

# Сходство и различие процессов метастазирования и дифференцировки рака почки по экспрессии генов

Н.В. Апанович<sup>1</sup>, А.В. Матвеев<sup>2</sup>, П.В. Апанович<sup>1</sup>, А.А. Коротаева<sup>1</sup>, Ф.М. Кипкеева<sup>1</sup>, Т.А. Музаффарова<sup>1</sup>, О.А. Халмурзаев<sup>2</sup>, В.Б. Матвеев<sup>2</sup>, А.В. Карпухин<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ «Медико-генетический научный центр им. акад. Н.П. Бочкова»; Россия, 115522 Москва, ул. Москворечье, 1;

<sup>2</sup>ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России; Россия, 115478 Москва, Каширское шоссе, 24

**Контакты:** Александр Васильевич Карпухин [karpukhin@med-gen.ru](mailto:karpukhin@med-gen.ru)

**Введение.** Метастазирование и степень дифференцировки относятся к основным клиническим характеристикам злокачественных опухолей. Оба рассматриваемых признака нуждаются в углубленном исследовании, способном приводить к пониманию механизмов возникновения того или иного состояния раковых клеток.

**Цель исследования** – изучение процессов метастазирования и дифференцировки светлоклеточного почечно-клеточного рака (скПКР) по экспрессии генов.

**Материалы и методы.** Изучены уровни экспрессии 10 генов в 65 парных образцах (опухольная ткань скПКР и нормальная ткань той же почки) методом полимеразной цепной реакции в реальном времени.

**Результаты.** Показано, что экспрессия генов *CA9*, *NDUFA4L2*, *VWF*, *IGFBP3*, *BHLHE41*, *ANGPTL4* и *EGLN3* ассоциирована как со степенью дифференцировки скПКР, так и с метастазированием этой опухоли. Экспрессия *C1QA* связана только с метастазированием, но не участвует в процессах дифференцировки клеток опухоли. Неоднозначная ситуация с генами *FN1* и *CSF1R*, экспрессия которых незначительна для процессов метастазирования скПКР, но может иметь некоторое значение для дифференцировки клеток этой опухоли. Низкодифференцированные опухоли имеют примерно в 5 раз повышенную частоту метастазирования в течение года по отношению к высокодифференцированным опухолям (отношение шансов 4,94). Выявлена низкая корреляция экспрессии генов в опухолях с низкой степенью дифференцировки, в противовес их высокой коэкспрессии при прогрессии опухоли по TNM-классификации.

**Заключение.** Значительная часть существенных для развития скПКР генов связана как с метастазированием, так и со степенью дифференцировки опухоли, что обусловлено сходством функциональных изменений, стимулирующих оба этих процесса. В низкодифференцированных опухолях выявлена дезорганизация экспрессии генов, выражающаяся в слабой ее корреляции.

**Ключевые слова:** светлоклеточный почечно-клеточный рак, метастазирование, степень дифференцировки, экспрессия генов

**Для цитирования:** Апанович Н.В., Матвеев А.В., Апанович П.В. и др. Сходство и различие процессов метастазирования и дифференцировки рака почки по экспрессии генов. Онкоурология 2021;17(4):19–26. DOI: 10.17650/1726-9776-2021-17-4-19-26.

## Similarities and differences in the process of metastasis and differentiation of renal cancer on gene expression

N.V. Apanovich<sup>1</sup>, A.V. Matveev<sup>2</sup>, P.V. Apanovich<sup>1</sup>, A.A. Korotaeva<sup>1</sup>, F.M. Kipkeeva<sup>1</sup>, T.A. Muzaffarova<sup>1</sup>, O.A. Khalmurzaev<sup>2</sup>, V.B. Matveev<sup>2</sup>, A.V. Karpukhin<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Research Centre for Medical Genetics; 1 Moskvorechye St., Moscow 115522, Russia;

<sup>2</sup>N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia; 24 Kashirskoe Shosse, Moscow 115478, Russia

**Contacts:** Aleksandr Vasilyevich Karpukhin [karpukhin@med-gen.ru](mailto:karpukhin@med-gen.ru)

**Background.** Metastasing and degree of differentiation refer to the main clinical characteristics of malignant tumors. Both listed features need an in-depth study that can lead to an understanding of the mechanisms for the occurrence of certain state of cancer cells.

**Objective.** Studying the processes of metastasis and differentiation of the clear cell renal cell carcinoma (ccRCC) on gene expression.

**Materials and methods.** The levels of expression of ten genes in 65 paired samples were studied (ccRCC tumor tissue and the normal kidney tissue) by the real-time polymerase chain reaction.

**Results.** It is shown that the expression of *CA9*, *NDUFA4L2*, *VWF*, *IGFBP3*, *BHLHE41*, *ANGPTL4* and *EGLN3* genes is associated both with the degree of differentiation of the ccRCC and with the metastasis of this tumor. *C1QA* expression is connected only with metastasis, but does not participate in the process of differentiation of tumor cells. An ambiguous situation with *FN1* and *CSF1R* gene expression is not essential for ccRCC metastasis processes, but may have a certain value for differentiation of cells of this tumor. Low-differentiated tumors have about five times an increased metastasis frequency during the year relative to highly differentiated tumors (odds ratio 4.94). A low correlation of gene expression in tumors with a low degree of differentiation is revealed, as opposed to their high co-expression during tumor progression by TNM classifications.

**Conclusion.** A significant part of genes substantial for the development of ccRCC is associated with both metastasis and the degree of differentiation of the ccRCC, which is due to the similarity of functional changes that stimulate both of these processes. For low-differentiated tumors the number of genes with correlated expression is less than in high-differentiated tumors. This may be due to disorganization of gene expression.

**Key words:** clear cell renal cell carcinoma, metastasis, degree of differentiation, gene expression

**For citation:** Apanovich N.V., Matveev A.V., Apanovich P.V. et al. Similarities and differences in the process of metastasis and differentiation of renal cancer on gene expression. *Onkourologiya = Cancer Urology* 2021;17(4):19–26. (In Russ.). DOI: 10.17650/1726-9776-2021-17-4-19-26.

## Введение

Метастазирование и степень дифференцировки относятся к основным клиническим характеристикам злокачественных опухолей, включая светлоклеточный почечно-клеточный рак (скПКР). Метастазирование является основной причиной смертности при скПКР. Степень дифференцировки клеток опухоли рассматривается как показатель ее злокачественности. В последнее время исследование дифференцировки раковых клеток приобретает особое значение в связи с зарождением дифференцировочной терапии (differentiation therapy). Ее суть состоит в воздействии на клетки опухоли, стимулирующем их дифференцировку. При успешности такого воздействия раковые клетки (стволовые, недифференцированные и дедифференцированные) теряют свою злокачественность и становятся чувствительными к химио- и другим типам терапии [1–3].

Следовательно, оба рассматриваемых признака — метастазирование и степень дифференцировки — нуждаются в углубленном исследовании, способном приводить к пониманию механизмов возникновения того или иного состояния раковых клеток и на этой основе к разработке новых генов-мишеней терапии, а также биомаркеров. Несмотря на то что метастазирование и дифференцировка опухолей активно изучаются [4–6], их взаимоотношение и гены, функционирование которых существенно для обоих состояний, пока мало известны.

**Цель исследования** — изучение процессов метастазирования и дифференцировки скПКР по экспрессии генов.

Для получения новой информации по этим вопросам нами изучена экспрессия генов, отобранных на основании ранее полученных данных, как имеющих

существенное значение для развития скПКР. Определены уровни экспрессии генов *CA9*, *NDUFA4L2*, *VWF*, *IGFBP3*, *BHLHE41*, *EGLN3*, *ANGPTL4*, *CSF1R*, *C1QA* и *FN1*, а также взаимосвязи их функционирования по корреляции экспрессии.

## Материалы и методы

Образцы были получены в НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина. Все пациенты дали добровольное информированное согласие на включение в исследование. Исследование проводилось в соответствии с Хельсинкской декларацией. Протокол исследования был утвержден комитетом по этике Медико-генетического научного центра им. акад. Н.П. Бочкова (№ 2017-4/2). Все образцы были гистологически исследованы в отделении патологической анатомии опухолей человека НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина и клинически охарактеризованы. Изучены 65 парных образцов (опухолевая ткань скПКР и морфологически нормальная ткань той же почки), которые были подразделены на 2 группы: Low Grade (43 образца) и High Grade (22 образца).

Исследовали экспрессию генов *CA9*, *NDUFA4L2*, *VWF*, *IGFBP3*, *BHLHE41*, *EGLN3*, *ANGPTL4*, *CSF1R*, *C1QA* и *FN1* с помощью полимеразной цепной реакции в реальном времени (ПЦР-РВ). Выбор генов описан в работах [4, 7]. С помощью биоинформационного анализа выделены 200 генов с повышенной экспрессией в опухолях скПКР, экспрессия которых затем была изучена экспериментально. В результате для более детального изучения были выбраны 20 генов. Из их числа 10 оказались наиболее информативны для настоящего исследования [4].

Для выделения матричной РНК (мРНК) использовали наборы RNeasy Mini Kit (QIAGEN, США).

Наличие и интенсивность полос 28S/18S мРНК определяли электрофорезом в 1,8 % агарозном геле. Использовали систему гель-документирования Gel Doc XR+ (Bio-Rad, США). Концентрацию раствора мРНК и ее чистоту определяли на спектрофотометре NanoDrop 1000 (Thermo Fisher Scientific, США). Реакцию обратной транскрипции проводили набором ImProm-II™ Reverse Transcription System (США). Для ПЦР-РВ применили наборы TaqMan® Gene Expression Assays (Thermo Fisher Scientific, США). ПЦР-РВ проводили в 3 повторах для каждого гена с отрицательным контролем. В качестве эндогенного контроля использовали ген *GAPDH* [8].

Статистический анализ данных проводили с помощью программного обеспечения Statistica 10.0. Онлайн-калькулятор MedCalc ([https://www.medcalc.org/calc/diagnostic\\_test.php](https://www.medcalc.org/calc/diagnostic_test.php)) использовали для расчета чувствительности и специфичности, а также для ROC-анализа. Уровень значимости принимали равным <0,05.

### Результаты и обсуждение

С помощью ПЦР-РВ была исследована экспрессия 10 генов, основная часть которых ассоциирована с прогрессированием и метастазированием скПКР: *CA9*, *NDUFA4L2*, *VWF*, *IGFBP3*, *BHLHE41*, *EGLN3*, *ANGPTL4*, *CSFIR*, *CIQA* и *FNI*. С учетом полученных значений была оценена связь экспрессии указанных генов со степенью дифференцировки клеток скПКР. Использовали 2 степени дифференцировки – Low Grade (высокодифференцированные, низкая степень злокачественности) и High Grade (низкодифференцированные, высокая степень злокачественности). При применении ROC-анализа ассоциацию со степенью дифференцировки продемонстрировало большинство генов, за исключением *CSFIR*, *CIQA* и *FNI* (табл. 1).

Полученные при ROC-анализе пороговые значения экспрессии (которые оптимально разделяют соответствующие распределения) позволили оценить ассоциацию экспрессии генов и степени дифференцировки с помощью точного критерия Фишера. По этому критерию значимую ассоциацию, в том числе при учете поправки FDR (false discovery rate, ожидаемая доля ложных отклонений), показали почти все гены, за исключением *CIQA*.

Дедифференцировка клеток скПКР сопровождается статистически значимым снижением экспрессии генов *CA9*, *NDUFA4L2*, *VWF*, *IGFBP3*, *BHLHE41*, *EGLN3*, *ANGPTL4*, ассоциированных с этим процессом. Снижение экспрессии *FNI* находится на грани статистической значимости, а экспрессия *CSFIR* хоть и снижается на треть по значению медианы, однако незначимо (табл. 2).

Ранее нами было показано снижение экспрессии генов *CA9*, *NDUFA4L2*, *VWF*, *IGFBP3*, *BHLHE41*, *EGLN3* и *CIQA* при метастазировании скПКР [4]. Экспрессия гена *ANGPTL4* не была проанализирована нами ранее на связь с метастазированием, но показана ее ассоциация с выживаемостью больных скПКР [7]. В настоящей работе была изучена и ее связь с метастазированием скПКР (табл. 3).

По всем использованным статистическим критериям, метастазирование скПКР связано с экспрессией *ANGPTL4*: при метастазировании опухоли происходит снижение экспрессии этого гена.

Следовательно, экспрессия генов *CA9*, *NDUFA4L2*, *VWF*, *IGFBP3*, *BHLHE41*, *ANGPTL4* и *EGLN3* ассоциирована как со степенью дифференцировки скПКР, так и с метастазированием этой опухоли. Экспрессия *CIQA* связана только с метастазированием, но не участвует в процессах дифференцировки клеток опухоли. Неоднозначная ситуация с генами *FNI* и *CSFIR*,

Таблица 1. Характеристики связи экспрессии исследуемых генов со степенью дифференцировки клеток светлоклеточного почечно-клеточного рака  
Table 1. Relationships between the studied genes and cell differentiation grade of clear cell renal cell carcinoma

Ген Gene	ROC-анализ, <i>p</i> Area under the ROC-curve, <i>p</i>	Пороговое значение экспрессии Cut-off values	Чувствительность/специфичность Sensitivity/specificity	Частота выше/ниже порого- вого значения при высокой и низкой степени дифферен- цировки Frequency above/below the cut-off value with high and low degree of differentiation	Точный критерий Фишера, <i>p</i> Fisher's exact test, <i>p</i>
<i>CA9</i>	0,0021*	≤9,2	81,82/58,14	18/25 18/4	0,0033*
<i>NDUFA4L2</i>	0,0078*	≤2,8	72,73/65,12	15/28 16/6	0,0079*
<i>EGLN3</i>	0,0001*	≤2,5	77,27/62,79	16/27 17/5	0,0036*
<i>BHLHE41</i>	0,006*	≤1,7	72,73/62,79	16/27 16/6	0,0090*
<i>CIQA</i>	0,5059	≤0,5	38,1/85	6/34 8/13	0,0571

Ген Gene	ROC-анализ, <i>p</i> Area under the ROC-curve, <i>p</i>	Пороговое значение экспрессии Cut-off values	Чувствительность/специфичность Sensitivity/specificity	Частота выше/ниже порого- вого значения при высокой и низкой степени дифферен- цировки Frequency above/below the cut-off value with high and low degree of differentiation	Точный критерий Фишера, <i>p</i> Fisher's exact test, <i>p</i>
CSF1R	0,2164	≤0,4	42,86/85,71	6/36 9/12	0,0253*
FN1	0,042	≤0,6	47,62/83,33	7/35 10/11	0,0152*
VWF	0,0006*	≤3,3	90,91/41,86	25/18 20/2	0,0096*
IGFBP3	<0,0001*	≤1,7	81,82/58,14	18/25 18/4	0,0033*
ANGPTL4	0,0098*	≤3,4	77,27/58,54	17/24 17/5	0,0084*

\*Значимые с поправкой FDR (ожидаемая доля ложных отклонений).  
\*Significant with the FDR (false discovery rate) correction.

Таблица 2. Значения медиан уровней экспрессии при разных степенях дифференцировки светлоклеточного почечно-клеточного рака и значимость их различий

Table 2. Median expression levels under various differentiation grades of clear cell renal cell carcinoma and the significance of their differences

Ген Gene	Медиана уровня экспрессии Median expression level		U-критерий, <i>p</i>
	Low Grade	High Grade	
CA9	15,1	2,15	0,008
NDUFA4L2	16,5	1,3	0,015
EGLN3	3,8	1	0,001
BHLHE41	2,2	1,2	0,014
CIQA	1,55	1,4	0,461
CSF1R	0,95	0,7	0,179
FN1	1,45	0,8	0,051
VWF	2	0,65	0,003
IGFBP3	2	1	0,0006
ANGPTL4	7,1	1,3	0,016

Таблица 3. Характеристики связи экспрессии гена ANGPTL4 с метастазированием светлоклеточного почечно-клеточного рака (скПКР)

Table 3. Relationships between ANGPTL4 gene expression and clear cell renal cell carcinoma (ccRCC) metastasis

Ген Gene	Медиана экспрессии гена в опухоли не метастазирующего скПКР Median gene expression in non-metastatic ccRCC tumor	Медиана экспрессии гена в опухоли метастазирующего скПКР Median gene expression in metastatic ccRCC tumor	ROC-анализ, <i>p</i> Area under the ROC-curve, <i>p</i>	Log-rank, <i>p</i>	Точный критерий Фишера, <i>p</i> Fisher's exact test, <i>p</i>
ANGPTL4	12,00	1,15	<0,0001	0,00018	<0,0001

экспрессия которых не существенна для процессов метастазирования скПКР [4], но может иметь определенное значение для дифференцировки клеток данной опухоли. Это следует из наличия ассоциации рассматриваемых характеристик, выявленной с помощью точного критерия Фишера. Отсутствие или пограничные значения аналогичной связи по ROC-анализу указывают на как минимум низкое значение этих генов в качестве маркеров для подразделения опухолей разной степени злокачественности по уровню их экспрессии.

Таким образом, дедифференцировка и метастазирование скПКР характеризуются в значительной мере одними и теми же генами со сходными характеристиками экспрессии. Это может указывать на взаимосвязь рассматриваемых процессов. Поэтому мы оценили наличие их ассоциации (табл. 4).

Из данных табл. 4 следует высокозначимая ассоциация степени дифференцировки и синхронного метастазирования скПКР. Низкодифференцированные опухоли имеют примерно в 5 раз повышенную вероятность

метастазирования в течение года по отношению к высокодифференцированным опухолям (отношение шансов 4,94). В то же время метасинхронное метастазирование не связано со степенью дифференцировки скПКР. Интересно, что отсутствие метастазов менее вероятно в плохо дифференцированных опухолях (отношение шансов 0,29), хотя этот результат не является статистически значимым ( $p = 0,085$ ).

На специфичность рассматриваемой ассоциации указывает отсутствие связи степени дифференцировки со стадиями опухоли по TNM-классификации ( $p = 0,128$ ).

Помимо различий в генах, изменяющих экспрессию при дифференцировке опухоли или при ее метастазировании, может быть различной и коэкспрессия генов, что отражает изменения в экспрессионной картине и относится к взаимодействию генов. В связи с этим были изучены особенности корреляций экспрессии при разных степенях дифференцировки опухоли, при наличии или отсутствии метастазирования (табл. 5).

Таблица 4. Ассоциация метастазирования и степени дифференцировки

Table 4. Correlation between metastasis and cell differentiation grades

Степень дифференцировки Differentiation grade	Общее число образцов Total number of samples	Образцы с синхронными метастазами Samples with simultaneous metastases		Образцы с метасинхронными метастазами Samples with metachronous metastases		Образцы без метастазирования Samples without metastases	
		%	Ассоциация с Grade, $p$ Association with Grade, $p$	%	Ассоциация с Grade, $p$ Association with Grade, $p$	%	Ассоциация с Grade, $p$ Association with Grade, $p$
Low Grade	43	30,2	0,007	20,9	0,74	34,9	0,085
High Grade	22	68,2		13,6		13,6	

Таблица 5. Корреляции экспрессии генов при разной степени дифференцировки светлоклеточного почечно-клеточного рака и при наличии/отсутствии метастазирования

Table 5. Correlations of gene expression under various clear cell renal cell carcinoma differentiation grades with and without metastasis

Гены Genes	Высокая степень дифференцировки High Grade				Низкая степень дифференцировки Low Grade			
	без метастазирования without metastasis		с синхронными метастазами with simultaneous metastases		без метастазирования without metastasis		с синхронными метастазами with simultaneous metastases	
	Коэффициент корреляции Correlation coefficient	$p$	Коэффициент корреляции Correlation coefficient	$p$	Коэффициент корреляции Correlation coefficient	$p$	Коэффициент корреляции Correlation coefficient	$p$
CA9/IGFBP3	-0,472	0,048	0,558	0,017	—	—	—	—
CA9/ANGPTL4	-0,550	0,018	—	—	—	—	—	—
ANGPTL4/EGLN3	-0,566	0,014	—	—	—	—	—	—
NDUFA4L2/FN1	-0,562	0,015	0,602	0,008	—	—	—	—

Гены Genes	Высокая степень дифференцировки High Grade				Низкая степень дифференцировки Low Grade			
	без метастазирования without metastasis		с синхронными метастазами with simultaneous metastases		без метастазирования without metastasis		с синхронными метастазами with simultaneous metastases	
	Коэффициент корреляции Correlation coefficient	<i>p</i>	Коэффициент корреляции Correlation coefficient	<i>p</i>	Коэффициент корреляции Correlation coefficient	<i>p</i>	Коэффициент корреляции Correlation coefficient	<i>p</i>
<i>ANGPTL4/FN1</i>	-0,618	0,006	–	–	–	–	–	–
<i>ANGPTL4/NDUFA4L2</i>	–	–	0,482	0,043	–	–	–	–
<i>NDUFA4L2/VWF</i>	–	–	0,473	0,048	–	–	–	–
<i>EGLN3/VWF</i>	–	–	0,531	0,023	0,499	0,034	–	–
<i>EGLN3/IGFBP3</i>	–	–	0,505	0,033	–	–	–	–
<i>EGLN3/BHLHE41</i>	–	–	–	–	0,475	0,045	–	–
<i>EGLN3/CSF1R</i>	–	–	–	–	-0,507	0,037	–	–
<i>VWF/CIQA</i>	–	–	–	–	–	–	0,435	0,023
<i>ANGPTL4/BHLHE41</i>	–	–	–	–	–	–	0,388	0,04

В результатах, приведенных в табл. 5, прежде всего обращает внимание различное число генов с коррелирующей экспрессией при разной степени дифференцировки опухоли – большее число в дифференцированных опухолях по отношению к низкодифференцированным. Это наблюдается как в метастазирующих, так и в неметастазирующих опухолях, т.е. гены, принимающие участие в прогрессировании и метастазировании скПКР [4, 7], имеют большую координацию экспрессии в дифференцированных опухолях скПКР по сравнению с низкодифференцированными. Кроме этого, следует отметить различие в характеристиках коэкспрессии в метастазирующих и неметастазирующих опухолях при одной и той же степени дифференцировки.

Таким образом, значительная часть исследованных генов изменяет экспрессию сходным образом при метастазировании и дедифференцировке скПКР. Это может свидетельствовать о сходстве функциональных процессов, приводящих к указанным результатам. На связь метастазирования и дедифференцировки скПКР прямо указывает также обнаруженная нами их ассоциация. Найденная взаимосвязь может быть обусловлена сходством ряда ключевых процессов при развитии раковой опухоли, протекающих с участием изученных в данной работе генов и характерных как для метастазирования, так и для дифференцировки/дедифференцировки клеток

опухоли. Экспрессия генов *NDUFA4L2*, *EGLN3*, *ANGPTL4*, *CA9* и *IGFBP3* связана с энергетическим метаболизмом – обеспечением определенных соотношений митохондриального метаболизма и гликолиза; *BHLHE41* участвует в активации эпителиально-мезенхимального перехода (EMT), и все указанные гены регулируются HIF1 (индуцированный гипоксией фактор 1), обеспечивающим адаптацию опухоли к гипоксии [4, 7]. Наряду с геном *VWF*, влияющим на ангиогенез, их экспрессия обеспечивает важнейшие процессы, приводящие к дедифференцировке клеток опухоли, – ответ на гипоксию, активацию эпителиально-мезенхимального перехода и регуляцию соотношения гликолиза и окислительного фосфорилирования [5, 6, 9, 10].

Участие рассматриваемых генов в 2 процессах – метастазировании и контроле степени дифференцировки – связано с их существенной ролью в развитии рака, которое носит комплексный характер [7]. В то же время ген *CIQA*, связанный с метастазированием [4], не принимает участия в контроле дифференцировки, как следует из полученных в настоящей работе результатов. Наряду с этим экспрессия генов *FN1* и *CSF1R* незначительна для процессов метастазирования скПКР [4], но может быть ассоциирована с дифференцировкой, однако это требует дополнительного исследования.

Интересным представляется обнаруженная низкая корреляция экспрессии исследуемых генов, особенно при низкой степени дифференцировки. Это контрастирует с высокой корреляцией этих же генов при прогрессировании скПКР по стадиям TNM-классификации [4]. В связи с этим показанное нами отсутствие ассоциации степени дифференцировки с прогрессией опухоли по TNM-классификации указывает на различие процессов развития опухоли и ее дедифференцировки. С другой стороны, низкая коэкспрессия генов при низкой степени дифференцировки скПКР соответствует представлениям о дезорганизации экспрессии генов в дедифференцированных злокачественных клетках [11]. Как отмечает автор цитированной статьи, реалистичная дифференцировочная терапия должна быть направлена на устранение дезорганизации экспрессии связанных с дифференцировкой генов [11].

Дифференцировочная терапия направлена на стимуляцию дифференцировки раковых стволовых клеток либо на дедифференцированные злокачественные клетки опухоли, которые имеют многие свойства раковых стволовых клеток [12]. С этой целью применяются различные воздействия [1–3].

Как уже отмечалось ранее, характеристики дифференцировки тесно связаны с метаболическими

особенностями опухоли, в которых задействованы и изученные нами гены. Воздействие на связанные с ними пути также рассматривается в качестве стратегии дифференцировочной терапии [13, 14]. Поскольку в стимуляции и метастазирования, и дедифференцировки одна из ключевых ролей отводится EMT, в котором также принимают участие изученные нами гены, то способом снижения злокачественности и метастазирования может служить реализация обратного процесса — мезенхимально-эпителиального перехода [6, 15].

### Заключение

Показана связь метастазирования и степени дифференцировки опухолей скПКР с экспрессией генов. Экспрессия значительной части генов, существенных для развития опухоли, связана как с метастазированием, так и со степенью дифференцировки, что объясняется сходством функциональных изменений, стимулирующих оба процесса. Выявлена низкая корреляция экспрессии генов в опухолях с низкой степенью дифференцировки, в противовес их высокой коэкспрессии при прогрессии опухоли по TNM-классификации. Это указывает на дезорганизацию экспрессии генов при дедифференцировке.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Zhang X., Hu B., Sun Y.F. et al. Arsenic trioxide induces differentiation of cancer stem cells in hepatocellular carcinoma through inhibition of LIF/JAK1/STAT3 and NF- $\kappa$ B signaling pathways synergistically. *Clin Transl Med* 2021;11(2):e335. DOI: 10.1002/ctm2.335.
- Zhao Z., Gao J., Li C. et al. Reactive oxygen species induce endothelial differentiation of liver cancer stem-like sphere cells through the activation of Akt/IKK signaling pathway. *Oxid Med Cell Longev* 2020;2020:1621687. DOI: 10.1155/2020/1621687.
- Gonzalez-Guerrico A.M., Espinoza I., Schroeder B. et al. Suppression of endogenous lipogenesis induces reversion of the malignant phenotype and normalized differentiation in breast cancer. *Oncotarget* 2016;7(44):71151–68. DOI: 10.18632/oncotarget.9463.
- Apanovich N., Peters M., Apanovich P. et al. The genes-candidates for prognostic markers of metastasis by expression level in clear cell renal cell cancer. *Diagnostics* 2020;10(1):30. DOI: 10.3390/diagnostics10010030.
- Jögi A., Vaapil M., Johansson M., Pählman S. Cancer cell differentiation heterogeneity and aggressive behavior in solid tumors. *Ups J Med Sci* 2012;117(2):217–24. DOI: 10.3109/03009734.2012.659294.
- Zheng X., Dai F., Feng L. et al. Communication between epithelial-mesenchymal plasticity and cancer stem cells: new insights into cancer progression. *Front Oncol* 2021;11:617597. DOI: 10.3389/fonc.2021.617597.
- Apanovich N., Apanovich P., Mansorunov D. et al. The choice of candidates in survival markers based on coordinated gene expression in renal cancer. *Front Oncol* 2021;11:615787. DOI: 10.3389/fonc.2021.615787.
- Moein S., Javanmard S.H., Abedi M. et al. Identification of appropriate housekeeping genes for gene expression analysis in long-term hypoxia-treated kidney cells. *Adv Biomed Res* 2017;6:15. DOI: 10.4103/2277-9175.200790.
- Rodrigues A.S., Pereira S.L., Ramalho-Santos J. Stem metabolism: Insights from oncometabolism and vice versa. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis* 2020;1866(7):165760. DOI: 10.1016/j.bbadis.2020.165760.
- Mimeault M., Batra S.K. Hypoxia-inducing factors as master regulators of stemness properties and altered metabolism of cancer- and metastasis-initiating cells. *J Cell Mol Med* 2013;17(1):30–54. DOI: 10.1111/jcmm.12004.
- Capp J.P. Cancer stem cells: from historical roots to a new perspective. *J Oncol* 2019;2019:5189232. DOI: 10.1155/2019/5189232.
- Jin X., Jin X., Kim H. Cancer stem cells and differentiation therapy. *Tumor Biol* 2017;39(10):1010428317729933. DOI: 10.1177/1010428317729933.
- Riester M., Xu Q., Moreira A. et al. The Warburg effect: persistence of stem-cell metabolism in cancers as a failure of differentiation. *Ann Oncol* 2018;29(1):264–70. DOI: 10.1093/annonc/mdx645.
- Khan T., Cabral H. Abnormal glycosylation of cancer stem cells and targeting strategies. *Front Oncol* 2021;11:649338. DOI: 10.3389/fonc.2021.649338.
- Tanabe S., Quader S., Cabral H., Ono R. Interplay of EMT and CSC in cancer and the potential therapeutic strategies. *Front Pharmacol* 2020;11:904. DOI: 10.3389/fphar.2020.00904.

#### Вклад авторов

Н.В. Апанович: получение данных, анализ результатов, написание статьи;  
А.В. Матвеев: сбор и анализ клинических образцов;  
П.В. Апанович: статистический анализ полученных данных;  
А.А. Коротаева, Ф.М. Кипкеева, Т.А. Музаффарова: обзор публикаций по теме статьи;  
О.А. Халмурзаев: клинические характеристики образцов;  
В.Б. Матвеев: обзор публикаций по теме статьи, анализ данных;  
А.В. Карпухин: написание статьи, разработка дизайна исследования, анализ результатов, научное редактирование текста рукописи.

#### Authors' contributions

N.V. Apanovich: obtaining data, analysis of results, article writing;  
A.V. Matveev: collection and analysis of clinical samples;  
P.V. Apanovich: statistical analysis of the obtained data;  
A.A. Korotaeva, F.M. Kipkeeva, T.A. Muzaffarova: reviewing of publications of the article's theme;  
O.A. Khalmurzaev: clinical characteristics of samples;  
V.B. Matveev: reviewing of publications of the article's theme, data analysis;  
A.V. Karpukhin: article writing, developing the research design, analysis of results, scientific editing of the article.

#### ORCID авторов / ORCID of authors

Н.В. Апанович / N.V. Apanovich: <https://orcid.org/0000-0002-9221-115X>  
П.В. Апанович / P.V. Apanovich: <https://orcid.org/0000-0001-6576-5512>  
Ф.М. Кипкеева / F.M. Kipkeeva: <https://orcid.org/0000-0003-4778-9726>  
Т.А. Музаффарова / T.A. Muzaffarova: <https://orcid.org/0000-0002-2345-2056>  
В.Б. Матвеев / V.B. Matveev: <https://orcid.org/0000-0001-7748-9527>  
А.В. Карпухин / A.V. Karpukhin: <https://orcid.org/0000-0002-7001-9116>

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.  
**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

**Финансирование.** Исследование проведено в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации на 2021 г.

**Financing.** The study was conducted under the state assignment of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation for 2021.

#### Соблюдение прав пациентов и правил биоэтики

Протокол исследования одобрен комитетом по биомедицинской этике ФГБНУ «Медико-генетический научный центр им. акад. Н.П. Бочкова». Протокол № 2017-4/2.

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 Research Centre for Medical Genetics. Protocol No. 2017-4/2.

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

**Статья поступила:** 19.10.2021. **Принята к публикации:** 11.12.2021.

**Article submitted:** 19.10.2021. **Accepted for publication:** 11.12.2021.