-016-0260-x
- Tsyganov M., Rodionov E., Miller S. et al. Substantiation of expressive markers use to personalize lung cancer chemotherapy. *Antibiot Khimioter* 2015;60(9–10):38–45.
- Wei K.-K., Jiang L., Wei Y.-Y. et al. The prognostic value of *ERCC1* expression in gastric cancer patients treated with platinum-based chemotherapy: a meta-analysis. *Tumor Biol* 2014;35(9):8721–31. DOI: 10.1007/s13277-014-2128-1
- Chen W., Wang J., Li X. et al. Prognostic significance of *BRCA1* expression in gastric cancer. *Med Oncol* 2013;30(1):1–6. DOI: 10.1007/s12032-012-0423-5
- Huang J., Hu H., Xie Y. et al. Effect of *TUBB3*, *TS* and *ERCC1* mRNA expression on chemoresponse and clinical outcome of advanced gastric cancer by multiplex branched-DNA liquid chip technology. *Zhong Nan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban* 2013;38(6): 582–9. (In Chinese). DOI: 10.3969/j.issn.1672-7347.2013.06.006
- Schwartz G.F., Hortobagyi G.N. Proceedings of the consensus conference on neoadjuvant chemotherapy in carcinoma of the breast, April 26–28, 2003, Philadelphia, Pennsylvania. *Cancer* 2004;10(4):273–94. DOI: 10.1002/cncr.20298
- Pfaffl M.W. A new mathematical model for relative quantification in real-time RT–PCR. *Nucleic Acids Res* 2001;29(9):e45. DOI: 10.1093/nar/29.9.e45
- Sung J.-Y., Shin H.-T., Sohn K.-A. et al. Assessment of intratumoral heterogeneity with mutations and gene expression profiles. *PLoS One* 2019;14(7):1–15. DOI: 10.1371/journal.pone.0219682
- Gyanchandani R., Lin Y., Lin H.-M. et al. Intratumor heterogeneity affects gene expression profile test prognostic risk stratification in early breast cancer. *Clin Cancer Res* 2016;22(21):5362–9. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-15-2889
- Tober J.M., Halske C., Behrens H.-M. et al. Intratumoral heterogeneity and loss of *ARID1A* expression in gastric cancer correlates with increased *PD-L1* expression in Western patients. *Hum Pathol* 2019;94(1):98–109. DOI: 10.1016/j.humpath.2019.09.016
- Durbecq V., Paesmans M., Cardoso F. et al. Topoisomerase- $\text{II}\alpha$ expression as a predictive marker in a population of advanced breast cancer patients randomly treated either with single-agent doxorubicin or single-agent docetaxel. *Mol Cancer Ther* 2004;3(10):1207–14. DOI: 10.1158/1535-7163.1207.3.10
- De Oliveira J., Felipe A.V., Neto R.A. et al. Association between *ABC B1* immunohistochemical expression and overall survival in gastric cancer patients. *Asian Pac J Cancer Prevent* 2014;15(16):6935–8. DOI: 10.7314/apjcp.2014.15.16.6935
- Zhang G., Wang Z., Qian F. et al. Silencing of the *ABCC4* gene by RNA interference reverses multidrug resistance in human gastric cancer. *Oncol Rep* 2015;33(3):1147–54. DOI: 10.3892/or.2014.3702
- Zhu C.-Y., Lv Y.-P., Yan D.-F. et al. Knockdown of *MDR1* increases the sensitivity to adriamycin in drug resistant gastric cancer cells. *Asian Pac J Cancer Prev* 2013;14(11):6757–60. DOI: 10.7314/apjcp.2013.14.11.6757
- Li S.-C., Ma R., Wu J.-Z. et al. Delineation of gastric cancer subtypes by co-regulated expression of receptor tyrosine kinases and chemosensitivity genes. *Am J Transl Res* 2015;7(8):1429–39.
- Cao Y., Zhang G., Wang P. et al. Clinical significance of *UGT1A1* polymorphism and expression of *ERCC1*, *BRCA1*, *TYMS*, *RRM1*, *TUBB3*, *STMN1* and *TOP2A* in gastric cancer. *BMC Gastroenterol* 2017;17(1):1–13. DOI: 10.1186/s12876-016-0561-x
- Terashima M., Ichikawa W., Ochiai A. et al. *TOP2A*, *GGH*, and *PECAM1* are associated with hematogenous, lymph node, and peritoneal recurrence in stage II/III gastric cancer patients enrolled in the ACTS-GC study. *Oncotarget* 2017;8(34):57574–82. DOI: 10.18632/oncotarget.15895
- Tsyganov M.M., Rodionov E.O., Ibragimova M.K. et al. Personalized prescription of chemotherapy based on assessment of mRNA expression of *BRCA1*, *RRM1*, *ERCC1*, *TOP1*, *TOP2 α* , *TUBB3*, *TYMS*, and *GSTP1* genes in tumors compared to standard chemotherapy in the treatment of non-small-cell lung cancer. *J Personal Med* 2022;12(10):1647.

34. Tsyganov M.M., Ibragimova M.K., Gaptulbarova K.A. et al. DNA Copy number aberrations and expression of ABC transporter genes in breast tumour: correlation with the effect of neoadjuvant chemotherapy and prognosis of the disease. *Pharmaceutics* 2022;14(5):1–19. DOI: 10.3390/pharmaceutics14050948
35. Tsyganov M.M., Ibragimova M.K., Garbukov E.Y. et al. Predictive and prognostic significance of mRNA Expression and DNA copies aberrations of *ERCC1*, *RRM1*, *TOP1*, *TOP2A*, *TUBB3*, *TYMS*, and *GSTP1* genes in patients with breast cancer. *Diagnostics* 2022;12(2):1–15. DOI: 10.3390/diagnostics12020405
36. Moiseyenko V.M., Volkov N.M., Suspistin E.N. et al. Evidence for predictive role of BRCA1 and bTUBIII in gastric cancer. *Med Oncol* 2013;30(2):1–9. DOI: 10.1007/s12032-013-0545-4

Вклад авторов

М.М. Цыганов, И.А. Цыденова: разработка концепции и дизайна исследования, написание текста статьи;
М.К. Ибрагимова, В.А. Маркович, Е.О. Родионов: сбор и обработка материала;
С.А. Тузиков, Н.В. Литвяков: редактирование.

Authors' contribution.

M.M. Tsyganov, I.A. Tsydenova: development of the concept and design of the study, article writing;
V.A. Markovich, M.K. Ibragimova, E.O. Rodionov: collection and processing of material;
S.A. Tuzikov, N.V. Litvyakov: editing.

ORCID авторов / ORCID of authors

М.М. Цыганов / M.M. Tsyganov: <https://orcid.org/0000-0001-7419-4512>
И.А. Цыденова / I.A. Tsydenova: <https://orcid.org/0000-0002-2716-3075>
В.А. Маркович / V.A. Markovich: <https://orcid.org/0000-0002-7599-1211>
М.К. Ибрагимова / M.K. Ibragimova: <https://orcid.org/0000-0001-8815-2786>
Е.О. Родионов / E.O. Rodionov: <https://orcid.org/0000-0003-4980-8986>
С.А. Тузиков / S.A. Tuzikov: <https://orcid.org/0000-0002-0884-1838>
Н.В. Литвяков / N.V. Litvyakov: <https://orcid.org/0000-0002-0714-8927>

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

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

Финансирование. Исследование проведено без спонсорской поддержки.

Funding. The study was performed without external funding.

Соблюдение прав пациентов и правил биоэтики

Протокол исследования одобрен локальным комитетом Научно-исследовательского института онкологии ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук» (протоколы № 1 от 15.05.2014 и № 2 от 10.04.2018).

Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании.

Compliance with patient rights and principles of bioethics

The study protocol was approved by the biomedical ethics committee of Scientific Research Institute of Oncology of the Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences (protocols No. 1 of 15.05.2014 and No. 2 of 10.04.2018).

All patients gave written informed consent to participate in the study.

Статья поступила: 29.09.2022. Принята к публикации: 25.10.2022.

Article submitted: 29.09.2022. Accepted for publication: 25.10.2022.