Н.Ю. Лук'янова[1]
Т.В. Борікун[1]
В.М. Базась[2, 3]
Т.М. Яловенко[1]
Т.В. Задворний[1]
Н.В. Малишок[3]
О.В. Россильна[3]

[1]*Інститут експериментальної патології онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України*

[2]*Київський міський клінічний онкологічний центр*

[3]*Клініка персоналізованого дизайну діагностики і терапії «Онкотераностика», Київ, Україна*

Ключові слова: *циркулюючі мікроРНК, злоякісні новоутворення, діагностика, прогноз, медикаментозна терапія, моніторинг, ефективність.*

ЦИРКУЛЮЮЧІ мікроРНК: ПЕРСПЕКТИВИ ВИКОРИСТАННЯ ДЛЯ РАННЬОЇ ДІАГНОСТИКИ ТА МОНІТОРИНГУ ПЕРЕБІГУ ПУХЛИННОГО ПРОЦЕСУ

МікроРНК — це невеликі некодуючі РНК довжиною 21–22 нуклеотиди, які беруть участь у посттранскрипційній регуляції експресії генів. Сьогодні уже відомо понад 2500 мікроРНК, і цей список постійно зростає. Значна частина досліджень останніх років присвячена вивченню змін експресії мікроРНК при виникненні різних патологічних станів організму, в тому числі онкологічних захворювань. Проаналізовано та узагальнено результати власних досліджень та дані літератури щодо можливості використання мікроРНК як діагностичних і прогностичних маркерів найпоширеніших злоякісних новоутворень. Обговорено перспективи застосування панелей циркулюючих мікроРНК для моніторингу перебігу пухлинного процесу та для визначення чутливості пухлин різного гістогенезу до медикаментозного лікування. На сьогодні вже ідентифіковано мікроРНК, яким притаманна висока діагностична чутливість і специфічність щодо більшості злоякісних новоутворень; при успішному проходженні клінічних випробувань визначення таких мікроРНК може бути впроваджено в медичну практику як мінімально інвазивний тест.

Проблема своєчасного виявлення онкологічної патології зумовлена не тільки її безсимптомним розвитком, а й відсутністю надійних критеріїв, що сприяють ранній діагностиці злоякісних новоутворень (ЗН). Ефективним шляхом покращення результатів лікування, а відповідно — і зниження смертності від ЗН є розроблення програм ранньої діагностики раку. Впроваджені в Україні скринінгові дослідження проводяться з використанням низки клінічних, радіологічних та лабораторних тестів, які дозволяють констатувати наявність раку на стадії клінічних проявів. Існує необхідність пошуку інформативних доклінічних показників і розроблення підходів для скринінгу та більш ранньої діагностики поширених ЗН.

Перешкодою на шляху ефективного лікування ЗН є також відсутність системи показників для прогнозування перебігу пухлинного процесу та моніторингу ефективності медикаментозної терапії. Завдяки прогресу молекулярно-генетичних досліджень накопичено переконливу інформацію щодо гетерогенності та патогенетичного різноманіття новоутворень, що робить принципово важливою їх детальну молекулярну характеристику, включаючи визначення нових біологічних маркерів. Сучасним трендом у лікуванні хворих на рак є розробка неінвазивних прогностичних процедур з використанням існуючих методів молекулярного аналізу — аналіз біологічних рідин, передусім периферичної крові (ПК) [1, 2]. Такий підхід не потребує матеріалу, отриманого безпосередньо з пухлинної тканини, і не обмежується локалізацією ЗН [3].

Особлива увага приділяється дослідженню мікроРНК, оскільки вони є основними регуляторами генів, задіяних у канцерогенезі [4]. В нормі мікроРНК беруть участь у багатьох життєво важливих процесах (проліферація, диференціювання, апоптоз, регуляція імунної відповіді тощо). У 2008 р. з'явилися перші роботи, в яких мікроРНК розглядали як перспективний біомаркер для діагностики онкологічних захворювань. Експресію низки мікроРНК пов'язують з ініціацією та прогресією деяких типів ЗН, а також їх чутливістю до медикаментозної терапії [3, 5]. Окрім цього, мікроРНК виступають як паракринні та аутокринні регулятори пухлинного мікрооточення, впливають на формування метастатичних ніш і вважаються одним із основних медіаторів паранеопластичних синдромів. На сьогодні вже ідентифіковано мікроРНК, які відповідають за розвиток пухлини, її прогресування, в тому числі виникнення метастазів та епітеліально-мезенхімального переходу, що робить їх перспективними прогностичними та діагностичними маркерами [6]. Суттєву перевагу перед іншими біомаркерами вони мають внаслідок тканинної специфічності та стабільності як в пухлинній тканині, так і в біологічних рідинах (кров, лімфа, сеча, сльози, грудне молоко тощо). Завдяки малим розмірам вони є високостабільними не лише в умовах організму, а і *ex vivo* у зразках клінічного матеріалу, який можна транспортувати і зберігати без спеціального обладнання [7]. Основним методом визначення рівнів мікроРНК є метод полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) в реальному часі, який є відносно

недорогим та високочутливим, що широко використовується у рутинній лабораторній практиці. Все вищенаведене робить мікроРНК практично ідеальним біомаркером, який може широко застосовуватись у клінічній практиці, оскільки не потребує додаткового устаткування та навчання персоналу.

БІОГЕНЕЗ ТА МЕХАНІЗМИ ДІЇ мікроРНК

МікроРНК — це малі некодуючі РНК довжиною приблизно 22 нуклеотиди, які регулюють рівень експресії матричних РНК (мРНК) шляхом взаємодії (інтерференції) з їх специфічними регіонами. МікроРНК забезпечують деградацію мРНК і, таким чином, знижують рівень експресії таргетних білків завдяки зв'язуванню з 3′-некодуючим регіоном мРНК [8]. МікроРНК кодуються генами, перший з яких (*lin-4*) виявлений у 1993 р. вченими Гарвардського університету під час вивчення механізмів розвитку відомого модельного організму — нематоди *Caenorhabditis elegans* [9]. Але після цього важливого відкриття майже десятиліття вважалося, що ці невеликі РНК притаманні тільки нематодам. Лише у 2002 р. завдяки подальшим дослідженням стало зрозуміло, що короткі молекули РНК належать до великого класу важливих регуляторних РНК рослинних і тваринних організмів. Саме у той час науковці почали використовувати термін мікроРНК. Тоді було відомо близько 200 мікроРНК [10], а нині їх кількість уже перевищує 2500 [http://www.mirbase.org/]. Мішенями мікроРНК є значна кількість генів — щонайменше третина геному. Раніше вважалося, що мікроРНК наявні лише у багатоклітинних організмів, але ці молекули РНК виявлені й в одноклітинних еукаріотів — у зелених водоростей *Chlamydomonas reinhardtii*. Наявність мікроРНК у таких примітивних організмів свідчить про великий еволюційний вік цієї групи молекул [11–13].

Щоб стати активним інгібітором синтезу білків на посттранскрипційному рівні, кожна мікроРНК повинна пройти багатоетапний процес дозрівання. У геномі людини мікроРНК синтезуються спеціальним білком — РНК-полімеразою II. Спочатку утворюються довгі молекули попередника мікроРНК, що можуть містити у своїй послідовності одну чи декілька мікроРНК. Потім комплекс білків (основні з них: РНКаза III Drosha, DGCR8/Pasha) робить неточні розрізи на первинній молекулі. З частин розрізаної первинної мікроРНК утворюються пре-мікроРНК. Їх впізнає та транспортує у цитоплазму білок експортин-5 — ядерний експортуючий фактор. У цитоплазмі білок Dicer розрізає пре-мікроРНК до двоспіральних мікроРНК довжиною 18–24 нуклеотиди [14]. Один із ланцюгів мікроРНК є комплементарним ділянці мРНК певного білкового гена. МікроРНК взаємодіють за допомогою 6–8 нуклеотидів на своєму 5′-кінці з цільовою мРНК. Ця ділянка мікроРНК отримала назву «seed»-ділянки (від англ. *seed* — насіння, зерно) і є високо консервативною для однієї родини мікроРНК у різних видів тварин і рослин. МікроРНК зв'язується з білками комплексу RISC і спрямовує їх до мРНК-мішені. Результатом взаємодії мікроРНК з мРНК може бути посттранскрипційна деградація останньої чи зупинка білкового синтезу. Селективна деградація мРНК за участю мікроРНК — один із основних механізмів регуляції рівня експресії генів про- та еукаріотичних клітин [15, 16].

Гени мікроРНК еволюційно консервативні й розміщені по всьому геному (у деяких ділянках зібрані у специфічні кластери). Вони розташовані у «фрагільних сайтах» хромосом, де часто відбуваються делеції, інсерції, точкові розриви, транслокації, транспозиції, ампліфікації, що робить ці гени вразливою ланкою при формуванні мутаторного фенотипу [17–18]. МікроРНК регулюють понад 30% генів людини, що беруть участь у багатьох життєво важливих процесах. Саме тому порушення регуляції мікроРНК може впливати на всі стадії канцерогенезу — від виникнення ЗН до його прогресії [18].

МікроРНК ЯК БІОМАРКЕРИ КАНЦЕРОГЕНЕЗУ

Значна частина досліджень останніх років присвячена вивченню змін експресії мікроРНК при виникненні різних патологічних станів організму, в тому числі онкологічних захворювань. Вперше активну участь мікроРНК в розвитку ЗН було виявлено для генів мікроРНК-15 і -16, що знаходяться в хромосомному регіоні 13q14. Визначено, що у 68% пацієнтів із хронічною В-лімфоцитарною лейкемією спостерігається делеція або репресія цих генів [19, 20]. Подальші дослідження показали, що при більшості онкологічних захворювань (рак легені, лейкемія, рак молочної залози тощо) рівень експресії мікроРНК у злоякісно трансформованих клітинах значно відрізняється від рівня мікроРНК у відповідних клітинах в нормі [21].

Оскільки таргетними для багатьох мікроРНК є мРНК білків-регуляторів транскрипції, клітинної проліферації та апоптозу, то аномальні зміни експресії таких мікроРНК сприяють виникненню і прогресії ЗН. Делеції, ампліфікації або мутації локусів мікроРНК, епігенетичне пригнічення експресії генів, порушення експресії транскрипційних факторів або інгібування процесингу можуть бути наслідком зміни експресії мікроРНК [22].

Відомо, що ЗН характеризуються неконтрольованим поділом клітин, фенотип яких формується внаслідок порушення експресії різних генів. Порушення експресії мікроРНК може бути наслідком мутації або метилювання відповідних генів. Загальний рівень мікроРНК у більшості пухлин суттєво знижений порівняно із відповідними нормальними тканинами. Але на фоні загального зниження рівня експресії мікроРНК у клітинах ЗН виявляється патологічне підвищення рівня окремих мікроРНК. Залежно від ролі у канцерогенезі одна і та ж мікроРНК може бути і онкогенною, і онкосупресорною залежно від таргетного гена (відповідно онкосупресорного гена чи онкогена), а також від гістологічного походження кліт-

тин, в яких вона експресується. Підвищення рівня онкогенних мікроРНК призводить до збільшення проліферації, інвазії, ангіогенезу і/або знижує активність апоптозу та рівень диференціювання, що спричиняє утворення ЗН. Зростання експресії онкосупресорних мікроРНК, навпаки, інгібує ріст і міграцію пухлинних клітин, стимулює індукцію апоптозу. Згідно з даними літератури, а також за результатами власних досліджень [23, 24], при різних типах раку експресується набір певних мікроРНК, зміна співвідношення яких корелює з прогресією ЗН. Саме тому визначення рівня тканиноспецифічних онкогенних і онкосупресорних мікроРНК є потенційно важливим для ранньої диференційної діагностики онкологічних захворювань, а також для прогнозування перебігу пухлинного процесу [25].

Численними дослідженнями останніх років доведено, що розвиток ЗН супроводжується зміною співвідношення мікроРНК не тільки у клітинах пухлини, а й у біологічних рідинах (циркулюючі мікроРНК) [26]. Ці мікроРНК забезпечують міжклітинну та віддалену комунікацію пухлини й організму, а також беруть участь у системній відповіді на розвиток новоутворення. Хоча циркулюючі мікроРНК виявляються і в нормі, при наявності ЗН їх рівні суттєво змінюються. Циркулюючі мікроРНК є стабільними — вони включені в ліпопротеїнові комплекси, апоптотичні тіла, мікровезикули або екзосоми, що захищають їх від нуклеаз. Завдяки таким властивостям мікроРНК легко виявити рутинними молекулярно-лабораторними методами. Стабільність цих молекул та зміни рівня експресії при онкогенезі дозволяють широко використовувати їх як маркери для ранньої діагностики деяких форм ЗН [2, 25, 27].

ДІАГНОСТИЧНА ЕФЕКТИВНІСТЬ ТА ПЕРСПЕКТИВИ ВИКОРИСТАННЯ ЦИРКУЛЮЮЧИХ мікроРНК ДЛЯ ДІАГНОСТИКИ НАЙПОШИРЕНІШИХ ЗН

Отримані сьогодні експериментальні дані, а також результати клінічних спостережень дозволили охарактеризувати зміни профілю циркулюючих мікроРНК при розвитку таких ЗН, як рак молочної залози (РМЗ), передміхурової залози (РПЗ), шлунка (РШ), рак яєчника (РЯ), ендометрія, печінки (РП), астроцитома, аденокарцинома і недрібноклітинний рак легені (НДРЛ) [28–36] тощо.

Рак легені (РЛ) займає перше місце у структурі захворюваності на ЗН і є основною причиною смертності від ЗН населення чоловічої статі практично в усіх країнах світу [36, 37]. З початку XX ст. захворюваність на рак цієї локалізації підвищилася в десятки разів, особливо помітне таке зростання в індустріально розвинених країнах [38]. Згідно з даними літератури, рівні мікроРНК-21–5p, -20a-5p, -141–3p, -145–5p, -155–5p, -223–3p у плазмі ПК значно підвищені у хворих на НДРЛ I та II стадії [39–40]. Встановлено також, що ефективність використання циркулюючих мікроРНК-126–3p, -182–5p, -183–5p і -210–3p для ранньої діагностики НДРЛ є набагато вищою порівняно з використанням маркера СЕА [41]. Іншими дослідниками виявлено, що характерною ознакою початкових стадій НДРЛ є підвищення вмісту мікроРНК-21, -125 і -574–5p в ПК пацієнтів порівняно з аналогічними показниками умовно здорових донорів. Специфічність визначення зазначених мікроРНК для диференційної діагностики такої гістологічної форми РЛ становить 82%, чутливість — 77% [42]. Подібні рівні чутливості та специфічності при використанні ПЛР у реальному часі встановлено і при комбінованому визначенні для малоінвазивної діагностики НДРЛ трьох інших мікроРНК: -155, -197 і -182. Таким чином, на сьогодні вже ідентифіковано панелі мікроРНК, що дозволяють з високою точністю проводити диференційну діагностику ранніх стадій НДРЛ [35, 42].

Найпоширенішим ЗН у жінок є РМЗ. В усьому світі частота виникнення РМЗ має чітку тенденцію до підвищення [36]. Вагомим фактором, що визначає успіх лікування РМЗ, є ступінь поширеності пухлинного процесу на момент встановлення діагнозу. Однак не менше ніж у 50% хворих при першому зверненні до лікаря виявляється інвазивний локальний ріст пухлини або метастази у віддалених органах. У зв'язку з цим актуальною проблемою є розроблення методів раннього виявлення РМЗ, що дозволить проводити радикальне лікування і підвищити його ефективність [43]. Згідно з даними наукових досліджень останніх років, рівень експресії мікроРНК-195 у крові хворих на РМЗ в десятки разів перевищує такий у ПК умовно здорових донорів. Щодо асоціації зі злоякісним ростом у молочній залозі мікроРНК-195 свідчать також факти щодо значного зниження її рівня після оперативного втручання. При цьому показники експресії цієї мікроРНК корелюють із такими критеріями злоякісності, як наявність метастазів у регіонарних лімфатичних вузлах і відсутність експресії рецепторів естрогену у пухлинних клітинах. Отже, цю мікроРНК можна розглядати як потенційний біомаркер для виявлення РМЗ [35].

При дослідженні патернів експресії 1100 мікроРНК відокремлено 59, експресія яких у ПК хворих на РМЗ істотно відрізняється від показників умовно здорових донорів. При цьому експресія 13 з цих мікроРНК значно підвищена, інших — істотно знижена. Специфічність використання ідентифікованої панелі мікроРНК для ранньої діагностики РМЗ — 78,8%, чутливість — 92,5% [29, 35]. Розвиток початкових стадій РМЗ супроводжується доклінічним підвищенням експресії низки мікроРНК у ПК, зокрема мікроРНК-642b-3p, -1202–5p, -1207–5p, -1225–5p, -4270–5p і -4281–3p [44]. Отримано дані щодо ефективності використання для ранньої діагностики РМЗ панелі з чотирьох мікроРНК (-1, -92a, -133a, -133b) [45]. Доцільність використання мікроРНК для ранньої діагностики РМЗ підтверджена і даними власних досліджень. Нами встановлено, що суттє-

ве зниження рівня мікроРНК-200b та -122 у ПК спостерігається у більшості (85 та 93% відповідно) хворих на РМЗ початкової стадії [46, 47].

Доведено, що використання панелі мікроРНК (-145, -155 і -382) дозволяє з високою чутливістю і специфічністю (97,6 і 100,0% відповідно) проводити не тільки малоінвазивне виявлення ранніх стадій РМЗ, а й диференційну діагностику доброякісних та ЗН молочної залози [48]. В іншому клінічному спостереженні визначено, що оцінка рівня циркулюючих у крові мікроРНК-10b, -34a і -155 дозволяє проводити диференційну діагностику РМЗ пізніх стадій [49]. Таким чином, виявлення та оцінка рівня експресії певних мікроРНК у крові стає новим напрямком в діагностиці (в тому числі диференційній) ранніх та пізніх стадій РМЗ.

Не менш важливою проблемою сьогодення є РПЗ, зростання захворюваності на який в останні роки зафіксовано як у світі загалом, так і в Україні [36, 50]. Зазвичай хворобу діагностують у пізніх стадіях, внаслідок чого також зростає смертність. Зокрема, в Україні понад 25% хворих помирають вже протягом першого року після встановлення діагнозу [51]. З огляду на це важливим завданням є рання діагностика РПЗ. Згідно з даними літератури у крові хворих на РПЗ виявляється суттєве підвищення експресії мікроРНК-141 (специфічність — 100%, клінічна чутливість — 60%) [52]. Одночасне визначення експресії мікроРНК-26a, -32, -195 і -let7i дозволяє розрізняти хворих на РПЗ від хворих із доброякісною гіперплазією передміхурової залози (ДГПЗ). Зазначимо, що після резекції пухлини рівень всіх наведених мікроРНК повертається до норми [53].

Було визначено чотири мікроРНК, рівень яких у секреті передміхурової залози (ПЗ) пацієнтів з РПЗ був або значно знижений (мікроРНК-221, -133b, -361–3p), або значно підвищений (мікроРНК-203). ROC-аналіз показав високу діагностичну цінність ідентифікованої панелі для диференційної діагностики РПЗ і ДГПЗ: площа під ROC-кривої становила 0,95 (в той час як для простатичного специфічного антигену (ПСА) площа під ROC-кривою — 0,46) [54]. Можливість використання циркулюючих мікроРНК для диференційної діагностики РПЗ і ДГПЗ підтверджена і даними власних досліджень. Зокрема, нами встановлено, що при розвитку новоутворень ПЗ відбувається зниження рівнів мікроРНК-126 з паралельним підвищенням показників мікроРНК-205 і -214 у ПК хворих. Виявлено, що рівень експресії мікроРНК-126 у хворих на ДГПЗ і РПЗ був у 2,7 і 5,5 раза нижчий за аналогічні показники умовно здорових донорів. Показники експресії мікроРНК-205 у хворих на РПЗ були підвищені порівняно з нормою, проте у 1,8 раза нижчі порівняно з хворими на ДГПЗ. Рівень експресії мікроРНК-214 у хворих на РПЗ (1,11 ± 0,23 ум. од.) був значно підвищений порівняно як зі здоровими особами, так і з хворими на ДГПЗ (у 3,7 та 2,0 раза відповідно) [55]. Подальші дослідження наведеної панелі мікроРНК дозволять встановити можливість їх використання як додаткового діагностичного та прогностичного маркера з метою зменшення помилково-позитивних результатів (гіпердіагностики) при РПЗ.

РШ займає верхні сходинки у структурі захворюваності, особливо смертності від ЗН; характеризується агресивним перебігом пухлинного процесу [56]. Встановлено, що рівень циркулюючої мікроРНК-378 у хворих на РШ як на ранніх, так і на пізніх стадіях захворювання значно перевищує аналогічні показники в сироватці крові умовно здорових донорів. ROC-аналіз показав, що чутливість і специфічність запропонованого тесту становить 87,5 і 70,7% відповідно. Отримані результати свідчать, що використання мікроРНК може бути корисним при розробленні панелей біомаркерів для ранньої діагностики РШ [57]. Для поліпшення діагностики раннього РШ запропоновано використовувати мікроРНК-199a-3p [58, 59]. Її рівень у ПК пацієнтів з раннім РШ був значно вищий, ніж у здорових донорів і пацієнтів з передраковими захворюваннями шлунка; чутливість, специфічність і точність становили відповідно 76,0; 74,0 і 75,0%. Наведені дані свідчать про перспективність використання зазначених мікроРНК для диференційної діагностики захворювань шлунка.

Ще однією онкологічною патологією, яка переважно розвивається безсимптомно та діагностується на пізніх стадіях, є РЯ [36]. За даними ВООЗ щорічно у світі реєструють 225 тис. нових випадків РЯ, і щорічно вмирають від цієї патології 140 тис. жінок [60]. Крім того, простежується зростання захворюваності серед жінок віком до 40 років, особливо помітне у пацієнток вікової категорії до 29 років [61]. Збільшення кількості поширених форм РЯ зумовлює високу смертність хворих впродовж року після встановленого діагнозу внаслідок розвитку місцевих рецидивів і віддалених метастазів [50]. Згідно з даними літератури, характерною ознакою виникнення РЯ є підвищення рівня циркулюючих мікроРНК-92, -21, -15a, -155, -200 та -210 у ПК хворих на тлі значного зниження показників експресії мікроРНК родини let-7 [62]. Крім того, встановлено, що вже на ранніх стадіях цієї патології у пацієнтів визначається зниження експресії мікроРНК-31 в сироватці крові [63]. За результатами іншого дослідження, проведеного за участю великої когорти хворих та умовно здорових донорів, запропоновано використовувати для ранньої діагностики РЯ панель таких мікроРНК: -21, -92, -29a, -93, -126, -99b, -127 та -155. Доведено, що використання саме цієї панелі мікроРНК дозволяє з високою точністю та специфічністю (до 87,0%) діагностувати РЯ ще до появи його клінічних ознак [64]. Виявлено також, що циркулюючі мікроРНК можна використовувати для диференційної діагностики РЯ пізніх стадій. Характерною ознакою розповсюдженого РЯ є значне зниження рівня таких мікроРНК, як -34 a/b/c, -449b, -503 та -507 [65, 66]. Наведені дані підтверджують участь циркулюючих мікроРНК у розвитку та прогресії РЯ.

Отже, на сьогодні вже встановлені профілі експресії та визначені панелі циркулюючих мікроРНК, які асоційовані із виникненням найпоширеніших ЗН. Подальше вивчення зміни співвідношення мікроРНК в біологічних рідинах організму при розвитку та прогресії різних нозологічних форм раку дозволить розширити розуміння механізмів канцерогенезу та ідентифікувати нові терапевтичні мішені.

ПЕРСПЕКТИВИ ВИКОРИСТАННЯ ЦИРКУЛЮЮЧИХ мікроРНК ДЛЯ ВИЗНАЧЕННЯ ЧУТЛИВОСТІ ДО МЕДИКАМЕНТОЗНОЇ ТЕРАПІЇ ТА МОНІТОРИНГУ ПУХЛИННОГО ПРОЦЕСУ

Сьогодні, окрім застосування імуногістохімічного методу та FISH-аналізу, розроблено низку підходів для прогнозування перебігу процесу у хворих на рак та чутливості ЗН до терапевтичних впливів [67, 68]. Зокрема, молекулярні та геномні дослідження використовуються для генотипування багатьох видів солідних пухлин у тому разі, якщо стандартні методи лікування раку виявилися неефективними. Проте незважаючи на інформативність, ці методи мають обмеження — матеріал новоутворення неможливо використовувати для моніторингу пухлинного процесу та оцінки ефективності лікування, а також для оцінки змін характеристик пухлинних клітин у процесі лікування. Ці питання можуть бути вирішені при встановленні та використанні маркерів, що циркулюють у рідинах організму. Багаточисленними фундаментальними дослідженнями останніх років, а також клінічними спостереженнями встановлено, що показники циркулюючих мікроРНК є не менш інформативними прогностичними параметрами, ніж експресія їх білків-мішеней у клітинах первинної пухлини.

Зокрема, хіміорадіотерапія є основним методом лікування пацієнтів із НДРЛ, особливо на пізніх стадіях, однак ефективність її застосування значно варіює. В дослідах *in vitro* показано, що розвиток фенотипу медикаментозної резистентності до низки засобів хіміотерапії (ХТ) (таксанів, похідних платини, антрациклінів та ін.) супроводжується зміною співвідношення таких мікроРНК, як -210, -34a, -196a [69]. На основі аналізу мікрочіпів встановлено, що, використання панелі з 4 мікроРНК (-1290, -2861, -25–5p та -92a-1–5p) дозволяє прогнозувати чутливість РЛ до радіотерапії з точністю до 83,4% [70]. Власними дослідженнями підтверджено дані, отримані в дослідах *in vitro*, щодо можливості використання мікроРНК-210, -126, -21 для прогнозування чутливості РЛ до деяких цитостатиків. Так, нами встановлено, що хворі на РЛ з високими рівнями мікроРНК-210 в ПК гірше реагують на терапію пеметрекседом. Водночас у 81,2% пацієнтів з рівнем цієї мікроРНК нижче 0,3 ум. од. після терапії зазначеним цитостатиком відзначають стабілізацію чи регресію новоутворень. Також у 76,2% хворих на РЛ з високими рівнями циркулюючої мікроРНК-126 визначають відсутність відповіді на терапію бевацизумабом, а низький рівень циркулюючої мікроРНК-21, незалежно від проведеного лікування та ступеня поширеності пухлинного процесу, асоціюється з позитивною відповіддю новоутворень легені на терапію фторпіримідинами.

Терапія РМЗ включає неоад'ювантний та ад'ювантний режими; за наявності гормональних рецепторів (рецепторів естрогенів) у пухлинній тканині застосовують гормональні препарати. Найчастіше у пацієнток із РМЗ застосовують циклофосфамід та флуороурацил, антрацикліни, таксани в різних комбінаціях. Висока питома вага РМЗ у структурі онкологічної захворюваності та смертності від ЗН жіночого населення практично в усіх країнах світу зумовила активний пошук мікроРНК, асоційованих з розвитком резистентності цієї форми раку. На сьогодні для РМЗ уже розроблено низку панелей мікроРНК, які ефективно застосовують у клінічній практиці. Зареєстровано понад 1026 патентів щодо використання циркулюючих мікроРНК як маркерів чутливості РМЗ до медикаментозної терапії.

За результатами експериментальних досліджень порушення експресії мікроРНК-451, -145, -298, -200c, -326 у клітинах РМЗ викликає активацію гена *MDR1* і спричиняє зниження чутливості до антрациклінів [71]. Аналіз експресії мікроРНК-221 у плазмі крові хворих на РМЗ свідчить, що пацієнтки з високими рівнями зазначеної мікроРНК демонструють гіршу відповідь на неоад'ювантну поліхіміотерапію (НПХТ) антрациклінами і таксанами [72]. Про високу ефективність НПХТ на основі таксанів і антрациклінів свідчить підвищений рівень мікроРНК-4530 у сироватці крові [74]. Іншими дослідниками встановлено, що відповідь РМЗ на ХТ антрациклінами і таксанами дозволяє з високою точністю прогнозувати показники циркулюючих мікроРНК-125b, -19a і -205 [75, 76], а також панель мікроРНК-200a, -210, -451 (у хворих на розповсюджений РМЗ) [77].

Доцільність використання циркулюючих мікроРНК для визначення чутливості РМЗ до НПХТ підтверджується і даними власних досліджень. Зокрема, рівень мікроРНК-320a та -200b в сироватці крові хворих на РМЗ корелює з відповіддю на НПХТ за схемою АС (доксорубіцин + циклофосфамід). У хворих із чутливими до лікування пухлинами середні рівні циркулюючих мікроРНК-320a та -200b були високими і становили 1,1 ± 0,7 та 0,8 ± 0,5 ум. од., в той час як у пацієнток з резистентними новоутвореннями ці показники були набагато меншими і дорівнювали 0,5 ± 0,4 та 0,5 ± 0,4 ум. од. відповідно [78]. Поряд з цим, нами встановлено асоціативний зв'язок високих рівнів циркулюючих мікроРНК-122 та -200b із позитивною відповіддю РМЗ на НПХТ за схемами FAC та AC [17].

Особливістю новоутворень ПЗ є те, що в більшості випадків вони є чутливими до терапії андрогенами, проте дана стратегія лікування, як правило, викликає тимчасову регресію новоутворень та призводить до розвитку гормонрезистентності. У випадку гормон-рефрактерного РПЗ препаратами вибо-

ру є таксани — доцетаксел та кабазитаксел. Актуальність визначення чутливості гормон-рефрактерного РПЗ до даних препаратів зумовила активний пошук циркулюючих мікроРНК, які б мали достатню специфічність та чутливість. В 2009 р. опубліковано дані, згідно яким циркулююча мікроРНК-21 відіграє значну роль у патогенезі РПЗ, а підвищення її експресії асоціюється зі стійкістю до гормональної терапії. Подальші дослідження довели, що визначення циркулюючої мікроРНК-21 дозволяє з високою точністю прогнозувати ефективність терапії таксанами у хворих на гормон-рефрактерний РПЗ. Встановлено також, що з чутливістю гормон-рефрактерних новоутворень до ХТ зворотньо корелює зниження експресії в плазмі крові хворих на РПЗ членів родини мікроРНК-17 (мікроРНК-20a, -20b) [79–82]. Власними дослідженнями підтверджено значення циркулюючої мікроРНК-21 для оцінки чутливості гормон-рефрактерного РПЗ до таксанів. Поряд з цим нами показано, що високі рівні мікроРНК-205 також асоційовані з чутливістю пухлин ПЗ до доцетакселу. Доведено, що визначення показників циркулюючих мікроРНК-21 та -205 дозволяє проводити моніторинг ефективності лікування доцетакселом.

Одним зі стандартів лікування хворих на РШ є застосування ад'ювантної ХТ. В клінічній практиці найбільш часто використовують фторпіримідини, а також комбінацію похідних платини з фторпіримідинами. Більшість досліджень ролі мікроРНК в формуванні резистентності цієї нозологічної форми раку проведена на операційному матеріалі. Лише в останні 5 років розпочались активні дослідження інформативності циркулюючих мікроРНК щодо зв'язку з розвитком резистентності пухлин шлунка до ХТ та прогнозування її ефективності у хворих на РШ. Перше подібне дослідження в 2011 р. встановило, що рівні мікроРНК-363, -519e та -520d у ПК пацієнтів з РШ асоційовані з відповіддю на терапію цисплатином та флуороурацилом [82]. У 2014 р. проведено комплексний аналіз рівнів пухлинних та сироваткових мікроРНК у хворих на РШ на різних етапах лікування. Виявлено, що рівні мікроРНК-let-7g, -342, -16, -181, -1 та -34 дозволяють з високою точністю прогнозувати чутливість до ХТ похідними платини та фторпіримідинами, а також проводити моніторинг її ефективності в процесі лікування [83]. Доцільність дослідження циркулюючих мікроРНК для прогнозування медикаментозного лікування РШ підтверджена даними власних досліджень. Зокрема, нами доведено ефективність використання показників експресії мікроРНК-21, -182, -205 у ПК хворих для визначення чутливості РШ не тільки початкових, але і пізніх стадій до гемцитабіну ($r = -0,68, -0,71, 0,51$) та флуороурацилу ($r = -0,69, -0,68, 0,72$).

Сучасні протоколи лікування РЯ включають в себе препарати платини, таксани, гемцитабін, інгібітори топоізомерази, бевацизумаб, циклофосфамід та ін. [84]. На сьогодні вже доведено роль і клінічну значущість деяких мікроРНК у чутливості злоякісних пухлин яєчника до медикаментозної терапії. Так, встановлено зв'язок експресії мікроРНК родин мікроРНК-let-7 та мікроРНК-200 у пухлинних клітинах яєчника з чутливістю до терапії паклітаксел + цисплатин. Показано також, що порушення експресії мікроРНК-214, -130a, -27a та -451 у клітинах РЯ асоційоване з розвитком резистентності до циклофосфаміду; зниження рівнів мікроРНК-126 корелює з розвитком резистентності до бевацизумабу. Ці дані були неодноразово підтверджені, й на сьогодні розпочато розроблення підходів до таргетної терапії. Поряд з цим значення циркулюючих мікроРНК у пухлинному процесі цієї локалізації до кінця не визначене [85, 86]. Однією зі спроб валідувати показники циркулюючих мікроРНК як маркера чутливості РЯ до терапії є дослідження [87], авторами якого встановлено, що висока експресія циркулюючих has-мікроРНК-27a, -23a, -30c, -let-7g та -199a-3p у сироватці крові хворих свідчить про резистентність пухлини до препаратів платини.

Таким чином, існуючі на сьогодні дані є підтвердженням доцільності використання циркулюючих мікроРНК для визначення чутливості найпоширеніших солідних ЗН до ХТ антинеопластичними препаратами різних класів.

Останніми роками в літературі активно обговорюється можливість прогнозування перебігу/моніторингу пухлинного процесу з використанням циркулюючих мікроРНК.

Одним з перших доказів зв'язку рівнів циркулюючих мікроРНК з особливостями перебігу ЗН стали результати досліджень [88, 89], в яких виявлено асоціацію мікроРНК-155 та -let-7a у сироватці крові хворих з ризиком прогресування РЛ. У 2004 р. підтверджено ці дані та визначено, що зменшення експресії мікроРНК-let-7 корелює з низькими показниками виживаності хворих на РЛ [90]. Проведений у 2014 р. метааналіз продемонстрував, що низька експресія мікроРНК-let-7 асоціюється з несприятливим перебігом РЛ і може бути використана як додатковий прогностичний чинник [91]. Іншими дослідниками показано, що рівні мікроРНК-155 прямо корелюють з низькими показниками безрецидивної виживаності хворих на НДРЛ [92]. Виявлено також, що у хворих на РЛ гіперекспресія мікроРНК-423–3p у сироватці крові асоційована з метастазами в регіонарних лімфатичних вузлах, пізніми стадіями захворювання та з несприятливим перебігом хвороби. Результати багатофакторного регресійного аналізу за Коксом показали, що мікроРНК-423–3p може бути використана як незалежний прогностичний чинник. Результати функціональних аналізів встановили, що підвищення рівня мікроРНК-423–3p спричиняє проліферацію, міграцію та інвазію клітин РЛ [93]. У сироватці крові пацієнтів з початковими стадіями РЛ визначається високий рівень експресії мікроРНК-182, тоді як у хворих на пізній стадії — підвищені рівні мікроРНК-126 [94]. В іншому дослідженні ідентифіковано профіль експресії циркулюючих мікроРНК, асоційований з агресивним перебігом РЛ та низькими показ-

никами виживаності хворих. Встановлено, що характерною ознакою РЛ високого ступеня злоякісності є висока експресія мікроРНК-125b, -21, -141, -200c, -197, -41, -370, -376α, -192 і -662 на тлі низьких показників експресії мікроРНК-26b, -381, -146α, -148α, -204, -374α, -638 і -148b у сироватці крові хворих [95].

Застосування мікрочіпів для комплексного профілювання мікроРНК у сироватці крові хворих на РМЗ, а також велика кількість робіт, сфокусованих на вивченні окремих мікроРНК як прогностичних маркерів цієї патології дозволили накопичити великий обсяг валідованих даних. Зокрема, встановлено, що експресія мікроРНК-30 пов'язана із рецепторним статусом РМЗ, а експресія мікроРНК-213 і -203 зі стадією пухлинного процесу [96]. Показано, що визначення рівня панелі циркулюючих мікроРНК-21, -126, -155, -199a і -335 може бути використано для ідентифікації гістологічного типу РМЗ та його рецепторного статусу [97]. Рівень експресії мікроРНК-106b у сироватці крові хворих корелює з такими показниками злоякісності РМЗ, як розмір пухлини, наявність метастатичного ураження, а також із низькою загальною і безрецидивною виживаністю хворих [98]. Іншими дослідниками встановлено, що визначення показників експресії мікроРНК-21 дозволяє з високою вірогідністю прогнозувати виникнення віддалених метастазів у хворих на РМЗ [99]. Поряд з цим показано, що підвищення рівня експресії циркулюючої мікроРНК-451 виявляється у крові хворих на РМЗ з низьким ризиком розвитку рецидивів та сприятливим перебігом захворювання, що підтверджує онкосупресорні властивості цієї мікроРНК [100].

Власними дослідженнями підтверджено зв'язок експресії мікроРНК-200b та -122 у сироватці крові хворих зі ступенем розповсюдженості РМЗ і показниками виживаності хворих. Показано, що зниження рівня мікроРНК-200b та -122 корелює зі збільшенням стадії захворювання ($r = -0,38$, $r = -0,29$ відповідно). Доведено кореляцію експресії мікроРНК-200b та -122 з наявністю метастазів у регіонарних лімфатичних вузлах ($r = -0,46$, $r = -0,40$ відповідно), а також із розвитком віддалених метастазів ($r = 0,36$, $r = -0,39$ відповідно) ($p < 0,05$). Визначено кореляційний зв'язок досліджених мікроРНК та молекулярного підтипу РМЗ: підвищення рівня циркулюючих мікроРНК-200b ($r = 0,43$) та -122 ($r = -0,46$) є характерною ознакою люмінального А підтипу, тоді як найнижчі рівні досліджених мікроРНК відзначено у групі з тричі негативним (базальним) підтипом РМЗ (експресія мікроРНК-200b у 8,0 раза, -122 — у 5,4 раза нижче порівняно з іншими підтипами).

Профіль експресії мікроРНК в сироватці та плазмі крові є перспективним інструментом і для моніторингу перебігу РПЗ [101]. При дослідженні 547 циркулюючих мікроРНК ідентифікували панель з 15 мікроРНК (-16, -92a, -103, -107, -197, -34b, -328, -485–3p, -486–5p, -92b, -574–3p, -636, -640, -766, -885–5p), що асоційована зі ступенем розповсюдженості пухлини та показниками безрецидивної виживаності хворих на РПЗ [101, 102]. Отримано дані, що свідчать про позитивну кореляцію рівня циркулюючої мікроРНК-1825 зі ступенем злоякісності РПЗ та вказують на можливість її використання для моніторингу перебігу захворювання [103]. Встановлено також, що показники експресії мікроРНК-205 можуть бути додатковим маркером, який дозволяє з високою чутливістю та специфічністю (77,8 і 100,0% відповідно) визначати наявність віддалених метастазів [103].

Перспективність використання показників експресії мікроРНК для прогнозування перебігу РПЗ також підтверджено даними власних досліджень. Зокрема, встановлено, що рівні мікроРНК-205 та -214 у пацієнтів з РПЗ II стадії ($2,36 \pm 0,30$ та $0,75 \pm 0,2$ ум. од. відповідно) були в 1,6 та 2,0 раза вищими порівняно з такими у хворих на РПЗ III стадії ($3,76 \pm 0,37$ та $1,48 \pm 0,34$ ум. од. відповідно). Залежність експресії мікроРНК-126 від стадії ЗН мала зворотний характер, а саме — її рівень поступово знижувався: від $0,13 \pm 0,02$ до $0,06 \pm 0,02$ ум. од. зі зростанням стадії РПЗ. Продемонстровано, що показники експресії мікроРНК-126 у сироватці крові пацієнтів без метастазів були у 2,2 раза нижчими, ніж у хворих з метастатичним ураженням регіонарних лімфатичних вузлів. Щодо мікроРНК-214, то рівень її експресії, навпаки, був підвищений в 1,9 раза у хворих з регіонарними метастазами. Показано наявність зв'язку між експресією всіх досліджуваних мікроРНК та рівнем ПСА в сироватці крові. Рівень мікроРНК-205 та -214 був вищим у хворих зі значеннями ПСА > 10 нг/мл. Залежність між рівнем ПСА та експресією мікроРНК-126 носила зворотній характер і була нижчою у пацієнтів із показниками ПСА < 10 нг/мл.

У доступній нам літературі також наявні повідомлення щодо можливості використання циркулюючих мікроРНК як прогностичних маркерів РШ. Встановлено, що низький рівень експресії мікроРНК-1266, -1207–5p і -1182 зумовлює проліферацію клітин РШ і корелює із виникненням метастазів [104]. Повідомлялося, що рівень експресії мікроРНК-233 у сироватці крові пацієнтів з РШ позитивно корелює зі ступенем диференціювання пухлини, стадією за класифікацією TNM, розміром пухлини та наявністю метастазів [105]. В іншому дослідженні виявлено, що високі показники експресії циркулюючих мікроРНК-21, -146a і -148a визначаються переважно у хворих на РШ з наявністю метастатичного ураження регіонарних лімфатичних вузлів [106]. Встановлено, що висока експресія мікроРНК-196a асоціюється з такими клініко-патологічними параметрами РШ, як розмір пухлини, стадія захворювання, наявність метастазів у регіонарних лімфатичних вузлах та низькі показники загальної виживаності хворих [59]. Гіперекспресія мікроРНК-451, -199a-3p і -195 у сироватці хворих на РШ асоціюється із високим ризиком виникнення рецидиву захворювання, тоді як низький рівень експресії мікроРНК-451 корелює із вищими показниками виживаності хворих [107, 108].

Також достатня кількість повідомлень щодо прогностичного значення циркулюючих мікроРНК стосується РЯ. На основі аналізу плазми крові 360 пацієнток встановлено, що високі рівні циркулюючих мікроРНК-205 та низька експресія мікроРНК-let-7f є характерною ознакою агресивного РЯ, особливо на початковій стадії пухлинного процесу. Окрім цього, у сироватці крові хворих на РЯ пізніх стадій виявлено значне підвищення експресії мікроРНК-483–5p [64]. Встановлено суттєві відмінності показників експресії мікроРНК-135a-3p у сироватці хворих з доброякісними та ЗН яєчника, а також кореляцію її показників зі ступенем злоякісності РЯ. Продемонстровано, що рівень експресії мікроРНК-125b пов'язаний зі стадією РЯ за класифікацією FIGO, станом лімфатичних вузлів та наявністю віддалених метастазів, що зумовлено, на думку авторів, гіперметилюванням онкосупресорів *p16, p14, BRCA1, DAPK1, PTEN* і *RASSF1A*. Отримані дані свідчать, що показники експресії мікроРНК-125b можуть бути раннім діагностичним біомаркером для прогнозування віддалених метастазів у хворих на РЯ [109].

Таким чином, наведені факти підтверджують необхідність використання циркулюючих мікроРНК для прогнозування перебігу найпоширеніших солідних ЗН.

ВИСНОВОК

Аналіз даних сучасної літератури, а також наведені результати власних досліджень свідчать, що зміни профілю циркулюючих мікроРНК асоційовані з розвитком та прогресією пухлин, ступенем розповсюдженості пухлинного процесу та показниками виживаності хворих. Визначення особливостей співвідношення мікроРНК у сироватці та плазмі крові є інформативним для ранньої диференційної діагностики ЗН, верифікації гістологічного походження пухлин, визначення ступеня її злоякісності та чутливості до медикаментозної терапії. Наведене свідчить про асоціацію циркулюючих мікроРНК з патогенезом ЗН та обґрунтовує перспективність їх використання як діагностичних та прогностичних біомаркерів [110, 111]. Останніми роками активно також ведеться розроблення терапевтичних підходів, спрямованих на модуляцію рівнів мікроРНК, частина з яких уже проходить клінічні випробування [112].

Достовірність онкотестів, що ґрунтуються на визначенні показників циркулюючих мікроРНК, доведена великою кількістю незалежних досліджень, а кількість публікацій на цю тему в наукових журналах з високим імпакт-фактором є підтвердженням необхідності їх застосування в рутинній практиці. Наприклад, обсяг статей у видавництві Nature Publishing Group щодо клінічного значення і високої інформативності визначення мікроРНК при онкологічних захворюваннях лише за останні 3 роки сягає понад 200, в той час як кількість статей, опублікованих у провідних фахових журналах з імпакт-фактором, перевищує декілька тисяч [11, 113–117].

На сьогодні у світовій практиці мікроРНК активно вводяться в рутинну медичну практику. Так, ще у 2008 р. FDA (https://www.fda.gov) затвердило для клінічного застосування тести, які включають визначення мікроРНК як додаткових діагностичних та прогностичних маркерів пухлинного процесу. У США існує 7 великих фірм (Rosetta Genomics, Hummingbird Diagnostics, ExBiome, MIRXES та ін.), які спеціалізуються на ранній та диференційній діагностиці раку шляхом дослідження панелей циркулюючих мікроРНК. При Техаському університеті функціонує MD Anderson Cancer Center, в якому наукові напрацювання щодо діагностики ЗН з використанням панелей специфічних мікроРНК активно впроваджуються в клінічну практику. Колектив авторів статті має багаторічний досвід розроблення підходів до персоналізованої діагностики, моніторингу пухлинного процесу та дизайну терапії. Нами створено інноваційні панелі біомаркерів, асоційованих зі злоякісним процесом, та розроблено алгоритм предиктивної оцінки ризику розвитку раку, що базується на дослідженні профілю експресії циркулюючих мікроРНК у сироватці крові. Окрім цього, нами створено панелі мікроРНК для визначення чутливості до медикаментозної терапії при різних нозологічних формах ЗН. Впровадження зазначених розробок здійснюється на базі Клініки персоналізованого дизайну діагностики і терапії «Онкотераностика».

Отже, наявні на сьогодні експериментальні дані, а також результати клінічних спостережень свідчать, що вже ідентифіковано мікроРНК, які мають високу діагностичну чутливість і специфічність для низки ЗН, які при успішному проходженні клінічних випробувань можуть бути впроваджені в медичну практику як мінімально інвазивні тести.

Подальше визначення специфічних регуляторних мікроРНК, асоційованих із чутливістю пухлин до медикаментозної терапії, стане підґрунтям для розроблення інноваційних стратегій персоналізованого лікування і моніторингу пухлинного процесу.

Робота виконана за підтримки Науково-технічного проекту НАН України 2019 р. «Розробка та впровадження панелі предиктивних мікроРНК для персоналізованого дизайну неоад'ювантної терапії хворих на рак молочної залози» (№ держреєстрації 0119U101242).

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. **Altoe M, Gunther J, Lim E, *et al.*** Neoadjuvent therapy monitoring in breast cancer patients with diffuse optical tomography. Clin Translational Biophotonics 2018; CTu4B-6 (https://doi.org/10.1364/TRANSLATIONAL.2018.CTu4B.6).

2. **Larrea E, Sole C, Manterola L, *et al.*** New concepts in cancer biomarkers: circulating miRNAs in liquid biopsies. Int J Mol Sci 2016; **17** (5): 627.

3. **Chekhun VF, Lukianova NY, Borikun TV, *et al.*** The clinical significance of tumor miR-122,-155,-182, and-200b expression in patients with breast cancer. Science and Innovation 2017; **13** (5): 63–9 (in Ukrainian).

4. **Chekhun VF, Boroday NV, Yurchenko OV.** MicroRNA and tumor process. Oncology 2012; **15** (2): 136–40.

5. **Lekka E, Hall J.** Noncoding RNAs in disease. FEBS lett 2018; **592** (17): 2884–900.

6. **Backes C, Meese E, Keller A.** Specific miRNA disease biomarkers in blood, serum and plasma: challenges and prospects. Mol Diagnosis Ther 2016; **20** (6): 509–18.

7. **Matsuzaki J, Takahiro O.** Circulating microRNAs and extracellular vesicles as potential cancer biomarkers: a systematic review. Int J Clin Oncol 2017; **22** (3): 413–20.

8. **Creugny A, Fender A, Pfeffer S.** Regulation of primary micro RNA processing. FEBS Lett 2018; **592** (12): 1980–96.

9. **Lee RC, Rhonda LF, Ambros V.** The C. elegans heterochronic gene lin-4 encodes small RNAs with antisense complementarity to lin-14. Cell 1993; **75** (5): 843–54.

10. **Lagos-Quintana M, Rauhut R, Meyer J, *et al.*** New microRNAs from mouse and human. RNA 2003; **9** (2): 175–9.

11. **Chen X, Yan CC, Zhang X, *et al.*** WBSMDA: within and between score for MiRNA-disease association prediction. Sci Reports 2016; **6**: 21106.

12. **Li JQ, Rong ZH, Chen X, *et al.*** MCMDA: Matrix completion for MiRNA-disease association prediction. Oncotarget 2017; **8** (13): 21187.

13. **Gu C, Liao B, Li X, Li K.** Network consistency projection for human miRNA-disease associations inference. Sci Reports 2016; **6**: 36054.

14. **Vishnoi A, Rani S.** MiRNA biogenesis and regulation of diseases: an overview. MicroRNA Profiling. Humana Press, New York, 2017: 1–10.

15. **Catalanotto C, Cogoni C, Zardo G.** MicroRNA in control of gene expression: an overview of nuclear functions. Int J Mol Sci 2016; **17** (10): 1712.

16. **Wilczynska A, Bushell M.** The complexity of miRNA-mediated repression. Cell Death Differentiation 2015; **22** (1): 22.

17. **Lukianova N, Borikun T, Yalovenko T, Chekhun V.** Role of mirna-122 and mirna-200b in intratumor heterogeneity formation and human breast cancer prognosis. International. J Current Res Rev 2016; **8** (17): 50.

18. **Rupaimoole R, Calin GA, Lopez-Berestein G, Sood AK.** miRNA deregulation in cancer cells and the tumor microenvironment. Cancer Discovery 2016; **6** (3): 235–46.

19. **Calin GA, Dumitru CD, Shimizu M. *et al.*** Frequent deletions and down-regulation of micro-RNA genes miR15 and miR16 at 13q14 in chronic lymphocytic leukemia. Proc Natl Acad Sci USA 2002; **99**: 15524–9.

20. **Klein U, Lia M, Crespo M, *et al.*** The DLEU2/miR-15a/16–1 cluster controls B cell proliferation and its deletion leads to chronic lymphocytic leukemia. Cancer Cell 2010; **17** (1): 28–40.

21. **Reddy KB.** MicroRNA (miRNA) in cancer. Cancer Cell Int 2015; **15** (1): 38.

22. **Irmak-Yazicioglu MB.** Mechanisms of microRNA deregulation and microRNA targets in gastric cancer. Oncol Res Treat 2016; **39** (3): 136–9.

23. **Zadvornyi TV, Lukianova NY, Borikun TV, Chekhun VF.** Effects of exogenous lactoferrin on phenotypic profile and invasiveness of human prostate cancer cells (DU145 and LNCaP) *in vitro*. Exp Oncol 2018; **40** (3): 184–9.

24. **Chekhun VF, Lukianova NY, Borikun TV, *et al.*** Artemisinin modulating effect on human breast cancer cell lines with different sensitivity to cytostatics. Exp Oncol 2017; **39** (1): 25–9.

25. **Cheng G.** Circulating miRNAs: roles in cancer diagnosis, prognosis and therapy. Adv Drug Delivery Rev 2015; **81**: 75–93.

26. **Kosaka N, Haruhisa I, Takahiro O.** Circulating microRNA in body fluid: a new potential biomarker for cancer diagnosis and prognosis. Cancer Sci 2010; **101** (10): 2087–92.

27. **Nakamura K, Sawada K, Yoshimura A, *et al.*** Clinical relevance of circulating cell-free microRNAs in cancer. Nat Rev Clin Oncol 2014; **11** (3): 145.

28. **Cuk K, Zucknick M, Heil J, *et al.*** Circulating microRNA in plasma as early detection markers for breast cancer. Int J Cancer 2013; **132**: 1602–12.

29. **Madhavan D, Zuknick M, Wallwiener M, *et al.*** Circulating miRNA as surrogate markers for circulating tumor cells and prognostric markers in metastatic breast cancer. Cancer Res 2012; **18**: 5972–5981.

30. **Cheng HH, Mitchell PS, Kroh EM, *et al.*** Circulating microRNA profiling identifies a subset of metastatic prostate cancer patients with evidence of cancer-associated hypoxia. PLoS ONE. 2013; **8** (7): e69239.

31. **Jia W, Wu Y, Zhang Q, *et al.*** Identification of four serum microRNAs from a genome-wide serum microRNA expression profile as potential non-invasive biomarkers for endometrioid endometrial cancer. Oncology Lett 2013; **6** (1): 261–7.

32. **Yang C, Wang C, Chen X, *et al.*** Identification of seven serum microRNA from a genome wide serum microRNA expression profile as potential noninvasive biomarkers for malignant astrocytomas. Int J Cancer 2013; **132**: 116–27.

33. **Liu AM, Yao TJ, Wang W, *et al.*** Circulating miR-15b and miR-130b in serum as potential markers for detecting hepatocellular carcinoma: a retrospective cohort study. BMJ Open 2012; **2** (2): e000825.

34. **Chen X, Ba Y, Ma L, *et al.*** Characterization of microRNAs in serum: a novel class of biomarkers for diagnosis of cancer and other diseases. Cell Res 2008; **18** (10): 997.

35. **Kisseljov FL.** MicroRNAs and cancer. Mol Biol 2014; **48** (2): 197–206.

36. **Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, *et al.*** Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. CA Cancer J Clin 2018; **68** (6): 394–424.

37. **Staren'kyj VP, Sukhyina OM, Byilozor NV, *et al.*** The choice of irradiation volume radiotherapy in sequential chemoradiation therapy of non-small-cell lung cancer. Ukr J Radiol 2015; **23** (2): 142–146 (in Ukrainian).

38. **Remennyk OI, Varyvonchyk DV.** Morpho-functional criteria of risk development and prevention of neoplasms in bronchi and lungs among occupational patients exposed to dust, containing crystal silica. Ukr J Occupation Healht 2010; **4** (24): 51–7 (in Ukrainian).

39. **Zhang H, Mao F, Shen T, *et al.*** Plasma miR-145, miR-20a, miR-21 and miR-223 as novel biomarkers for screening early-stage non-small cell lung cancer. Oncol Lett 2017; **13**: 669–76.

40. **Arab A, Karimipoor M, Irani S, *et al.*** Potential circulating miRNA signature for early detection of NSCLC. Cancer Genet 2017; **216–217**: 150–8.

41. **Wang H, Peng R, Wang J, *et al.*** Circulating microRNAs as potential cancer biomarkers: the advantage and disadvantage. Clin Epigenet 2018; **10** (1): 59.

42. **Healy N, Heneghan H, Muller N, *et al.*** Systemic microRNA as potential biomarkers in cancer. Int J Cancer 2013; **131**: 2265–71.

43. **Mayevskyi OY.** Modern methods of diagnosis using oncomarkers, specific immunotherapy. Rep Vinnytsia Nat Med Univer 2014; **18** (2): 635–40.

44. **Hamam R, Ali AM, Alsaleh KA, *et al.*** MicroRNA expression profiling on individual breast cancer patients identifies novel panel of circulating microRNA for early detection. Sci Rep 2016; **6**: 25997.

45. **Chan M, Liaw CS, Ji SM, *et al.*** Identification of circulating microRNA signatures for breast cancer detection. Clin Cancer Res 2013; **19**: 4477–87.

46. **Lukianova N, Borikun T, Yalovenko T, *et al.*** Role of miRNA-122 and miRNA-200b in intratumor heterogeneity formation and human breast cancer prognosis. Int J Curr Res Rev 2016; **8** (17): 50.

47. **Chekhun VF, Lukianova NY, Chekhun SV, *et al.*** Method for non-invasive determination of TNBC in patients. Health Newsletter 190–2016.

48. **Heneghan HM, Miller N, Kelly R, *et al.*** Systemic miRNA-195 differentiates breast cancer from other malignancies

and is a potential biomarker for detecting noninvasive and early stage disease. Oncologist 2010; **15**: 673–682.

49. **Pospekhova NI, Poyarkov SV, Zenit-Zhuravleva EG, *et al.*** Expression analysis of microRNAs for the diagnosis and prognosis of breast cancer. Malignant Tumours 2012; **2** (2): 90–97 (in Russian).

50. Cancer in Ukraine, 2016–2017. Incidence, mortality, activities of oncological service. Bulletin of national cancer registry of Ukraine, № 19. Edit. Kolesnik OO, K., 2018, 131 p.

51. **Shcherbina OV, Sakalo VS.** MRT, CT and radionuclide diagnosis in diagnosis of prostate cancer and metastases. Oncology 2010; **12** (1): 50–55.

52. **Cat A, Köken T, Karalar M.** Prostate cancer detection in patients with total serum prostate-specific antigen levels of 4–10 ng/mL: Diagnostic efficacy of MicroRNA-141. Clin Cancer Investig J 2017; **6**: 10–4.

53. **Mahn R, Heukamp LC, Rogenhofer S, *et al.*** Circulating microRNAs (miRNA) in serum of patients with prostate cancer. Urology 2011; **77** (5): 1265.e9–16.

54. **Guzel E, Karatas OF, Semercioz A, *et al.*** Identification of microRNAs differentially expressed in prostatic secretions of patients with prostate cancer. Int J Cancer 2015; **136** (4): 875–79.

55. **Zadvornyi TV, Borikun TV, Lukianova NYu, *et al.*** Expression of miRNA-126, -205 and -214 in benign and malignant neoplasms of the prostate gland: possible diagnostic and prognostic significance. Oncology 2018; **21** (1): 10–16 (in Ukrainian).

56. **Lukashenko AV, Boiko AV, Rozumeyko IV, Koshubarova MV.** Review of IV version of Japanese gastric cancer treatment guidelines. Clin Oncol 2017; **3** (27): 11–21 (in Ukrainian).

57. **Liu HS, Xiao HS.** MicroRNAs as potential biomarkers for gastric cancer. World J Gastroenterol 2014; **20** (34): 12007–12017.

58. **Li C, Li JF, Cai Q, *et al.*** MiRNA-199a-3p: A potential circulating diagnostic biomarker for early gastric cancer. J Surg Oncol 2013; **108** (2): 89–92.

59. **Li X, Luo F, Li Q, *et al.*** Identification of new aberrantly expressed miRNAs in intestinal-type gastric cancer and its clinical significance. Oncol Rep 2011; **26**: 1431–9.

60. **Torre LA, Bray F, Siegel RL, *et al.*** Global cancer statistics, 2012. CA Cancer J Clin 2015; **65** (2): 87–108.

61. **Coburn SB, Bray F, Sherman ME, Trabert B.** International patterns and trends in ovarian cancer incidence, overall and by histologic subtype. Int J Cancer 2017; **140** (11): 2451–60.

62. **Resnick KE, Alder H, Hagan JP, *et al.*** The detection of differentially expressed microRNAs from the serum of ovarian cancer patients using a novel real-time PCR platform. Gynecol Oncol 2009; **112** (1): 55–9.

63. **Zhang S, Lu Z, Unruh AK, *et al.*** Clinically relevant microRNAs in ovarian cancer. Mol Cancer Res 2015; **13**: 393–401.

64. **Zheng H, Zhang L, Zhao Y, *et al.*** Plasma miRNAs as diagnostic and prognostic biomarkers for ovarian cancer. PLoS ONE 2013; **8**: e77853.

65. **Corney DC, Hwang C-I, Matoso A, *et al.*** Frequent downregulation of miR-34 family in human ovarian cancers. Clin Cancer Res 2010; **16**: 1119–28.

66. **Lee C-H, Subramanian S, Beck AH, *et al.*** MicroRNA profiling of BRCA1/2 mutation-carrying and non-mutation-carrying high-grade serous carcinomas of ovary. PLoS ONE 2009; **4**: e7314.

67. **Hamakawa T, Kukita Y, Kurokawa Y, *et al.*** Monitoring gastric cancer progression with circulating tumour DNA. Brit Jcancer 2015; **112** (2): 352–6.

68. **Klein-Scory S, Maslova M, Pohl M, *et al.*** Significance of liquid biopsy for monitoring and therapy decision of colorectal cancer. Translational Oncol 2018; **11** (2): 213–20.

69. **Fan L, Li B.** A serum microRNA expression signature for radiosensitivity of non-small cell lung cancer. Ann Oncol 2018; **29** (8): mdy269–178.

70. **Fadejeva I, Olschewski H, Hrzenjak A.** MicroRNAs as regulators of cisplatin-resistance in non-small cell lung carcinomas. Oncotarget 2017; **8** (70): 115754–73.

71. **Jung J, Wagner V, Körner C.** MicroRNAs in therapy resistance of breast cancer. EMJ Oncol 2016; **4** (1): 103–12.

72. **Zhao R, Wu J, Jia W, *et al.*** Plasma miR-221 as a predictive biomarker for chemoresistance in breast cancer patients who previously received neoadjuvant chemotherapy. Onkologie 2011; **34** (12): 675–80.

73. **Jung EJ, Santarpia L, Kim J, *et al.*** Plasma microRNA 210 levels correlate with sensitivity to trastuzumab and tumor presence in breast cancer patients. Cancer 2012; **118** (10): 2603–14.

74. **Wang XX, Ye FG, Zhang J, *et al.*** Serum miR-4530 sensitizes breast cancer to neoadjuvant chemotherapy by suppressing RUNX2. Cancer Management Res 2018; **10**: 4393–400.

75. **Li Q, Liu M, Ma F, *et al.*** Circulating miR-19a and miR-205 in serum may predict the sensitivity of luminal A subtype of breast cancer patients to neoadjuvant chemotherapy with epirubicin plus paclitaxel. PLoS One 2014; **9** (8): e104870.

76. **Wang H, Tan G, Dong L, *et al.*** Circulating MiR-125b as a marker predicting chemoresistance in breast cancer. PLoS One 2012; **7** (4): e34210.

77. **Shao B, Wang X, Zhang L, *et al.*** Plasma microRNAs predict chemoresistance in patients with metastatic breast cancer. Technology in Cancer Res Treat 2019; **18**: 1–9.

78. **Borikun TV.** Connection of miR-320a and -200b expression with sensitivity to neoadjuvant polychemotherapyin Breast Cancer patients. Scientific and Practical Conference of Young Scientists «Fundamental Medicine: Integral approaches to cancer patients». Oncology 2019; **21** (1): 56–7.

79. **Zhang HL, Yang LF, Zhu Y, *et al.*** Serum miRNA-21: Elevated levels in patients with metastatic hormone-refractory prostate cancer and potential predictive factor for the efficacy of docetaxel-based chemotherapy. The Prostate 2011; **71** (3): 326–331.

80. **Ribas J, Ni X, Haffner M, *et al.*** miR-21: An androgen receptor-regulated microRNA that promotes hormone-dependent andhormone-independent prostate cancer growth. Cancer Res 2009; **69** (18): 7165–9.

81. **Lin HM, Castillo L, Mahon KL, *et al.*** Circulating microRNAs are associated with docetaxel chemotherapy outcome in castration-resistant prostate cancer. Brit J Cancer 2014; **110** (10): 2462–71.

82. **Kim CH, Kim HK, Rettig RL, *et al.*** miRNA signature associated with outcome of gastric cancer patients following chemotherapy. BMC Med Genomics 2011; **4**: 79–92.

83. **Matuszcak C, Haier J, Hummel R, Lindner K.** MicroRNAs: Promising chemoresistance biomarkers in gastric cancer with diagnostic and therapeutic potential. World J Gastroenterol 2014; **20**: 13658–13666.

84. **Kim S, Han Y, Kim SI, *et al.*** Tumor evolution and chemoresistance in ovarian cancer. NPJ Precis Oncol 2018; **2**: 20–29.

85. **Mihanfar A, Fattahi A, Nejabati HR.** MicroRNA-mediated drug resistance in ovarian cancer. J Cell Physiol 2019; **234** (4): 3180–91.

86. **van Jaarsveld MT, Helleman J, Berns EM, Wiemer EA.** MicroRNAs in ovarian cancer biology and therapy resistance. Int J Biochem Cell Biol 2010; **42** (8): 1282–90.

87. **Eitan R, Kushnir M, Lithwick-Yanai G, *et al.*** Tumor microRNA expression patterns associated with resistance to platinum based chemotherapy and survival in ovarian cancer patients. Gynecol Oncol 2009; **114**: 253–9.

88. **Calin GA, Ferracin M, Cimmino A, *et al.*** A MicroRNA signature associated with prognosis and progression in chronic lymphocytic leukemia. N Engl J Med 2005; **353**: 1793–801.

89. **Yanaihara N, Caplen N, Bowman E, *et al.*** Unique microRNA molecular profiles in lung cancer diagnosis and prognosis. Cancer Cell 2006; **9**: 189–98.

90. **Takamizawa J, Konishi H, Yanagisawa K, *et al.*** Reduced expression of the let-7 microRNAs in human lung cancers in association with shortened postoperative survival. Cancer Res 2004; **64**: 3753–6.

91. **Xia Y, Zhu Y, Zhou X, Chen Y.** Low expression of let-7 predicts poor prognosis in patients with multiple cancers: A meta-analysis. Tumour Biol 2014; **35**: 5143–8.

92. **Wu KL, Tsai YM, Lien CT, Kuo PL.** The roles of microRNA in lung cancer. Int J Mol Sci 2019; **20** (7): 1611–36.

93. **Wang R, Li G, Zhuang G, *et al.*** Overexpression of microRNA-423–3p indicates poor prognosis and promotes cell proliferation, migration, and invasion of lung cancer. Diagnostic Pathol 2019; **14** (1): 53–61.

94. **Barshack I, Lithwick-Yanai G, Afek A, *et al.*** MicroRNA expression differentiates between primary lung tumors and metastases to the lung. Pathology 2010; **206**: 578–84.

95. **Xiao W, Zhong Y, Wu L, *et al.*** Prognostic value of microRNAs in lung cancer: A systematic review and meta-analysis. Mol Clin Oncol 2019; **10** (1): 67–77.

96. **Heneghan HM, Miller N, Lowery AJ, *et al.*** Circulating microRNAs as novel minimally invasive biomarkers for breast cancer. Ann Surg 2010; **251** (3): 499–505.

97. **Wang F, Zheng Z, Guo J, Ding X.** Correlation and quantitation of microRNA aberrant expression in tissues and sera from patients with breast tumor. Gynecol Oncol 2010; **119** (3): 586–93.

98. **Zheng R, Pan L, Gao J, *et al.*** Prognostic value of mir-106b expression in breast cancer patients. J Surg Res 2015; **195** (1): 158–65.

99. **Asaga S, Kuo C, Nguyen T, *et al.*** Direct serum assay for microrna-21 concentrations in early and advanced breast cancer. Clin Chem 2011; **57** (1): 84–91.

100. **Al-Khanbashi M, Caramuta S, Alajmi AM, *et al.*** Tissue and serum mirna profile in locally advanced breast cancer (labc) in response to neo-adjuvant chemotherapy (NAC) treatment. PLoS One 2016; **11** (4): e0152032.

101. **Hessvik NP, Sandvig K, Llorente A.** Exosomal miRNAs as biomarkers for prostate cancer. Front Genet 2013; **4**: 36–45.

102. **Lodes MJ, Caraballo M, Suciu D, *et al.*** Detection of cancer with serum miRNAs on an oligonucleotide microarray. PLoS ONE 2009; **4**: e6229.

103. **Guo X, Han T, Hu P, *et al.*** Five microRNAs in serum as potential biomarkers for prostate cancer risk assessment and therapeutic intervention. Int Urol Nephrol 2018; **50** (12): 2193–200.

104. **Chen L, Lü MH, Zhang D, *et al.*** MiR-1207–5p and miR-1266 suppress gastric cancer growth and invasion by targeting telomerase reverse transcriptase. Cell Death Dis 2014; **5** (1): e1034.

105. **Wang H, Wang L, Wu Z, *et al.*** Three dysregulated microRNAs in serum as novel biomarkers for gastric cancer screening. Med Oncol 2014; **31** (12): 298–305.

106. **Kim SY, Jeon TY, Choi CI, *et al.*** Validation of circulating miRNA biomarkers for predicting lymph node metastasis in gastric cancer. J Mol Diagnost 2013; **15** (5): 661–9.

107. **Brenner B, Hoshen MB, Purim O, *et al.*** MicroRNAs as a potential prognostic factor in gastric cancer. World J Gastroenterol 2011; **17**: 3976–85.

108. **Tang GH, Tang M, Xie YJ.** The role of miRNAs in gastric cancer. J Gastroint Dig Syst 2013; **3** (129): 2161–9.

109. **Yazici H.** Functions of miRNAs in the development, diagnosis, and treatment of ovarian carcinoma. In Curr Trends Cancer Management. IntechOpen 2019; **66099**: 1–17.

110. **Elghoroury EA, ElDine HG, Kamel SA, *et al.*** Evaluation of miRNA-21 and miRNA Let-7 as prognostic markers in patients with breast cancer. Clin Breast Cancer 2018; **18** (4): e721–6.

111. **Sozzi G, Boeri M, Rossi M, *et al.*** Clinical utility of a plasma-based miRNA signature classifier within computed tomography lung cancer screening: a correlative MILD trial study. J Clin Oncol 2014; **32** (8): 768–73.

112. **Bouchie A.** First microRNA mimic enters clinic. Nat Biotechnol 2013; **31** (7): 577 (doi: 10.1038/nbt0713–577).

113. **Zhou X, Huang Z, Xu L, *et al.*** A panel of 13-miRNA signature as a potential biomarker for predicting survival in pancreatic cancer. Oncotarget 2016; 7 (43): 69616.

114. **Shimomura A, Shine S, Kawauchi J, *et al.*** MiniSY-5–4A novel combination of serum microRNAs for detecting breast cancer and predicting efficacy of treatment. Ann Oncol 2016; **27**: 53.

115. **Ponomaryova AA, Morozkin ES, Rykova EY, *et al.*** Dynamic changes in circulating miRNA levels in response to antitumor therapy of lung cancer. Exp Lung Res 2016; **42** (2): 95–102.

116. **Qu J, Li M, Zhong W, Hu C.** Competing endogenous RNA in cancer: a new pattern of gene expression regulation. Int J Clin Exp Med 2015; **8** (10): 17110.

117. **Lili LN, Huang AD, Zhang M, *et al.*** Time-course analysis of microRNA-induced mesenchymal-to-epithelial transition underscores the complexity of the underlying molecular processes. Cancer Lett 2018; **428**: 184–91.

CIRCULATING microRNAs: PROSPECTS OF USE FOR EARLY DIAGNOSTICS AND MONITORING OF TUMOR PROCESS

N.Yu. Lukianova[1], T.V. Borikun[1], V.M. Bazas[2, 3], T.M. Yalovenko[1], T.V. Zadvornyi[1], N.V. Malyshok[3], O.V. Rossylna[3]

[1]R.E. Kavetsky Institute of Experimental Pathology, Oncology and Radiobiology, NAS of Ukraine

[2]Kyiv City Clinical Oncology Center

[3]Clinic for Personalized Diagnostics and Therapy Design «Oncotheranostics», Kyiv, Ukraine

MicroRNAs are small non-coding RNAs of 21–22 nucleotides in length that are involved in the post-transcriptional regulation of gene expression. Today, more than 2500 microRNAs are already known and this list is constantly growing. Much of the research in recent years is devoted to the study of changes in the expression of microRNAs in the occurrence of various pathological conditions of the organism, including cancer. The results of our own studies and the literature on the possibility of using microRNAs as diagnostic and prognostic markers of the most common malignancies are analyzed and summarized. The prospects of using panels of circulating microRNAs to monitor the course of the tumor process and to determine the sensitivity of tumors of different histogenesis to drug treatment are discussed. To date microRNAs have been identified with high diagnostic sensitivity and specificity for most malignancies; if successfully passed clinical trials, the determination of such miRNAs can be put into medical practice as a minimally invasive test.

Key Words: circulating microRNAs, malignancies, diagnosis, prognosis, drug therapy, monitoring, efficacy.

Адреса для листування:
Лук'янова Н.Ю.
03022, Київ, вул. Васильківська 45
Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України
E-mail: nataluk10@gmail.com

Одержано: 12.09.2019