

## Анализ возможности применения результатов секвенирования транскриптома при выборе лекарственной терапии пациентов с колоректальным раком

Апалько С. В.<sup>1,2</sup>, Шиманский В. С.<sup>1,2</sup>, Кель А.<sup>3</sup>, Сушенцева Н. Н.<sup>1,2</sup>, Тюкавина Н. В.<sup>1</sup>, Коваленко С. А.<sup>1</sup>, Щербак С. Г.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>СПбГБУЗ "Городская больница № 40 Курортного района". Санкт-Петербург, Россия; <sup>2</sup>ФГБОУ ВО "Санкт-Петербургский государственный университет". Санкт-Петербург, Россия; <sup>3</sup>geneXplain GmbH Н. Вольфенбюттель, Германия

**Цель.** Исследование применимости данных РНК (рибонуклеиновая кислота)-секвенирования с последующим выявлением мастер-регуляторов для предсказания эффективности таргетной терапии у пациентов с колоректальным раком.

**Материал и методы.** Были использованы образцы тканей трех пациентов с колоректальным раком, полученные из послеоперационного материала. Все пациенты получали паллиативную противопухольную лекарственную терапию в стандартных режимах в соответствии с локализацией опухоли и статусом мутаций в генах *RAS* и *BRAF*. Было проведено секвенирование транскриптома опухолевой и здоровой ткани каждого пациента и проведен поиск мастер-регуляторов в опухолевой ткани.

**Результаты.** В результате исследования для каждого пациента был найден список мастер-регуляторов и спрогнозированы возможные терапевтические агенты, наиболее подходящие для подавления опухолевого процесса.

**Заключение.** Показана возможность применения компьютерного анализа молекулярного профиля аденокарциномы кишечника для предсказания эффективности терапии, однако для определения клинического потенциала данной методики требуется проведение исследования на расширенной выборке.

**Ключевые слова:** РНК-секвенирование, колоректальный рак, транскриптом, мастер-регуляторы, таргетная терапия.

**Отношения и деятельность:** нет.

**Поступила** 01/09-2024

**Рецензия получена** 05/09-2024

**Принята к публикации** 16/09-2024



**Для цитирования:** Апалько С. В., Шиманский В. С., Кель А., Сушенцева Н. Н., Тюкавина Н. В., Коваленко С. А., Щербак С. Г. Анализ возможности применения результатов секвенирования транскриптома при выборе лекарственной терапии пациентов с колоректальным раком. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2024;23(11):4174. doi: 10.15829/1728-8800-2024-4174. EDN YWSGPM

### Potential of using transcriptome sequencing data in choosing therapy for patients with colorectal cancer

Apalko S. V.<sup>1,2</sup>, Shimansky V. S.<sup>1,2</sup>, Kel A.<sup>3</sup>, Sushentseva N. N.<sup>1,2</sup>, Tyukavina N. V.<sup>1</sup>, Kovalenko S. A.<sup>1</sup>, Shcherbak S. G.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Kurortny District City Hospital № 40. Saint Petersburg, Russia; <sup>2</sup>Saint Petersburg State University. Saint Petersburg, Russia; <sup>3</sup>geneXplain GmbH. Wolfenbüttel, Germany

**Aim.** To study the applicability of RNA (ribonucleic acid) sequencing with master regulator identification for predicting the effectiveness of targeted therapy in patients with colorectal cancer.

**Materials and methods.** Tissue samples from three patients with colorectal cancer obtained from postoperative material were used. All patients received palliative antitumor therapy in standard regimens in accordance with the tumor location and the status of *RAS* and *BRAF* gene mutations. The transcriptome of tumor and healthy tissue of each patient was sequenced, and master regulators in the tumor tissue were analyzed.

**Results.** A list of master regulators was found for each patient and possible therapeutic agents most suitable for suppressing the tumor process were predicted.

**Conclusion.** The potential of computer analysis of the molecular profile of colorectal adenocarcinoma in predicting the effectiveness of therapy is shown. However, to determine the clinical potential of this technique, a study on a wider sample is required.

**Keywords:** RNA sequencing, colorectal cancer, transcriptome, master regulators, targeted therapy.

\*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):

e-mail: svetlana.apalko@gmail.com

[Апалько С. В.\* — к.б.н., биолог, начальник сектора биобанкирования и трансляционной медицины, заведующая ЛМД и АМ, ORCID: 0000-0002-3853-4185, Шиманский В. С. — биолог, ORCID: 0000-0001-5662-8663, Кель А. — PhD, главный исполнительный директор и руководитель отдела безопасности, ORCID: 0000-0001-6775-2467, Сушенцева Н. Н. — биолог, начальник лаборатории, ORCID: 0000-0002-5100-5229, Тюкавина Н. В. — зав. отделением, врач-онколог высшей квалификационной категории, ORCID: 0000-0001-5113-0057, Коваленко С. А. — зав. онкологическим отделением, хирург-онколог высшей категории, ORCID: 0000-0002-5850-0599, Щербак С. Г. — д.м.н., профессор, заслуженный врач РФ, главный врач, ORCID: 0000-0001-5036-1259].

**Relationships and Activities:** none.

Apalko S. V.\* ORCID: 0000-0002-3853-4185, Shimansky V. S. ORCID: 0000-0001-5662-8663, Kel A. ORCID: 0000-0001-6775-2467, Sushentseva N. N. ORCID: 0000-0002-5100-5229, Tyukavina N. V. ORCID: 0000-0001-5113-0057, Kovalenko S. A. ORCID: 0000-0002-5850-0599, Shcherbak S. G. ORCID: 0000-0001-5036-1259.

\*Corresponding author: svetlana.apalko@gmail.com

**Received:** 01/09-2024

**Revision Received:** 05/09-2024

**Accepted:** 16/09-2024

**For citation:** Apalko S. V., Shimansky V. S., Kel A., Sushentseva N. N., Tyukavina N. V., Kovalenko S. A., Shcherbak S. G. Potential of using transcriptome sequencing data in choosing therapy for patients with colorectal cancer. *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2024; 23(11):4174. doi: 10.15829/1728-8800-2024-4174. EDN YWSGPM

ДЭГ — дифференциально экспрессирующиеся гены, ЛП — лекарственные препараты, МР — мастер-регуляторы, РНК — рибонуклеиновая кислота.

### Ключевые моменты

#### Что известно о предмете исследования?

- РНК-секвенирование является в настоящий момент приоритетным методом выявления дифференциально экспрессирующихся генов и получения ценной информации для оценки патологических состояний.
- Выявление генов мастер-регуляторов (МР) может быть основой для разработки новых способов лекарственной терапии.

#### Что добавляют результаты исследования?

- Показана принципиальная возможность использования данных РНК-секвенирования с последующим выявлением МР при выборе таргетной терапии для пациентов с колоректальным раком.
- Лекарственная терапия, назначенная без учёта анализа МР, может быть не оптимальна.

### Key messages

#### What is already known about the subject?

- RNA sequencing is currently the priority method for identifying differentially expressed genes and obtaining valuable information for assessing pathological conditions.
- Identification of master regulator (MR) genes can be the basis for developing novel therapies.

#### What might this study add?

- The fundamental potential of RNA sequencing with MR identification in choosing targeted therapy for patients with colorectal cancer is shown.
- Therapy prescribed without taking into account MR analysis may not be optimal.

## Введение

Анализ мультиомных данных по измерению активности генов, экспрессии белков или изменениям метаболома становится стандартным подходом к характеристике патологического состояния пораженного организма или ткани. Все чаще некоторые из этих методов применяются в комбинированном подходе, что приводит к получению больших наборов многопрофильных данных [1, 2]. Тем не менее, проблема выявления основных молекулярных механизмов, отличающих данное патологическое состояние от нормы, остается открытой. Механизм развития болезни может быть описан посредством построения моделей перестройки клеточных регуляторных путей, например, в результате генетических или эпигенетических изменений, влияющих на активность соответствующих генов. Реконструкция специфических для заболевания регуляторных путей может помочь идентифицировать потенциальные мастер-регуляторы (МР) соответствующего патологического процесса, что в свою очередь открывает возможности для разработки новых подходов к лечению. В настоящее время набирает популярность гипотеза о том, что воздействие на определенные МР может остано-

вить патологический процесс и устранить причину заболевания [3].

Традиционные биоинформационные подходы, применяемые для анализа мультиомных данных, дают лишь очень ограниченное представление о причинах наблюдаемых явлений и поэтому мало способствуют пониманию молекулярных механизмов патологического процесса. В транскриптомных исследованиях такого рода, как правило, только выявляются дифференциально экспрессирующиеся гены (ДЭГ), но вся цепь молекулярных событий, приведших к дифференциальной экспрессии, остаётся невыясненной [4]. В противоположность этому, применяемый нами метод был разработан для интерпретации данных, связанных с этиологией патологического состояния. Этот подход дополняет классический анализ ДЭГ и включает в себя два основных этапа:

1) анализ промоторов и энхансеров ДЭГ на предмет выявления факторов транскрипции, участвующих в их регуляции и, таким образом, важных для изучаемого процесса;

2) реконструкция сигнальных путей, которые активируют эти факторы транскрипции, и идентификация МР на вершине таких путей.

Таблица 1

## Данные пациентов, принимавших участие в исследовании

№ пациента	Пол	Возраст, лет	Диагноз	Продолжительность жизни после начала лечения (мес.)
1	Ж	61	Рак восходящего отдела ободочной кишки pT3N0/cM1. Метастазы в печени. <i>RAS</i> , <i>BRAF</i> -дикий тип	29,1
2	Ж	60	Рак сигмовидной кишки pT3N2b/cM1. Метастазы в печени. <i>RAS</i> , <i>BRAF</i> -дикий тип	25,7
3	Ж	69	Рак ректосигмоидного отдела толстой кишки pT4aN1/cM1. Метастазы в печени, легких. <i>K-RAS</i> +	51,9

Результаты, полученные после реконструкции сигнальных путей, используют в поиске лекарственных препаратов (ЛП), пригодных для ингибирования (или активации) идентифицированных молекулярных мишеней в контексте изучаемого заболевания. Поиск осуществляется в базах данных уже известных ЛП. Это, так называемое повторное открытие лекарств (*drug repurposing*), — новая парадигма в фармакологии с целью преодоления кризиса, связанного с дороговизной и недостаточной эффективностью создания нового ЛП к каждой отдельной клеточной мишени [5]. Этот шаг выполняется с использованием информации из базы данных HumanPSD™ (The Human Proteome Survey Database), а также базы данных спектров биологической активности 2245 химических соединений, рассчитанных с помощью программы PASS (Prediction Activity Structure Substances) на основе подхода (Q)SAR (Quantitative Structure-Activity Relationship).

Описанный целостный подход позволяет в конце концов получить способ воздействия на весь набор патологически изменённых регуляторных путей в клетке, находящихся под контролем определённых МР. В настоящий момент за рубежом уже выполнено несколько исследований такого рода [5-7].

Целью настоящей работы является анализ применимости данных РНК (рибонуклеиновая кислота)-секвенирования с последующим выявлением МР для предсказания эффективности таргетной терапии у российских пациентов с колоректальным раком.

## Материал и методы

В настоящем исследовании использовали образцы ткани трех пациентов с колоректальным раком, полученные из послеоперационного материала. Характеристика пациентов представлена в таблице 1. Все пациенты подписали информированное добровольное согласие на участие в исследовании. Форма информированного согласия и иные документы в рамках данного научно-исследовательского проекта были одобрены на заседании № 119 Экспертного совета по этике СПб ГБУЗ "Городская больница № 40" 9 февраля 2017г.

Все пациенты на момент включения в исследование имели метастатическую стадию заболевания и по-

лучали стандартные схемы противоопухолевой терапии в зависимости от локализации опухоли и статуса мутаций в генах *RAS* и *BRAF*. Пациент 1 с левосторонней локализацией опухоли и генами *RAS* и *BRAF* дикого типа получил 3 линии терапии. В 1 линии проведена химиотерапия по схеме mFOLFOX6<sup>1</sup>, в комбинации с панитумумабом, во второй mFOLFOX6 в сочетании с бевацизумабом, в 3 линии FOLFIRI<sup>2</sup> с рамуцирумабом. Второй пациент в связи с правосторонней локализацией опухоли в 1 линии получил комбинацию mFOLFOX6 с бевацизумабом, во 2 линии FOLFIRI с рамуцирумабом. У пациента 3 была выявлена мутация гена *KRAS*, в связи с чем в 1 линии применялась схема mFOLFOX6 с бевацизумабом, во 2 линии так же mFOLFOX6 с бевацизумабом, в 3 линии FOLFIRI с афлиберцептом, в 4 линии регорафениб и в 5 линии FOLFIRI с афлиберцептом. Для каждого пациента был проведен анализ как опухолевой, так и здоровой ткани. Из образцов была выделена РНК методом фенол-хлороформной экстракции и проведено секвенирование транскриптома с использованием реагентов KAPA mRNA HyperPrep Kit (Roche) на секвенаторе MiSeq (Illumina). Прочтения, полученные в ходе секвенирования, прошли контроль качества в программе FastQC<sup>3</sup>. Далее прочтения были выровнены на референсный геном человека версии hg38 с помощью программы bowtie [8]. Подсчет прочтений, относящихся к конкретным генам, выполнен пакетом featureCounts [9]. Выявление ДЭГ и поиск МР, а также составление схем метаболитических сетей и МР проведены с помощью собственных алгоритмов geneXplain<sup>4</sup>. Дополнительно был выполнен анализ промоторов и энхансеров ДЭГ на предмет выявления факторов транскрипции, участвующих в их регуляции, с использованием базы данных TRANSFAC<sup>®</sup> совместно с алгоритмами идентификации сайтов связывания TF Match и CMA (Composite Module Analyst). Реконструкция сигнальных путей, активируемых найденными факторами транскрипции, а также идентификация МР проведена с применением базы данных по передаче сигналов TRANSPATH<sup>®</sup> и специальных алгоритмов поиска графов, реализованных в программном обеспечении "Genome Enhancer".

<sup>1</sup> FOL — кальция фолинат (лейковорин), F — фторурацил, OX — оксалиплатин.

<sup>2</sup> FOL — кальция фолинат (лейковорин), F — фторурацил, IRI — иринотекан.

<sup>3</sup> <http://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/>.

<sup>4</sup> <http://genexplain.com>.

## Результаты

Для всех образцов ткани были получены результаты РНК-секвенирования, в ходе анализа которых были обнаружены ДЭГ и мутации в нескольких генах, важных для назначения ЛП. Так, для пациента 2 выявлены мутации в гене *BRCA2*, а для пациента 3 — мутации в генах *BRCA2*, *P53* и *KRAS*.

Поскольку пациент 3 имел наибольшую продолжительность жизни после начала лечения (таблица 1), представляло интерес более подробно исследовать образцы его опухолевой ткани. В валике опухоли обнаружена *KRAS*-мутация (p.G12S c.34G>A), в то время как в центре она отсутствует. Мутации гена *BRCA1* (p.K1183R c.3548A>G и p.1136R c.3667A>G) присутствуют в здоровой ткани, но не выявлены в опухолевой. Экспрессия гена *RNF43* отсутствует в здоровой ткани и в валике, но присутствует в центре опухоли, что может указывать на герминальную природу мутации. Проведенное сравнение профилей экспрессии в центре и валиках опухоли пациента 3 показало высокую корреляцию, свидетельствующую о том, что это одна и та же опухоль, с ~4000 общими генами, находящимися в состоянии повышенной экспрессии. Тем не менее, наблюдается некоторая гетерогенность: в каждой части опухоли экспрессируются ~1000 уникальных генов, в основном некодирующих РНК. В частности, для валика опухоли характерна повышенная экспрессия генов *IRAK1*, *PELE1*, *IRF1*, *MYD88*, *AKR1C4* и *E2F7*. В центре опухоли обнаружены следующие сверхэкспрессированные гены: *DHFR*, *DCK*, *POLR3G*, *STAT1*, *IL10RB* и *MAP3K1*.

На основании анализа ДЭГ были найдены МР, приведенные в таблице 2. Выявленные изменённые метаболические пути для каждого пациента представлены на рисунках 1-3 Приложения. Полученные МР были проранжированы в соответствии с их расчетным вкладом в нарушения экспрессии генов в опухолевой ткани. Ранжирование проводилось согласно оценке значимости транскрипционного фактора, рассчитываемого внутренними алгоритмами geneXplain для выявления уровня регуляции, на котором действует фактор. Основываясь на этом списке, алгоритм также подобрал наиболее подходящие ЛП, в случае пациентов 1 и 2, отличающиеся от назначенных в клинике. Это регорафениб, целекоксиб, трастузумаб и бевацизумаб для пациента 1, регорафениб и ларотректиниб для пациента 2. В случае пациента 3 расчеты показали, что основное лечение было назначено верно, но его можно было бы дополнить препаратами олапариб, целекоксиб и куркумин.

## Обсуждение

Согласно исследованиям, непрерывная активация каскада рецептора эпидермального фактора роста (кодируемого геном *EGFR*) является одной из

Таблица 2

Список генов, кодирующих обнаруженные мастер-регуляторы, для каждого пациента

Пациент 1	Пациент 2	Пациент 3
<i>CD14</i>	<i>PTK2</i>	<i>GSK3B</i>
<i>ANAPC11</i>	<i>NTRK2</i>	<i>ERBB2</i>
<i>RICTOR</i>	<i>HSPA1A</i>	<i>AURKA</i>
<i>MTOR</i>	<i>IL1RAP</i>	<i>SYK</i>
<i>IRAK2</i>	<i>MET</i>	<i>MAPKAP1</i>
<i>ERBB2</i>	<i>DUSP16</i>	<i>PKN2</i>
<i>MAPK9</i>	<i>ANAPC4</i>	<i>CASP3</i>
<i>TLR4</i>	<i>HRAS</i>	<i>IRAK4</i>
<i>PAK2</i>		<i>MELK</i>
<i>ANAPC2</i>		<i>CSNK1G1</i>
<i>MAPK8</i>		<i>EPHB2</i>
<i>IRAK1</i>		<i>MAPK14</i>
<i>PDPK1</i>		<i>VEGFA</i>
<i>ANAPC1</i>		<i>ACPI</i>
<i>PSMC3</i>		<i>CDK1</i>
<i>EGFR</i>		<i>RICTOR</i>
<i>PSMC3</i>		<i>PSMA&amp;</i>
<i>EGF</i>		<i>IRAK2</i>
<i>PSMC5</i>		<i>SRC</i>
<i>CDC26</i>		<i>CSNK1G2</i>
<i>MAPK14</i>		<i>PRR5</i>
<i>ANPC5</i>		<i>PDPK1</i>
<i>CDC16</i>		<i>UBE21</i>
<i>MYD88</i>		<i>CCNA2</i>
<i>LBP</i>		
<i>PSMA7</i>		
<i>E4F1</i>		
<i>CDK2</i>		
<i>CDC23</i>		
<i>ANAPC7</i>		
<i>TOLLIP</i>		
<i>LY96</i>		
<i>KLH22</i>		
<i>SRC</i>		

основных причин образования опухолей [10]. Причиной подобного события могут быть значительное увеличение количества рецепторов на мембране клетки, мутации в структуре самого рецептора, приводящие к активации в отсутствие лиганда, или мутации в молекулах других участников каскада, способных привести к его запуску независимо от статуса *EGFR*. Гены *BRAF*, *KRAS* и *NRAS* являются непосредственными участниками RAS-каскада. Мутации в этих генах ассоциированы с колоректальным раком и являются биомаркерами, позволяющими оценить прогноз заболевания и перспективы использования таргетных ЛП. Полимеразная цепная реакция (ПЦР)-тест на выявление этих мутаций является неотъемлемой частью комплекса исследований опухолевой ткани, т.к. определенные варианты генотипов напрямую влияют на выбор

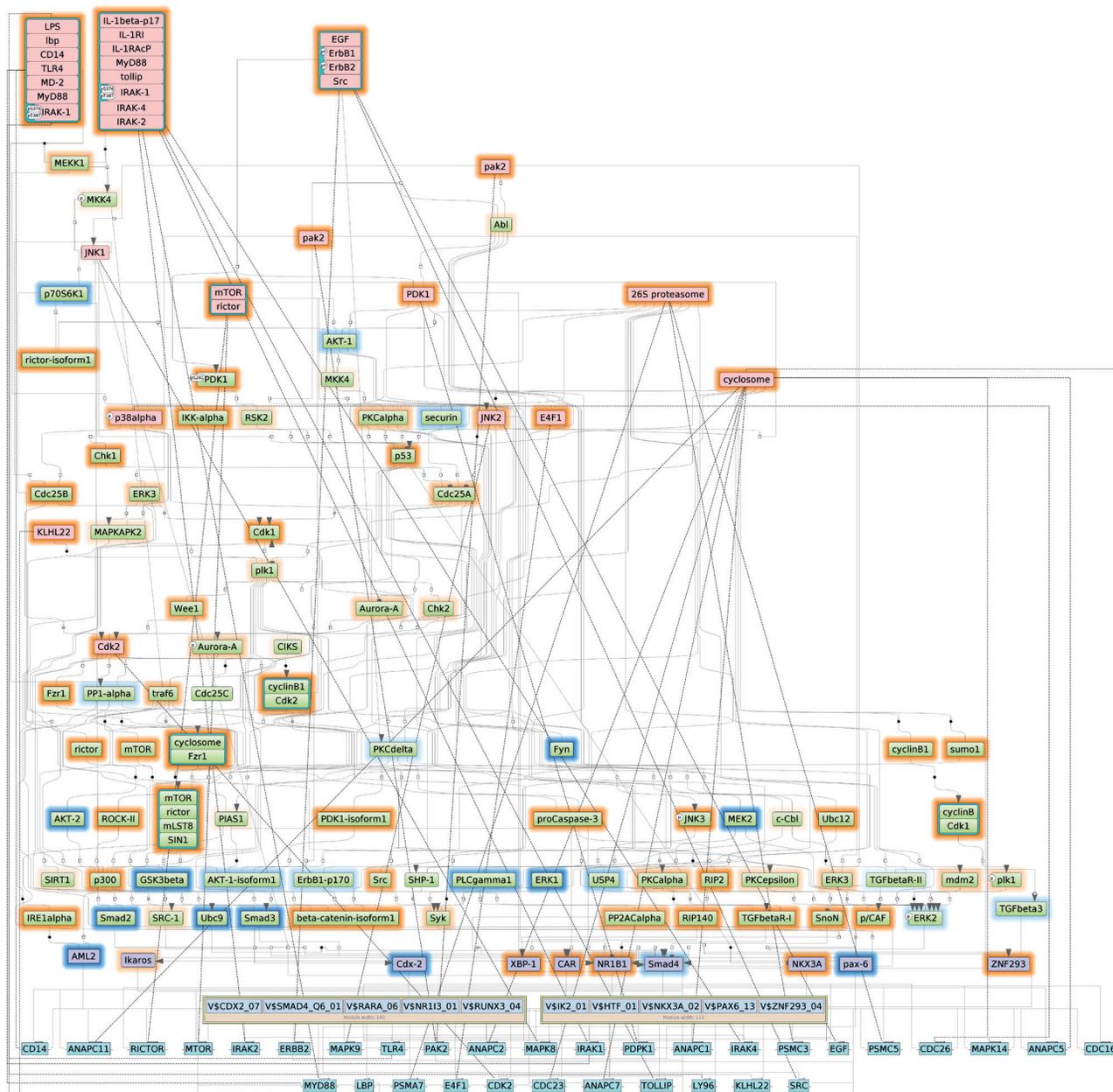


Рис. 1 Схема метаболических сетей и МР пациента 1.

Примечание: схема составлена на основании анализа дифференциальной экспрессии генов при сравнении здоровой и опухолевой ткани с помощью собственных алгоритмов geneXplain. МР обозначены красными прямоугольниками, факторы транскрипции — синими прямоугольниками, зеленые прямоугольники — промежуточные молекулы, которые были добавлены в сеть во время поиска МР из выбранных транскрипционных факторов. Оранжевыми и синими рамками выделены молекулы, которые кодируются генами с повышенной и пониженной регуляцией, соответственно. МР — мастер-регуляторы.

и эффективность ЛП, используемых в противоопухолевой терапии [11].

У пациентов 1 и 2 не было выявлено мутаций в генах RAS-каскада, что, как правило, является положительным прогностическим признаком. Больным с подобной генетической картиной обычным назначением являются препараты, влияющие на фактор роста эндотелия сосудов VEGF (vascular

endothelial growth factor) или его рецепторы [12]. В дополнение к стандартному курсу химиотерапии, в т.ч. с иринотеканом, этим двум пациентам добавлен бевацизумаб или рамуцирумаб. Бевацизумаб, селективно связывается с VEGFA и блокирует его связывание с рецепторами, замедляя, тем самым, рост и темпы васкуляризации опухоли [13]. Рамуцирумаб ингибирует рецептор VEGFR2 и не по-

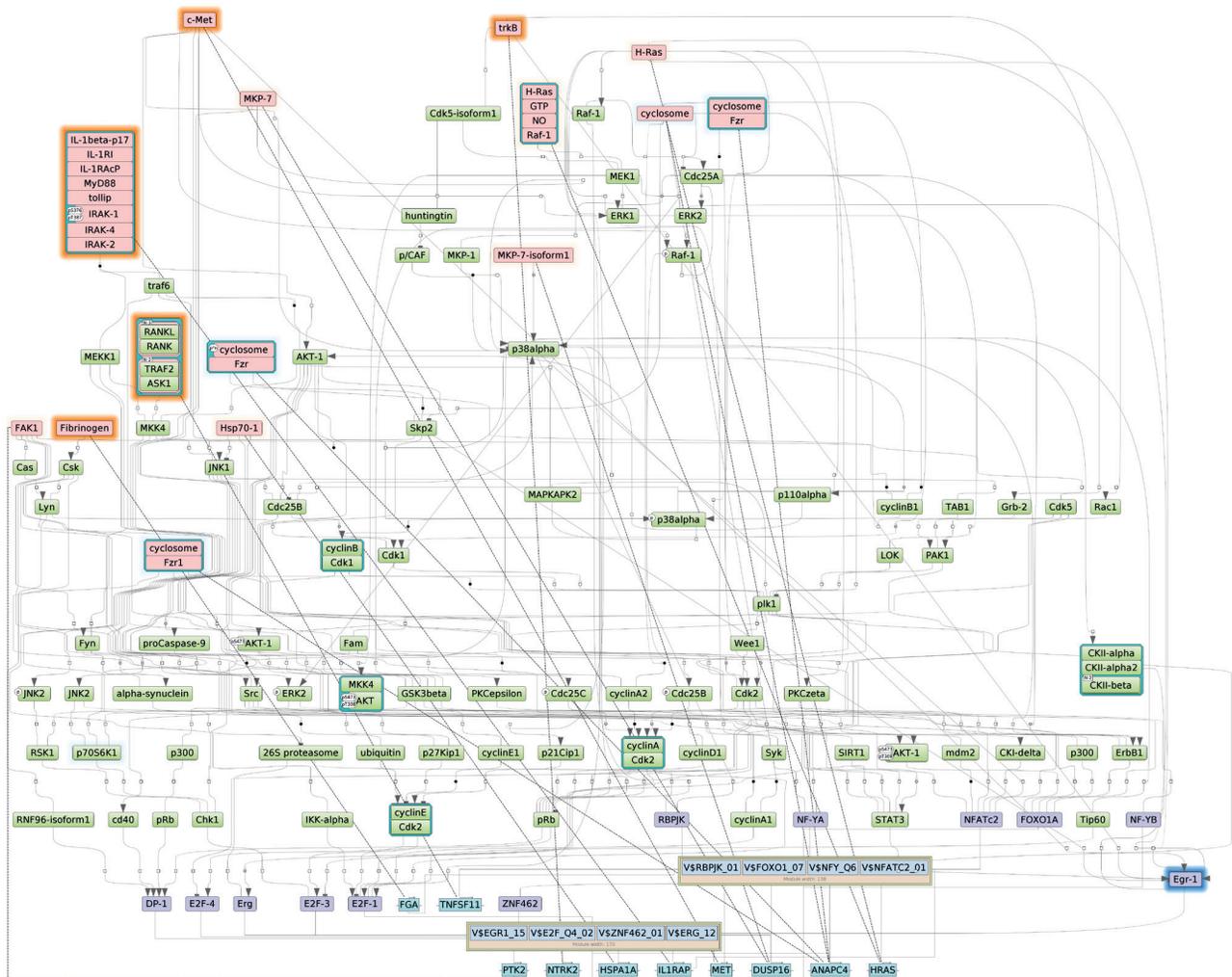


Рис. 2 Схема метаболических сетей и МР пациента 2.

Примечание: схема составлена на основании анализа дифференциальной экспрессии генов при сравнении здоровой и опухолевой ткани с помощью собственных алгоритмов geneXplain. МР обозначены красными прямоугольниками, факторы транскрипции — синими прямоугольниками, зеленые прямоугольники — промежуточные молекулы, которые были добавлены в сеть во время поиска МР из выбранных транскрипционных факторов. Оранжевыми и синими рамками выделены молекулы, которые кодируются генами с повышенной и пониженной регуляцией, соответственно. МР — мастер-регуляторы.

зволяет связываться с ним его лигандам: VEGFA, VEGFC и VEGFD. Таким образом, нейтрализуется их способность к активации пролиферации через каскад протеинкиназ p44/p42. Иринотекан ингибирует фермент топоизомеразу 1, участвующий в синтезе дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) [14].

Несмотря на позитивный прогноз, в обоих случаях лечение дало только временный эффект стабилизации и частичного регресса опухоли с последующим прогрессированием и летальным исходом. Согласно нашим результатам, у пациента 1 были более приоритетные лекарственные мишени, и персонализированный подбор препаратов на основании анализа ДЭГ и МР теоретически мог бы

повысить эффективность противоопухолевой терапии. В список возможных терапевтических мишеней вошли белки, кодируемые генами *EGF*, *EGFR*, *ERBB2*, *SRC*, *mTOR* и *PDK1* (таблица 2). VEGFA же, на который была нацелена таргетная терапия, находится только на 71-м месте в ранжированном списке МР, что указывает на его второстепенную роль в патогенезе аденокарциномы кишечника у пациента 1. В связи с этим схема лечения могла бы быть иной и более эффективной. Препаратами выбора могли бы стать регорафениб, являющийся ингибитором широкого спектра протеинкиназ, участвующих в ангиогенезе опухоли [14], целекоксиб, специфично блокирующий циклооксигеназу-2 [15],

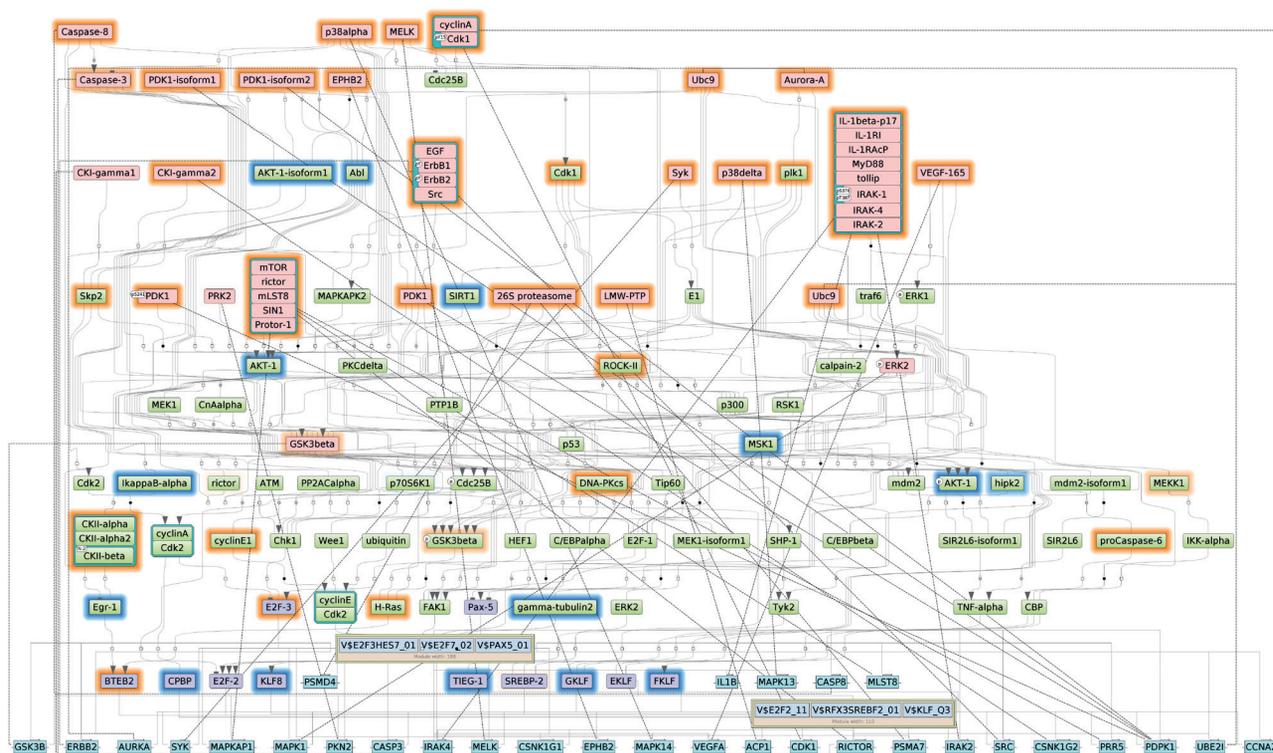


Рис. 3 Схема метаболических сетей и МР пациента 3.

Примечание: схема составлена на основании анализа дифференциальной экспрессии генов при сравнении здоровой и опухолевой ткани с помощью собственных алгоритмов geneXplain. МР обозначены красными прямоугольниками, факторы транскрипции — синими прямоугольниками, зеленые прямоугольники — промежуточные молекулы, которые были добавлены в сеть во время поиска МР из выбранных транскрипционных факторов. Оранжевыми и синими рамками выделены молекулы, которые кодируются генами с повышенной и пониженной регуляцией, соответственно. МР — мастер-регуляторы.

и трастузумаб, взаимодействующий с внеклеточным доменом рецептора 2 эпидермального фактора роста человека ERBB2 [16]. Эту терапию можно было бы дополнить бевацизумабом, что, вероятно, улучшило бы результаты лечения и обеспечило бы более долгосрочную стабилизацию состояния.

Перейдем к пациенту 2, который получал аналогичное лечение. Изначально у пациента наблюдалась стабилизация состояния, однако вскоре последовало прогрессирование, сопровождавшееся метастазированием в легкие и печень, что в конечном итоге привело к летальному исходу. Использование бевацизумаба и рамуцирумаба могло быть неэффективным, поскольку их мишени не попадают в спектр МР данной опухоли. Вместо этого более значимыми целями для лечения могли бы быть такие молекулы, как с-MET и NTRK2. Последний, хотя обычно экспрессируется в мозге, иногда может быть активен в опухолях<sup>5</sup>. В данном случае наиболее перспективными препаратами являются регорафениб — пероральный мультикиназный ин-

гибитор, в т.ч. специфичный к PDGFRA [14], и ларотректиниб, который был одобрен к применению при колоректальном раке в 2020г [17].

Рассмотрим пациента 3, у которого изначально присутствовали метастазы в легких и печени. Пациенту были назначены стандартные схемы химиотерапии в сочетании с анти-VEGF терапией бевацизумабом и далее афлиберцептом. В результате лечения наблюдался частичный регресс опухоли. Продолжительность жизни пациента, несмотря на наличие мутации в гене KRAS составила 51 мес.

В данном случае видим, что наличие МР VEGFA (таблица 2) сыграло ключевую роль, т.к. бевацизумаб, нацеленный на этот фактор, оказал положительное влияние на лечение. Тем не менее, согласно списку найденных МР, VEGFA занимает 23-е место по значимости, что указывает на то, что назначенный бевацизумаб не покрывает все возможные терапевтические мишени, что могло обусловить лишь частичный эффект противоопухолевой терапии.

Согласно расчетам, одной из наиболее эффективных мишеней является ген PDPK1, и для блокировки кодируемого им белка применяют препарат целеккоксиб [15]. Еще одной интересной мишенью является продукт гена GSK3B, который, хотя и известен как негативный биомаркер колоректально-

<sup>5</sup> Романько А.А., Мулкиджан Р.С., Сайтова Е.С. и др. Исследование перестроек генов NTRK в опухолях разных локализаций. Вопросы онкологии. 2023;3S. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/issledovanie-perestroek-genov-ntrk-v-opuholyah-raznyh-lokalizatsiy> (дата обращения: 08.11.2024).

го рака, обычно связан с другими типами рака, например, с раком легких [18].

Помимо поиска МР одним из важных этапов подбора таргетной терапии является анализ мутаций. Мы можем использовать имеющиеся данные РНК-секвенирования для поиска вариантов и анализа генетической гетерогенности опухоли. Хотя транскриптомный метод менее точен, чем геномный, он подходит для поставленной задачи. Исследование этим методом опухолевого материала пациента 3 выявило мутации в генах *BRCA2*, *P53* и *KRAS*. Причём оказалось, что опухоль в значительной степени гетерогенна. Обнаруженная в валике опухоли, но не в центре *KRAS*-мутация (p.G12S с.34G>A) может объяснить частичный регресс опухоли при наличии мутантного статуса, что указывает на возможность лечения с использованием ингибиторов EGFR [14]. Наличие мутации *BRCA2* (p.V2466A с.7397C>T) является показанием к использованию препарата олапариба, приводящего к задержке прогрессирования опухоли в организмах с дефицитом BRCA [16].

Гетерогенность опухоли проявилась и при анализе экспрессии в разных частях опухоли. Так, для валика опухоли характерна повышенная экспрессия генов, которые участвуют в сигнальных путях (*IL-1*, *TLR9*) и метаболизме белков (*IRAK1*, *PELE1*, *IRF1*, *MYD88*, *AKR1C4* и *E2F7*) [19, 20]. Обнаруженные в центре опухоли сверхэкспрессированные гены вовлечены в сигнальные пути (*IL-10*, *MAPK1/3*) и метаболизм нуклеиновых кислот (*DHFR*, *DCK*, *POLR3G*, *STAT1*, *IL10RB* и *MAP3K1*) [21]. Путь HIF-1 $\alpha$  (Hypoxia-inducible factor 1-alpha, фактор, индуцируемый гипоксией 1-альфа,) активируется при дефиците кислорода, типичен для центра солидных опухолей и запускает VEGF-сигнализацию [21]. В целом, HIF-1 $\alpha$  участвует в регуляции активности широкого спектра генов, задействованных в канцерогенезе [22], причем из-за особенностей оксигенации в центре опухоли и на периферии могут быть задействованы разные сигнальные пути.

## Литература/References

1. Usova EI, Alieva AS, Yakovlev AN, et al. The role of multi-omics technologies and genetic analysis in the diagnosis and prediction of cardiovascular diseases. Russian Journal for Personalized Medicine. 2022;2(2):6-16. (In Russ.) Усова Е. И., Алиева А. С., Яковлев А. Н. и др. Роль мультиомиксных технологий и генетического анализа в диагностике и прогнозировании сердечно-сосудистых заболеваний. Российский журнал персонализированной медицины. 2022;2(2):6-16. doi:10.18705/2782-3806-2022-2-2-6-16.
2. Yalaev BI, Tyurin AV, Khusainova RI. Multiomics approaches to search for molecular-genetic predictors of osteoporosis. Genes & Cells. 2022;17(1):13-8. (In Russ.) Ялаев Б. И., Тюрин А. В., Хусайнова Р. И. Мультиомиксные подходы к поиску молекулярно-генетических предикторов остеопороза. Гены и Клетки. 2022;17(1):13-8. doi:10.23868/202205002.
3. Kalya M, BeiBbarth T, Kel AE. Master Regulators Associated with Poor Prognosis in Glioblastoma Multiforme. Biomed Khim. 2021;67(3):201-12. (In Russ.) Каля М., Бейсбарт Т., Кель А. Э. Мастер-регуляторы, связанные с плохим прогнозом при глиобластоме. Биомедицинская химия. 2021;67(3):201-12. doi:10.18097/PBMC20216703201.
4. Tsimberidou AM, Fountzilias E, Bleris L, et al. Transcriptomics and solid tumors: The next frontier in precision cancer medicine. Semin Cancer Biol. 2022;84:50-9. doi:10.1016/j.semcancer.2020.09.007.5.
5. Chung F-H, Chiang Y-R, Tseng A-L, et al. Functional module connectivity map (FMCM): A framework for searching repurposed drug compounds for systems treatment of cancer and an application to colorectal adenocarcinoma. PLoS ONE. 2014;9:e86299. doi:10.1371/journal.pone.0086299.
6. De Bastiani MA, Klamt F. Integrated transcriptomics reveals master regulators of lung adenocarcinoma and novel repositioning of drug candidates. Cancer Med. 2019;8:6717-29. doi:10.1002/cam4.2493.

На основании всех данных можно сделать вывод, что мишень VEGFA существует, и препарат бевацизумаб может быть применен, хотя он не является наиболее приоритетным, т.к. его значимость невысока. В качестве альтернативы используется афлиберцепт, который в последующем был назначен пациенту.

Итак, сочетание лечения с использованием бевацизумаба (или афлиберцепта) и куркумина представляется оптимальным вариантом, учитывая наличие мишеней VEGF и GSK3B.

## Заключение

В результате настоящего исследования для каждого из трех пациентов был выявлен список МР, ранжированных относительно своей пригодности в качестве терапевтической цели на основе оценки влияния на экспрессию подконтрольных ДЭГ. Для пациентов 1 и 2 было показано, что, согласно нашим расчетам, выбранная таргетная терапия не была эффективной, поскольку при стандартной диагностике могли быть упущены индивидуальные особенности молекулярных путей, снижающие или полностью сводящие на нет действие некоторых лекарственных средств. У пациента 3 частично совпали спрогнозированные и примененные препараты, что, положительно, и стало причиной последующей частичной ремиссии.

Таким образом, была проанализирована возможность применения данных по РНК-секвенированию с последующим выявлением ДЭГ и генов МР для предсказания эффективности терапии пациентов с аденокарциномой кишечника. В дальнейшем необходимы клинические исследования эффективности назначения лекарственной терапии на основе комплексного анализа МР.

**Отношения и деятельность:** все авторы заявляют об отсутствии потенциального конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

7. Vargas DM, De Bastiani MA, Parsons RB, et al. Parkinson's disease master regulators on substantia nigra and frontal cortex and their use for drug repositioning. *Mol Neurobiol*. 2021;58:1517-34. doi:10.1007/s12035-020-02203-x.
8. Langmead B, Trapnell C, Pop M, et al. Ultrafast and memory-efficient alignment of short DNA sequences to the human genome. *Genome Biol*. 2009;10:R25. doi:10.1186/gb-2009-10-3-r25.
9. Liao Y, Smyth GK, Shi W. featureCounts: an efficient general purpose program for assigning sequence reads to genomic features. *Bioinformatics*. 2014;30:923-30. doi:10.1093/bioinformatics/btt656.
10. Slugin E, Levchenko E, Imyanitov E, et al. Evaluation of the role of EGFR mutation in determining the tactics of surgical treatment of non-small cell lung cancer. *Issues in Oncology*. 2021;67(3):315-22. (In Russ.) Слугин Е., Левченко Е., Имянитов Е. и др. Оценка роли мутации EGFR при определении тактики хирургического лечения немелкоклеточного рака легкого. *Вопросы онкологии*. 2021;67(3):315-22. doi:10.37469/0507-3758-2021-67-3-315-322.
11. Toropovsky AN, Pavlova ON, Viktorov DA, et al. Molecular-genetic mechanisms of the signal cascade RAS-RAF-MEK-ERK associated with the development of the tumor process and the purpose of targeted drugs for colorectal cancer. *Bulletin of the Medical Institute "REAVIZ" (Rehabilitation, Doctor and Health)*. 2021;(4):25-35. (In Russ.) Тороповский А. Н., Павлова О. Н., Викторов Д. А., и др. Молекулярно-генетические механизмы сигнального каскада RAS-RAF-MEK-ERK, связанные с развитием опухолевого процесса и назначением таргетных препаратов при колоректальном раке. *Вестник медицинского института "РЕАВИЗ". Реабилитация, Врач и Здоровье*. 2021;(4):25-35. doi:10.20340/vmi-rvz.2021.4.MORPH.3.
12. Chekhonin VP, Shein SA, Korchagina AA, Gurina OI. VEGF in neoplastic angiogenesis. *Annals of the Russian academy of medical sciences*. 2012;(2):23-34. (In Russ.) Чехонин В. П., Шейн С. А., Корчагина А. А., Гурина О. И. Роль VEGF в развитии неопластического ангиогенеза. *Вестник Российской академии медицинских наук*. 2012;(2):23-34. doi:10.15690/vramn.v67i2.119.
13. Kuznetsova OM, Khadasheva ZS, Smirnova IP. Inhibitors of vascular endothelial growth factor and tyrosine kinase receptors as a direction of antiangiogenic therapy of tumours. *Chechen State University named after A. A. Kadyrov*. 2016;4(24):60-6. (In Russ.) Кузнецова О. М., Хадашева З. С., Смирнова И. П. Ингибиторы фактора роста эндотелия сосудов и тирозинкиназных рецепторов как направление антиангиогенной терапии опухолей. *Вестник Чеченского государственного университета им. А. А. Кадырова*. 2016;4(24):60-6.
14. Andreev DA, Zav'yalov AA, Kokushkin KA, Davydovskaya MV. The application of the modern target medications for the treatment of metastatic colorectal cancer. *Russian Journal of Evidence-Based Gastroenterology*. 2018;7(2):21-9. (In Russ.) Андреев Д. А., Завьялов А. А., Кокушкин К. А., Давыдовская М. В. Современные таргетные препараты в терапии метастатического рака прямой кишки. *Доказательная гастроэнтерология*. 2018;7(2):21-9. doi:10.17116/dokgastro20187221.
15. Savelieva OE, Perelmuter VM, Tashireva LA, et al. Inflammation as a therapeutic target in the complex treatment of malignant tumors. *Siberian Journal of Oncology*. 2017;16(3):65-78. (In Russ.) Савельева О. Е., Перельмутер В. М., Таширева Л. А. и др. Воспаление как терапевтическая мишень при комплексном лечении злокачественных опухолей. *Сибирский онкологический журнал*. 2017;16(3):65-78. doi:10.21294/1814-4861-2017-16-3-65-78.
16. Kachmazov AA, Bolotina LV, Kornietskaya AL, et al. Possibilities of therapeutic use of HER2-inhibitors in metastatic colorectal cancer: a case report. *Meditsinskiy sovet = Medical Council*. 2019;(19):126-31. (In Russ.) Качмазов А. А., Болотина Л. В., Корниецкая А. Л. и др. Возможности таргетной терапии метастатического колоректального рака с гиперэкспрессией HER2: клинический случай. *Медицинский Совет*. 2019;(19):126-31. doi:10.21518/2079-701X-2019-19-126-131.
17. Cheporova MS, Cheporov SV, Tryakin AA. The choice of treatment for chemorefractory colon cancer. *Malignant tumours*. 2023;13(3):56-63. (In Russ.) Чепорова М. С., Чепоров С. В., Трякин А. А. Выбор лечения химиорефрактерного рака толстой кишки. *Злокачественные опухоли*. 2023;13(3):56-63. doi:10.18027/2224-5057-2023-13-3-56-63.
18. Shakoori A, Ougolkov A, Yu ZW, et al. Deregulated GSK3beta activity in colorectal cancer: its association with tumor cell survival and proliferation. *Biochem Biophys Res Commun*. 2005;334(4):1365-73. doi:10.1016/j.bbrc.2005.07.041.
19. Stukan AI, Murashko RA, Porkhanov VA, et al. The inflammatory tumor microenvironment and tumor cell plasticity in the pathogenesis of colorectal cancer. *P. A. Herzen Journal of Oncology*. 2021;10(4):66-74. (In Russ.) Стукань А. И., Мурашко Р. А., Порханов В. А. и др. Воспалительное опухолевое микроокружение и пластичность опухолевой клетки в патогенезе колоректального рака. *Онкология. Журнал им. П. А. Герцена*. 2021;10(4):66-74. doi:10.17116/onkolog20211004166.
20. Imyanitov EN. Clinical and molecular aspects of colorectal cancer: etiopathogenesis, prevention, and individualization of treatment. *Prakticheskaya onkologiya = Practical Oncology*. 2005;6(2):65-70. (In Russ.) Имянитов Е. Н. Клиникомолекулярные аспекты колоректального рака: этиопатогенез, профилактика, индивидуализация лечения. *Практическая онкология*. 2005;6(2):65-70.
21. Zhukova AG, Kazitskaya AS, Sazontova TG, Mikhailova NN. Hypoxia-inducible factor (HIF): structure, function and genetic polymorphism. *Hygiene and sanitation*. 2019;98(7):723-8. (In Russ.) Жукова А. Г., Казицкая А. С., Сазонтова Т. Г., Михайлова Н. Н. Гипоксией индуцируемый фактор (HIF): структура, функции и генетический полиморфизм. *Гигиена и санитария*. 2019;98(7):723-8. doi:10.47470/0016-9900-2019-98-7-723-728.
22. Lyanova AA, Vladimirova LYu, Frantsiyants EM, et al. Molecular basis of modern targeted therapy for squamous cell carcinoma of the tongue and oral mucosa with monoclonal antibodies. *Malignant tumours*. 2017;7(4):77-87. (In Russ.) Льянова А. А., Владимировна Л. Ю., Францианц Е. М. и др. Молекулярные основы современной таргетной терапии плоскоклеточного рака языка и слизистой дна полости рта моноклональными антителами. *Злокачественные опухоли*. 2017;7(4):77-87. doi:10.18027/2224-5057-2017-7-4-77-87.