

## MiRNS ekspresijas atšķirības TN pārmantotos un TN sporādiskos krūts vēža audos un dažāda apakštipa krūts vēža audos

*Dagnija Kalniete*<sup>1,2</sup>, *Miki Nakazava-Miklaševiča*<sup>1</sup>, *Ilze Štrumfa*<sup>1,2</sup>,  
*Arnis Āboliņš*<sup>1,2</sup>, *Arvīds Irmejs*<sup>1,2</sup>, *Genādijs Trofimovičs*<sup>1,2</sup>,  
*Jānis Gardovskis*<sup>2,3</sup>, *Edvīns Miklaševičs*<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Rīgas Stradiņa universitāte, Onkoloģijas institūts, Latvija

<sup>2</sup> Paula Stradiņa Klīniskā universitātes slimnīca, Latvija

<sup>3</sup> Rīgas Stradiņa universitāte, Latvija

**Ievads.** miRNS ir ~ 20–25 nukleotīdus garas nekodējošas molekulas, kas regulē gēnu ekspresiju posttranskripcijas līmenī. Audzēju šūnās noteiktu miRNS ekspresiju atrod izmainītu, kas korelē ar noteiktām audzēja klīniskām un patofizioloģiskām pazīmēm. Viena no visbiežāk pētītajām miRNS, kuras ekspresiju atrod paaugstinātu dažāda tipa audzējos, tai skaitā krūts vēža, ir miR-21. Paaugstinātu miR-21 ekspresiju krūts vēža audos saista ar sliktām prognozēm un zemu piecu gadu dzīvildzes sliekšni. miRNS ekspresija atšķiras ne tikai dažādu ļaundabīgo audzēju robežās, bet arī viena audzēja dažādu apakštipu robežās. Trīskārši-negatīvām (TN) krūts vēža slimniecēm ar augstu noteiktu miRNS ekspresiju audzēja audos novēro sliktāku izdzīvotību un biežāku recidīvu, kā pacientēm ar zemu šo miRNS ekspresiju [Radojicic, et al., 2011]. Turklāt TN krūts vēža slimniecēm ar *BRCA1* gēna mutācijām novēro labāku izdzīvotību un retāku recidīvu kā TN krūts vēža slimniecēm bez *BRCA1* gēna mutācijām [Gonzalez-Angulo, et al., 2011; Lee, et al., 2011].

**Darba mērķis.** Atrast miRNS (miR-10b, miR-21, miR-29a, miR-31 un miR-214) ekspresiju atšķirības starp pārmantotiem un sporādiskiem TN krūts vēža audiem un dažādiem krūts vēža apakštipiem.

**Materiāls un metodes.** Astoņpadsmit pārmantotu (*BRCA1/2* gēna mutāciju nēsātāju) un 27 sporādisku krūts vēža pacientu audzēju audu materiāli un tiem atbilstošās rezekcijas līnijas (kontroles audi) iegūti P. Stradiņa KUS un Latvijas Onkoloģijas centrā laika posmā no 2004. līdz 2011. gadam. Visas pacientes ir parakstījušas atklātas piekrišanas formas.

Pārmantotā un sporādiskā krūts vēža grupas sastāvēja attiecīgi no 12 TN, 4 lumināl-A, 1 lumināl-B un 1 HER2+ un 11 TN, 9 lumināl-A, 6 lumināl-B un 1 HER2+ audzēju auda. Pētījumam izmantoja audzēju audu paraugus, kur audzēja šūnu saturs paraugā nav mazāks par 50%.

RNS izdalīja no formalinā fiksētiem un parafina blokos ieguldītiem audzēju un rezekcijas līniju audiem, izmantojot *RecoverAll Total Nucleic Acid* izdalīšanas kitu. Reverso transkripciju veica ar *TaqMan MicroRNA* reversās transkripcijas kitu, izmantojot *TProfessional* termocikleri. Kvantitatīvu miRNS daudzumu paraugā noteica ar RL-PĶR, izmantojot *TaqMan microRNA* reakcijas kitu. Katru paraugu lika trijos atkārtojumos. miRNS ekspresijas normalizēja pret referenes gēna *RNU6B* ekspresiju.

Gēnu ekspresiju noteica, izmantojot *Human Whole-Genome DASL HT* čipu.

Beznotikumu periodu analizēja saistībā ar augstu (augstāka par mediāno vērtību) un zemu (zemāka par mediāno vērtību) miRNS ekspresiju, izmantojot Kaplana-Meijera dzīvildzes līknes. Beznotikuma periodu definēja kā laika periodu no diagnozes brīža līdz brīdim, kad iestājas viens no trim notikumiem: metastāzes, recidīvs vai nāve. Statistisko ticamību aprēķināja, izmantojot Log-ranga (Mantela-Koksa) testu (95% konfidences intervāls).

**Rezultāti.** miR-10b, miR-21, miR-29a, miR-31 un miR-214 mediānā ekspresija ± SD audzēju audos bija 0,329 ± 0,462, 5,810 ± 6,932, 1,490 ± 2,403, 0,235 ± 0,609 un 1,000 ± 1,002. miR-10b, miR-21, miR-29a, miR-31 un miR-214 mediānā ekspresija ± SD atbilstošos rezekcijas līnijas audos bija 0,198 ± 0,674, 0,726 ± 2,566, 0,618 ± 2,772, 0,044 ± 0,314 un 0,811 ± 0,475. Audzēju audos miR-21, miR-29a, miR-31 un miR-214 ekspresija bija statistiski ticami augstāka nekā atbilstošos rezekcijas līnijas audos (P < 0,0001, P = 0,0091, P = 0,0029 un P = 0,0017; Vilkoksona tests).

Krūts vēža slimniecēm ar augstu miR-21 ekspresiju audzēja audos novēroja tendenci biežākam recidīvam, metastāzēm un sliktākai izdzīvotībai, tomēr novērojums nesasniedza statistisko ticamības sliekšni (P = 0,1359; HR: 2,756 (95% CI: 0,7271–10,45); Log-ranga (Mantela-Koksa) tests).

TN krūts vēža audos miR-21, miR-29a un miR-31 bija ar statistiski ticami augstāku ekspresiju nekā lumināl-A audzēju audos (P = 0,0076, P = 0,0128 un P = 0,0019; Manna-Vitnija tests). TN krūts vēža audos arī miR-21 un miR-29a ekspresija bija statistiski ticami augstāka nekā lumināl-B audzēja audos (P = 0,0424 un P = 0,0349; Manna-Vitnija tests).

Visi pieci miRNS (miR-10b, miR-21, miR-29a, miR-31 un miR-214) bija ar statistiski ticami augstāku ekspresiju TN sporādiskos nekā TN pārmantotos krūts vēža audos ( $P = 0,0074$ ,  $P = 0,0151$ ,  $P = 0,0244$ ,  $P = 0,0394$  un  $P = 0,0340$ ; Manna-Vitnija tests).

Izanalizējot gēnu ekspresijas karti, novēroja atšķirīgu klāsteru veidošanos starp TN sporādisko un TN pārmantoto krūts vēža grupu.

**Secinājumi.** Augstāka miR-10b, miR-21, miR-29a, miR-31 un miR-214 ekspresija TN sporādiskos nekā TN pārmantotos krūts vēža audos ir izskaidrojama ar TN krūts vēža ģenētisko heterogenitāti, kas varētu būt iemesls tam, kāpēc TN pārmantotām krūts vēža slimniecēm novēro retāku recidīvu un labāku izdzīvotību. Ir iegūti priekšrezultāti, kas apstiprina atšķirīgu gēnu ekspresijas profilu starp TN sporādiskiem un TN pārmantotiem krūts vēža audiem. Darbs pie gēnu ekspresijas profilu analīzes tiks turpināts.