

КЛИНИЧЕСКИЕ ПЕРСПЕКТИВЫ ИССЛЕДОВАНИЯ МИКРОРНК ПРИ РАКЕ ЯИЧНИКОВ

Е.С. Герштейн^{1,3}, Д.Н. Кушлинский², Л.В. Адамян^{2,3}, Н.Е. Кушлинский^{1,3}

¹ ФГБУ «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина» Минздрава России

² ФГБУ «Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии
им. академика В.И. Кулакова» Минздрава России

³ ГБОУ ВПО «Московский государственный медико-стоматологический университет
им. А.И. Евдокимова» Минздрава России

Цель исследования. Анализ публикаций, посвященных экспрессии различных микроРНК в ткани рака яичников, а также уровней микроРНК, циркулирующих в периферической крови, для оценки возможностей их использования в качестве диагностических, прогностических и предсказательных биомаркеров этого заболевания.

Материал и методы. В обзоре суммированы и критически оценены данные наиболее значимых клинико-лабораторных исследований, отобранных по базе данных PubMed за период с 2007 по 2016 гг.

Результаты. Экспрессия нескольких десятков микроРНК изменена в клетках рака по сравнению с нормальными клетками яичников как в сторону увеличения, так и в сторону уменьшения. Аналогичные изменения отмечаются и в сыворотке крови больных раком яичников по сравнению со здоровыми женщинами. В литературе представлено достаточно большое количество данных, свидетельствующих о том, что исследование микроРНК имеет хорошие перспективы как для диагностики рака яичников, в том числе и с помощью неинвазивных серологических тестов, так и для прогнозирования течения заболевания в целом и, что особенно важно, для предсказания резистентности к стандартным схемам химиотерапии (препараты платины, таксаны). Тем не менее многообразие и несогласованность результатов различных исследований не позволяют пока выделить четких и надежных маркеров для использования в клинике.

Заключение. МикроРНК — перспективные биологические маркеры рака яичников, но для внедрения соответствующих тестов в клиническую практику необходимы дальнейшее накопление материала, унификация методов исследования и критериев оценки результатов.

Ключевые слова: микроРНК, рак яичников, регуляция, диагностика, прогноз.

CLINICAL PROSPECTS OF microRNA STUDY IN OVARIAN CANCER

E.S. Gershteyn^{1,3}, D.N. Kushlinskiy², L.V. Adamyan^{2,3}, N.E. Kushlinskiy^{1,3}

¹ Federal State Budgetary Institution «N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center»
of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation

² Federal State Budgetary Institution «V.I. Kulakov Research Center of Obstetrics,
Gynecology and Perinatology» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation

³ State Budgetary Educational Institution of Higher Professional Education «A.I. Evdokimov Moscow
State University of Medicine and Dentistry» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation

Objective of the study. Analysis of publications on the expression of different microRNAs (miRNAs) in ovarian cancer tissue, as well as on the levels of microRNA circulating in peripheral blood with the objective to evaluate the possibilities of their use as diagnostic, prognostic and predictive biomarkers of this disease.

Materials and Methods. The review compiles and gives critical evaluation of the data of the most significant clinical laboratory research selected from PubMed database for the period from 2007 till 2016.

Results. Expression of several dozens of microRNAs in cancer cells is changed both upward and downward compared to the expression in normal ovarian cells. Similar changes are observed in the blood serum of patients with ovarian cancer when compared to healthy persons. There is quite a lot of evidence in the literature testifying that the study of microRNA can provide promising prospects both in the diagnosis of ovarian cancer, including non-invasive serological testing, in the prediction of the course of the disease in general, and what is most significant, in the prediction of resistance to standard chemotherapy regimens (platinum- and taxane-based preparations). Nevertheless, the diversity and inconsistency of the results of various studies do not allow yet to identify accurate and reliable markers for the use in clinical practice.

Conclusion. *MicroRNAs — are prospective biological markers of ovarian cancer, but further data accumulation, unification of test methods and criteria for evaluating of the results are needed for the integration of microRNA-based tests into clinical practice.*

Key words: *microRNA, ovarian cancer, regulation, diagnosis, prognosis.*

Введение. Рак яичников — одно из наиболее распространенных и неблагоприятно протекающих онкологических заболеваний, лидирующее по числу смертельных случаев среди новообразований женских половых органов. К сожалению, у большей части пациенток рак яичников диагностируется на поздних стадиях, когда опухоль уже распространена по брюшине. Несмотря на то, что, в отличие от большинства опухолей, для рака яичников имеются проверенные временем достаточно специфичные и чувствительные серологические маркеры: в первую очередь, СА125, а также внедренный в практику в последние 10 лет HE4, — первичный скрининг и, особенно, раннее выявление данного заболевания по-прежнему остаются актуальной проблемой, требующей новых исследований и разработок. Кроме того, высокий метастатический и инвазивный потенциал рака яичников обуславливают необходимость углубленного изучения механизмов распространения этой опухоли, знание которых могло бы стать основой для создания новых препаратов, целенаправленно воздействующих на процессы метастазирования и инвазии.

Общие представления о микроРНК и их роли в канцерогенезе

В последнее десятилетие внимание исследователей, занимающихся поиском и валидацией новых биологических маркеров опухолей, привлечено к относительно недавно открытому новому типу РНК — т.н. микроРНК, небольшим некодирующим молекулам размером от 19 до 25 нуклеотидов, которые регулируют трансляцию и/или деградацию матричных РНК (мРНК), усиливая или снижая синтез кодируемых ими белков. Направление и степень выраженности эффекта микроРНК во многом зависят от степени комплементарности между молекулами микроРНК и мРНК. Чаще всего микроРНК оказывают на экспрессию различных генов ингибирующий эффект, который называют «сайленсинг», т.е. глушение мРНК. Основным механизмом этого эффекта является

снижение стабильности мРНК посредством присоединения микроРНК к локусу нетранслируемых участков (untranslated regions — UTRs). Может наблюдаться также и противоположный, усиливающий трансляцию эффект микроРНК, например, во время ареста клеточного цикла, когда поблизости находятся аденилат-уридилат богатые участки мРНК-мишени.

Каждая микроРНК может иметь несколько мРНК(генов)-мишеней, и, напротив, в регуляции активности конкретной мРНК может участвовать несколько микроРНК с однонаправленным или противоположным эффектом. Профиль экспрессии микроРНК в клетке может зависеть как от ее происхождения (ткане- или органоспецифичная экспрессия), так и от стадии развития. Номенклатура микроРНК включает 3-буквенное обозначение вида, к которому она относится: так, для обозначения микроРНК человека используется аббревиатура «hsa» (homo sapiens). Далее ей присваивается номер, соответствующий порядку ее открытия и не зависящий от конкретного биологического вида. При этом если микроРНК с одинаковой последовательностью транскрибируются с различных генных локусов, добавляют дополнительный числовой суффикс, а для обозначения микроРНК с минимально различающимися последовательностями используют буквенные суффиксы (латинские). Гены микроРНК могут быть локализованы как в межгенных некодирующих участках, так и внутри кодирующих последовательностей генов, чаще в интронах, чем в экзонах [1]. Транскрипция генов микроРНК осуществляется РНК-полимеразой II и начинается с формирования стволовой петли размером около 1 кб [2], затем РНК-аза III в составе эндонуклеазных комплексов (Drosha и Pasha) превращает первичный транскрипт в пре-микроРНК размером 70–90 нуклеотидов, после чего по механизму активного транспорта пре-микроРНК переносится в цитоплазму, где другая эндонуклеаза DICER превращает ее в двухцепочечную микроРНК. Связанная с DICER микроРНК образует со специфическим белком

Argonaute и другими белками так называемый «РНК-индуцируемый сайленсинг комплекс» (RNA induced silencing complex — RISC). Узнавание целевых мРНК обеспечивается комплементарностью 5'-конца направляющей цепи микроРНК 3'-концу UTR на участке прикрепления размером 6–8 пар оснований [3]. Степень комплементарности микроРНК с остальной частью мРНК определяет полноту подавления трансляции. В базе данных miRBase в настоящее время присутствует около 2 тыс. предшественников и более 2,5 тыс. зрелых микроРНК, обнаруживаемых у человека. Они группируются в 153 кластера с расстоянием между отдельными микроРНК <10 кб [4]. Компьютерный анализ показал, что микроРНК могут регулировать экспрессию до 60% генов.

Установлено, что микроРНК активно участвуют в регуляции самых разных биологических процессов, включая пролиферацию и дифференцировку клеток, апоптоз, ангиогенез, воспаление и др. Эффекты микроРНК охватывают такие ключевые для опухолевого роста процессы, как миграция, инвазия и метастазирование, эпителиально-мезенхимальный переход (ЭМП). Этим обусловлены ключевая роль этих небольших молекул в канцерогенезе и перспективы их изучения и последующего практического использования в качестве биологических маркеров для диагностики, прогноза и молекулярно-направленной терапии различных злокачественных опухолей, в том числе и рака яичников. При этом различные микроРНК могут играть прямо противоположные роли: существуют как подавляющие опухолевый рост (супрессорные) микроРНК, экспрессия которых в опухолях снижена, так и онкогенные микроРНК, экспрессия которых увеличена [3]. Привлекательность микроРНК в качестве биологических маркеров обусловлена не только их регуляторной ролью, но и большей стабильностью и значительно меньшим разнообразием по сравнению с более крупными биологически активными молекулами (мРНК и белками), что облегчает поиск клинически значимых показателей.

Роль микроРНК при раке яичников

Первые публикации, посвященные изучению роли микроРНК при раке яичников, появились в 2005 г., но наиболее активно исследова-

ния стали развиваться с 2007 г. За прошедшие 10 лет на данную тему опубликовано более 200 статей, освещающих различные аспекты проблемы, включая сравнение спектра экспрессии микроРНК в нормальных и малигнизированных тканях или клетках яичников, экспериментальные исследования механизма действия различных микроРНК на клеточных культурах, изучение спектра циркулирующих в периферической крови микроРНК, оценку прогностической и диагностической значимости отдельных микроРНК или их комплекса на основании собственных данных, а также биоинформационный анализ электронных баз данных и мета-анализ опубликованных работ. Далее мы последовательно рассмотрим все эти аспекты.

Сравнение спектра экспрессии микроРНК в нормальных и малигнизированных тканях яичников и их роль в прогнозе заболевания

В отличие от классических биомаркеров опухолей, клинико-лабораторное изучение которых начиналось только после того, как их биологическая значимость была установлена и доказана в экспериментальных исследованиях, оценка клинической значимости микроРНК вскоре после их открытия началась со сравнения спектра экспрессии в опухолевых и гомологичных нормальных тканях. Первые публикации, касающиеся рака яичников, появились в 2007 г. [5, 6], в последующем их число непрерывно возрастало, и уже в 2013 г. вышел первый систематизированный обзор накопившихся данных [7]. Проанализировав 80 публикаций, посвященных профилированию микроРНК, выявленных в базе данных PubMed за период с января 2002 г. по декабрь 2012 г., авторы выделили 8 независимых исследований [6, 8–14], отвечающих базовым критериям, а именно: 1) проводилось профилирование микроРНК в опухолях больных раком яичников или линиях клеток рака яичников; 2) проводилось сравнение профилей микроРНК либо в ткани рака и нормальной ткани или доброкачественной опухоли яичника, либо в культивируемых клетках рака и поверхностного эпителия яичников; 3) были использованы методы микрочипирования; 4) опубликованы данные о способах валидации полученных результатов и указаны количественные критерии для дифференциально

экспрессирующихся микроРНК; 5) наконец, были исключены работы, посвященные профилированию циркулирующих микроРНК, сравнительные исследования химиочувствительных и химиорезистентных опухолей и опубликованные ранее обзорные статьи.

Всего было выявлено 185 дифференциально экспрессирующихся микроРНК. 17 из них описаны в 3-х и более исследованиях, причем для 6 микроРНК направление изменений во всех работах совпадало, а для 11 выявлены разнонаправленные изменения. Наиболее часто выявляли дифференциальную экспрессию miR-200a и miR-100 (по данным 6 публикаций), в 5 работах описана дифференциальная экспрессия miR-141 и miR-99a, в 4 — miR-200b и miR-200c. Изменения экспрессии еще 11 микроРНК (miR-143, miR-145, miR-214, miR-134, miR-154, miR-424, miR-29a, miR-21, miR-10b, miR-26a, и let-7d) были зафиксированы в 3-х различных исследованиях.

В 4 из 6 публикаций, указывающих на изменения экспрессии miR-200a, продемонстрировано увеличение ее уровня в опухолях по сравнению с нормальной тканью яичников [13, 15, 16]. Увеличение экспрессии в ткани рака яичников обнаружено и для других представителей семейства miR-200 — miR-200b и miR-200c [10, 13–15], а также для miR-141, также входящей в кластер miR-200 [6, 10, 13]. Для miR-100, напротив, в 5 из 6 исследований показано снижение тканевой экспрессии [9, 10, 13, 15, 17]. На основании проведенного анализа авторы обзора выбрали эти 4 микроРНК для собственной валидации и подтвердили вышеописанные изменения их экспрессии, исследовав по 10 образцов рака и нормальной ткани яичников [7].

В период с января 2013 г. по декабрь 2015 г. опубликовано еще более 30 работ, посвященных оценке дифференциальной экспрессии микроРНК в тканях рака яичников и потенциальной прогностической и/или диагностической значимости микроРНК с измененной экспрессией. Часть из них подтвердили данные предыдущих исследований, некоторые продемонстрировали противоположные результаты или предложили новые микроРНК в качестве потенциальных маркеров [18–27]. Рассмотрим подробнее наиболее репрезентативные из этих исследований.

Так, X. Yu и др. [19] ретроспективно исследовали методом микрочипирования экспрессию 768 микроРНК в опухолях больных серозной карциномой яичников (СКР) I и III стадии (по 10 образцов в каждой группе) и обнаружили, что экспрессия 26 из них отличается минимум вдвое в зависимости от стадии заболевания. Наибольшие изменения обнаружены для miR-510, miR-509-p, miR-508-p и miR-483-p: экспрессия первых трех была снижена, а последней — повышена при III стадии СКР по сравнению с I стадией. К сожалению, сравнение с нормальной тканью яичников в этом исследовании не проведено. Авторы провели валидацию полученных данных в опухолях 16 больных I стадии и 35 больных III стадии методом количественной ПЦР в режиме реального времени (ПЦР-РВ) и подтвердили выявленные изменения. Они также продемонстрировали в однофакторном анализе методом Каплана-Мейера на этой группе пациентов, что низкая экспрессия miR-510 и miR-509-5p является фактором неблагоприятного прогноза общей выживаемости больных СКР, что, впрочем, может быть связано с тем, что низкий уровень экспрессии этих микроРНК характерен для распространенного рака яичников.

Z. Liu и др. [21], исследовав 117 образцов высокозлокачественного серозного рака яичников (high-grade serous carcinoma — HGSC) и 30 образцов тканей фаллопиевых труб, полученных методом микродиссекции, продемонстрировали более чем 4-кратное увеличение экспрессии микроРНК семейства miR-106, в частности miR-106a, в этих опухолях. S. Wang и др. [24], обследовав 156 пациенток методом ПЦР-РВ, показали значительное увеличение экспрессии miR-203 в ткани рака яичников по сравнению с окружающей тканью и положительную взаимосвязь высокой экспрессии этой микроРНК со стадией FIGO, степенью злокачественности и быстрым рецидивированием. Более того, по данным многофакторного анализа, статус экспрессии miR-203 оказался независимым фактором прогноза безрецидивной и общей выживаемости.

V. Elgaaen и др. [28] сначала провели сравнительный анализ спектра экспрессии микроРНК в ткани HGSC, светлоклеточного рака и поверхностного эпителия яичников

методом микрочипов (Affymetrix GeneChip miRNA 2.0 Arrays), а затем — валидацию полученных данных на примере 18 из 78 дифференциально экспрессированных микроРНК методом ПЦР-РВ. Наибольшее увеличение экспрессии в HGSC по сравнению с нормальным эпителием отмечено для miR-205-р, также в HGSC и в светлоклеточном раке наблюдалась гиперэкспрессия микроРНК семейства miR-200 и miR-182-р. В то же время экспрессия miR-383 была значительно снижена. Высокая экспрессия miR-200с-3р была ассоциирована с ухудшением выживаемости без прогрессирования и общей выживаемости больных HGSC. Кроме того, авторы выявили 4 микроРНК (miR-509-3-5р, miR-509-5р, miR-509-3р и miR-510), позволяющие дифференцировать светлоклеточный рак и HGSC.

S. Ling и др. [18], исследовав методом ПЦР-РВ 115 образцов рака и 34 образца нормальной ткани яичников, показали, что экспрессия miR-451 в опухолях значительно снижена, и низкий уровень экспрессии этой микроРНК ассоциирован с распространенной стадией по классификации FIGO, высоким уровнем CA125 в сыворотке крови, наличием метастазов в лимфатических узлах. Многофакторный анализ выживаемости пациентов продемонстрировал, что низкий уровень miR-451 является независимым фактором неблагоприятного прогноза рака яичников. В похожих по дизайну и методам исследованиях Y. Fan и др. [25] продемонстрировали неблагоприятное прогностическое значение повышенной экспрессии miR-196а, а M. Jin и др. [26] — низкой экспрессии miR-150. Помимо уже рассмотренных в данном обзоре микроРНК, в качестве прогностических маркеров рака яичников в различных публикациях последних двух лет рассматривались также miR-let-7b [29], miR-184 [30], miR-23b [31], miR-133a [32], miR-25 [22], а также некоторые представители семейства miR-30 [33, 34].

Еще одно направление исследования тканевой экспрессии микроРНК — это поиск «подписей», позволяющих дифференцировать различные гистологические варианты рака яичников [28, 35, 36], однако данные этих исследований, суммированные в обзоре [36], также пока неоднозначны и требуют дальнейшего развития и валидации.

МикроРНК и химиорезистентность рака яичников

Особый интерес представляет роль различных микроРНК в формировании лекарственной резистентности рака яичников. По данным K. Vanno и др. [36], анализировавших работы, опубликованные до 2014 г., с чувствительностью рака яичников к химиотерапии в той или иной степени связаны 27 различных микроРНК. Не останавливаясь на результатах экспериментальных исследований, рассмотрим более подробно ключевые клинические данные.

A. Vecchione и др. [37], проанализировав с помощью микрочипов образцы тканей 198 больных раком яичников, сформировали «подпись» из 23 микроРНК, ассоциированных с химиорезистентностью. Последующая валидация методом ПЦР-РВ подтвердила, что уровень экспрессии 3 из них — miR-484, miR-642, и miR-217 — действительно может предсказывать резистентность рака яичников к химиотерапии. В дополнительных экспериментальных исследованиях они также показали, что влияние miR-484 на чувствительность рака яичников к химиопрепаратам осуществляется через регуляцию ангиогенеза на уровне VEGF-B/VEGFR2 сигнального пути.

В более поздней работе [38] авторы сначала использовали метод микрочипов для выявления спектра микроРНК, ассоциированных с резистентностью к препаратам платины, сравнивая клетки рака яичников DDP-чувствительной и DDP-резистентной линий, а затем провели оценку клинической значимости полученных данных на 86 образцах рака яичников, используя ПЦР-РВ. Были выявлены 4 микроРНК со сниженной и 13 — с повышенной экспрессией в клетках резистентного к препаратам платины рака. Наиболее значимым предиктором химиорезистентности оказалось увеличение экспрессии miR-141-3р.

Влияние микроРНК на чувствительность к другой группе препаратов, активно используемых в лечении рака яичников, — таксанам — подробно изучали Y.W. Kim и др. [27], используя Illumina Human MicroRNA Expression BeadChips, а также метод Каплана-Мейера для анализа выживаемости пациентов из базы данных TCGA (The Cancer Genome Atlas). 17 микроРНК, включая miR-663, miR-622

и HS_188, были гиперэкспрессированы в таксол-резистентных клетках по сравнению с нормальными клетками яичников, а в таксол-чувствительных клетках была отмечена сниженная экспрессия miR-497, miR-187, miR-195 и miR-107. Анализ выживаемости показал, что miR-663 и miR-622 являются значимыми факторами прогноза в группе химиорезистентных пациентов: снижение их экспрессии ассоциировано с лучшей выживаемостью. В группе химиочувствительных больных раком яичников значимым фактором прогноза оказалась только miR-647.

Еще более десятка микроРНК, включая различных представителей семейства miR-200 [39], влияют на чувствительность рака яичников к химиопрепаратам по данным исследований на клеточных культурах [36, 40, 41], однако многочисленность и разнообразие этих исследований не позволяют в настоящее время обоснованно выделить клинически значимые маркеры.

Оригинальным подходом к решению данной проблемы можно считать опубликованную пока только в электронном виде в январе 2016 г. работу М. Petrillo и др. [42], которые изучали спектр экспрессии микроРНК в 164 парных биоптатах рака яичников, полученных до и после неoadъювантной химиотерапии, включавшей карбоплатин и паклитаксел, у 82 больных HGSC IIIc-IV стадии. У 86% пациентов был рецидив заболевания после ранее проведенной терапии на основе препаратов платины. На основе длительности интервала между окончанием терапии и появлением рецидива (platinum-free interval — PFI) 33% пациенток были признаны чувствительными, 40% — резистентными и 27% — частично чувствительными к платине. Авторы выявили 369 дифференциально экспрессирующихся микроРНК, принадлежащих к нескольким семействам, а именно: miR-8, miR-199, miR-let-7, miR-30, miR-181 и miR-29. Многофакторный анализ показал, что высокий уровень экспрессии miR-199a-3p, miR-199a-5p, miR-181a-5p и miR-let-7g-5p до начала терапии ассоциирован с худшей общей выживаемостью и выживаемостью до прогрессирования, а уровень miR-199a-3p, miR-199a-5p и miR-181a-5p повышен у пациентов с большим объемом остаточной опухоли и у больных с PFI менее 6 месяцев, т.е. исходно резистентных к данному виду химиотерапии.

Наиболее значимым маркером химиорезистентности авторы считают высокий уровень экспрессии miR-181a-5p в опухоли.

Исследования механизма действия микроРНК на клетки рака яичников *in vitro*

Более 80 работ, опубликованных до декабря 2015 г. (большинство из них — в последние 2–3 года), полностью или частично посвящены изучению механизмов регуляторной активности микроРНК на культурах клеток рака яичников человека. До настоящего времени в той или иной степени оценен механизм действия на клетки рака яичников 62 различных микроРНК, 44 из которых обладают супрессорной и 17 — онкогенной активностью. Основными эффектами супрессорных микроРНК являются торможение пролиферации, миграции и инвазии, стимуляция апоптоза, подавление или реверсия ЭМП, а также преодоление или снижение множественной лекарственной устойчивости, в частности резистентности к таксанам и препаратам платины. Соответственно, онкогенные микроРНК оказывают противоположные эффекты. В реализации эффектов микроРНК участвуют самые разные сигнальные пути и молекулы. Степени надежности и воспроизводимости полученных результатов для отдельных микроРНК различны: наиболее доказанным можно считать супрессорный потенциал микроРНК семейств miR-200 [39, 43–50] и miR-199 [51–55], в несколько меньшей степени — miR-9 [56–58] и miR-145 [59–61]; онкогенные свойства наиболее обоснованы для семейства miR-let-7 [62–65] и для miR-214 [17, 66, 67].

В то же время микроРНК семейства miR-200 занимают, на наш взгляд, особое место в этой упрощенной классификации: данные об их супрессорной активности, полученные в достаточно многочисленных экспериментах на клеточных культурах, противоречат большинству клинических наблюдений, согласованно указывающих на то, что экспрессия этих микроРНК в ткани рака увеличена по сравнению с неизменной тканью яичников, и более того, ее увеличение является фактором неблагоприятного прогноза [7, 10, 28, 36]. Только в работе [68], включавшей 55 больных распространенным раком яичников, было показано, что сниженная экспрессия 3 микроРНК из кластера miR-200b-429,

а именно: miR-200a, miR-200b и miR-429, — ассоциирована с ухудшением выживаемости пациенток. Подробно проанализировав роль микроРНК семейства miR-200 в регуляции ЭМП в клетках рака яичников и их влияние на течение заболевания, М. Koutsaki и др. [69] предположили, что эта роль неоднозначна и может меняться по мере трансформации опухолевых клеток в культуре и/или прогрессирования рака яичников в клинике.

Диагностическое и прогностическое значение исследования микроРНК, циркулирующих в периферической крови

Несмотря на наличие проверенных временем и достаточно специфичных серологических маркеров при распространенных формах рака яичников (CA125, HE4), его ранняя диагностика по-прежнему представляет большую проблему, и поиск новых высокочувствительных тестов для неинвазивной диагностики данного заболевания на ранних стадиях не теряет своей актуальности. В качестве кандидатов в такие маркеры микроРНК исследуют, начиная с 2009 г. [70]. Параллельно проводятся исследования не только диагностической, но и прогностической значимости циркулирующих микроРНК. Всего в базе данных PubMed удалось выявить 12 работ, посвященных этому вопросу [70–81]. И хотя известно, что определение микроРНК можно одинаково успешно проводить как в сыворотке, так и в плазме крови [82], до настоящего времени все, кроме одного [81] исследования, посвященные раку яичников, выполнены на сыворотке.

В самом первом исследовании [70], включавшем 28 пациенток с подтвержденным диагнозом рака яичников и 15 женщин контрольной группы, методом ПЦР-РВ определяли уровни 21 микроРНК в сыворотке крови. Было показано, что уровни miR-21, miR-92, miR-93, miR-126 и miR-29a у больных раком яичников достоверно повышены, а уровни miR-155, miR-127 и miR-99b — снижены по сравнению с контролем. Авторы посчитали важным отметить, что уровни miR-21, miR-92 и miR-93 были повышены, в том числе и у 3 пациенток с нормальным уровнем CA125.

В дальнейшем было предпринято еще 4 попытки идентифицировать микроРНК, диф-

ференциально экспрессирующиеся в сыворотке крови больных раком яичников и здоровых доноров. Так, Т. Ji и др. [76], исследуя сыворотку крови 31 больной раком яичников, 23 пациенток с доброкачественными опухолями и 8 женщин без онкологической патологии методом секвенирования Solexa, выявили увеличение экспрессии у 11 и снижение — у 19 из них. 4 из этих микроРНК (miR-22, miR-93, miR-106b и miR-451) были дополнительно исследованы методом ПЦР-РВ для подтверждения выявленных изменений. Было установлено, что содержание miR-22, miR-93 и miR-451 достоверно увеличено у больных раком яичников по сравнению с контролем, но только уровень miR-451 достоверно выше, чем у больных доброкачественными новообразованиями. Уровень miR-106b у больных раком достоверно ниже, чем в контроле, при этом у пациенток с доброкачественными опухолями яичников он был самым высоким и значительно превышал показатели не только больных раком, но и контрольной группы. В отличие от предыдущего исследования в данной работе отмечено снижение уровня miR-93 (единственной совпадающей в двух работах микроРНК) у больных с высокими показателями CA125.

Y.W. Chung и др. [72] начали свое исследование со скрининга 2 222 различных микроРНК в сыворотке крови 2 больных раком яичников и 1 донора, после чего провели валидацию полученных результатов методом ПЦР-РВ на примере 18 больных и 12 женщин группы контроля. По результатам первичного скрининга было выявлено 95 микроРНК со сниженной и 88 с повышенной экспрессией, при этом наиболее значимые (более чем 2-кратные) изменения наблюдались для miR-132, miR-26a, miR-let-7b, miR-145 и miR-143: все они были снижены в сыворотке крови больных раком по сравнению с контролем. По данным ПЦР-РВ достоверное снижение отмечено только для miR-132, miR-26a, miR-let-7b, и miR-145.

В единственном исследовании, выполненном на плазме крови [81] и включавшем всего 18 больных раком яичников и 24 практически здоровых женщины группы контроля, методом высокоэффективной ПЦР-РВ исследовали 740 микроРНК: 36 из них обнаружены в обеих

группах, а уровень 12 был изменен у больных раком по сравнению с контролем (для 4 отмечено снижение, а для 8 — повышение). Кроме того, авторы выявили 10 микроРНК (miR-140-3p, miR-133a, miR-34a-5p, miR-146b-5p, miR-125a-3p, miR-16-5p, miR-138-5p, miR-17-5p и miR-323a-3p), которые присутствовали только в плазме крови больных раком яичников.

А. Чао и др. [73] сосредоточили свои усилия только на светлоклеточном раке яичников. Проведя динамическое исследование 270 микроРНК у 32 больных, они выявили 18 дифференциально экспрессирующихся микроРНК, наиболее значимыми из которых были hsa-miR-130a, hsa-miR-138, hsa-miR-187 и hsa-miR-202, повышенные в сыворотке крови до операции. В ходе динамического наблюдения изменение содержания hsa-miR-130a наиболее точно соответствовало клиническим показателям, а у 3 пациенток с ранним рецидивом ее уровень повышался раньше, чем уровень CA125.

Наконец, в совсем недавнем исследовании R. Langhe и др. [78], включавшем по 25 больных раком и доброкачественными новообразованиями яичников и выполненном методом ПЦР-РВ на платформе Exicon, выявлено 4 микроРНК, уровень которых достоверно снижен в сыворотке крови больных раком по сравнению с больными доброкачественными опухолями — это miR-let-7i-5p, miR-122, miR-152-5p и miR-25-3p. Проведя биоинформационный анализ, авторы выяснили, что эти микроРНК участвуют в регуляции WNT, АКТ/mTOR и TLR-4/MyD88 сигнальных путей, связанных с канцерогенезом и химиорезистентностью рака яичников. Следует отметить, что в этом исследовании отсутствовала контрольная группа здоровых доноров.

Несколько исследований посвящено изучению диагностического и прогностического значения отдельных микроРНК. Так, F. Guo и др. [74] продемонстрировали увеличение уровня miR-92 в сыворотке крови больных раком яичников по сравнению с контролем (группы включали по 50 человек) и положительную взаимосвязь ее содержания со стадией заболевания. В ретроспективном и достаточно репрезентативном (96 больных раком яичников и 35 человек в группе контроля) исследовании [75] методом ПЦР-РВ продемонстрировано увеличение

уровня miR-221 в сыворотке крови больных, взаимосвязанное со стадией FIGO и степенью злокачественности опухоли. Более того, по данным многофакторного анализа высокий уровень miR-221 оказался независимым фактором неблагоприятного прогноза. Аналогичные закономерности продемонстрированы и для miR-21 (методом ПЦР-РВ обследовано 94 больных раком яичников и 40 здоровых женщин) [80]. Достаточно убедительно исследовано и клиническое значение сывороточного уровня miR-145 [79]. Обследовав 84 больных раком, 51 пациентку с доброкачественными опухолями яичников и 135 практически здоровых женщин, авторам удалось показать, что уровень исследуемой микроРНК достоверно снижен у больных раком по сравнению с контролем и пациентками с доброкачественными новообразованиями; у последних, в свою очередь, он также достоверно ниже, чем в контроле. Наилучшие диагностические характеристики, по данным построения ROC кривых, были получены только для дифференциации рака яичников и контроля (площадь под кривой — AUC — 0,82; 95% ДИ = 0,77–0,88). При разделении больных доброкачественными и злокачественными опухолями AUC составила 0,75 (95% ДИ = 0,66–0,84), а при дифференциации доброкачественных опухолей и контроля — 0,65 (95% ДИ = 0,57–0,73). По данным однофакторного анализа, выживаемость больных раком яичников с низким уровнем miR-145 в сыворотке крови была достоверно хуже, чем у больных с высоким уровнем маркера.

Две работы, выполненные методами количественной ПЦР-РВ, посвящены изучению клинического значения циркулирующих микроРНК из кластера miR-200 [71, 77]. Основываясь на своих данных о повышении экспрессии miR-182, miR-200a, miR-200b и miR-200c в опухолях и культивируемых клетках серозного рака яичников, C.W. Kan и др. [77] определили содержание этих микроРНК в сыворотке крови 28 больных и 28 здоровых женщин и обнаружили достоверное увеличение уровней всех трех микроРНК семейства miR-200 в группе пациентов по сравнению с группой контроля. Наилучшими диагностическими характеристиками обладало сочетание (miR-200b + miR-200c), AUC для которого составила 0,784. Еще в одном исследовании [71] для оценки диагностической и прогностической

значимости сывороточных уровней miR-200c и miR-141 были обследованы 74 больных раком и 19 — пограничными опухолями яичников, группа контроля составила 50 человек. Уровни обоих микроРНК у больных раком были достоверно повышены по сравнению с контролем, однако уровень miR-200c снижался, а уровень miR-141 повышался с увеличением стадии заболевания. Кроме того, по данным однофакторного анализа, 2-летняя выживаемость больных с высоким уровнем miR-200c была достоверно выше, чем у больных с низким уровнем этой микроРНК в сыворотке крови, что соответствует сложной и неоднозначной роли микроРНК семейства miR-200 при раке яичников [69]. Для miR-141 наблюдалась противоположная закономерность: лучшая выживаемость отмечена у больных с низким уровнем этой микроРНК.

Таким образом, данные о клиническом значении циркулирующих в периферической крови микроРНК при раке яичников весьма разнообразны и в большинстве случаев недостаточно репрезентативны для определенных практических рекомендаций. Анализ 12 опубликованных работ выявил только 2 микроРНК, повторяющихся в нескольких исследованиях, — это miR-93 и miR-200c, однако и для них данные различных авторов не вполне совпадают. Для получения клинически значимых данных и выделения оптимального спектра микроРНК для диагностических и прогностических целей необходимы дальнейшие кооперированные исследования на больших группах пациентов.

Заключение. Новый класс РНК — микроРНК — стремительно вошел в практику прикладных и фундаментальных исследований в онкологии в начале XXI века. Современные высокоэффективные технологии молекулярно-биологических исследований позволили максимально ускорить фазу первичного накопления данных, но и привели к тому, что многообразие и часто несогласованность этих данных не позволяют пока выделить четких и надежных кандидатов в клинически значимые маркеры. Это наблюдение относится к большинству онкологических заболеваний, в том числе и к раку яичников, который активно исследуется в этой области уже около 10 лет [36, 41, 83–85]. Во многом различия в данных разных авторов могут быть связаны как с разнообразным дизайном, так и с методическими особенностями проводившихся исследований [15, 85].

Тем не менее уже сейчас ясно, что исследование микроРНК имеет достаточно хорошие перспективы как в диагностике рака яичников, в том числе и с помощью неинвазивных серологических тестов, так и в прогнозировании течения заболевания в целом и, что более важно, в предсказании резистентности к стандартным видам химиотерапии (препараты платины, таксаны). Особое место занимает возможность использования самих, в первую очередь, супрессорных микроРНК в качестве противоопухолевых препаратов, которая активно обсуждается в литературе, но пока еще находится в фазе предварительных экспериментальных разработок [3, 36, 40].

ЛИТЕРАТУРА

1. *Melo C.A., Melo S.A.* MicroRNA biogenesis: dicing assay. *Methods Mol Biol.* — 2014. — 1182:219–226.
2. *Sun D., Laver R., Mueller A.C., Cichewicz M.A., Negishi M., Paschal B.M., Dutta A.* Regulation of several androgen-induced genes through the repression of the miR-99a/let-7c/miR-125b-2 miRNA cluster in prostate cancer cells // *Oncogene.* — 2014. — 33(11):1448–1457.
3. *Hayes J., Peruzzi P.P., Lawler S.* MicroRNAs in cancer: biomarkers, functions and therapy. *Trends Mol Med.* — 2014. — 20(8):460–469.
4. *Kozomara A., Griffiths-Jones S.* MiRBase: annotating high confidence microRNAs using deep sequencing data. *Nucleic Acids Res.* — 2014. — 42(Database issue):D68–73.
5. *Nowee M.E., Snijders A.M., Rockx D.A., de Wit R.M., Kosma V.M., Hamalainen K., Schouten J.P., Verheijen R.H., van Diest P.J., Albertson D.G.* et al: DNA profiling of primary serous ovarian and fallopian tube carcinomas with array comparative genomic hybridization and multiplex ligation-dependent probe amplification // *J Pathol.* — 2007. — 213(1):46–55.
6. *Iorio M.V., Visone R., Di Leva G., Donati V., Petrocca F., Casalini P., Taccioli C., Volinia S., Liu C.G., Alder H.* et al. MicroRNA signatures in human ovarian cancer. *Cancer Res.* — 2007. — 67(18):8699–8707.
7. *Chen Y., Zhang L., Hao Q.* Candidate microRNA biomarkers in human epithelial ovarian cancer: systematic review profiling studies and experimental validation. *Cancer Cell Int.* — 2013. — 13(1):86.

8. Kim T.H., Kim Y.K., Kwon Y., Heo J.H., Kang H., Kim G., An H.J. Deregulation of miR-519a, 153, and 485–5p and its clinicopathological relevance in ovarian epithelial tumours. — *Histopathology*. — 2010. — 57(5):734–743.
9. Zhang L., Volinia S., Bonome T., Calin G.A., Greshock J., Yang N., Liu C.G., Giannakakis A., Alexiou P., Hasegawa K. et al. Genomic and epigenetic alterations deregulate microRNA expression in human epithelial ovarian cancer. *Proc Natl Acad Sci USA*. — 2008. — 105(19):7004–7009.
10. Nam E.J., Yoon H., Kim S.W., Kim H., Kim Y.T., Kim J.H., Kim J.W., Kim S. MicroRNA expression profiles in serous ovarian carcinoma. *Clin Cancer Res*. — 2008. — 14(9):2690–2695.
11. Dahiya N., Sherman-Baust C.A., Wang T.L., Davidson B., Shih Ie M., Zhang Y., Wood W., Becker K.G., Morin P.J. MicroRNA expression and identification of putative miRNA targets in ovarian cancer. *PLoS One*. — 2008. — 3(6):e2436.
12. Yang N., Kaur S., Volinia S., Greshock J., Lassus H., Hasegawa K., Liang S., Leminen A., Deng S., Smith L. et al. MicroRNA microarray identifies Let-7i as a novel biomarker and therapeutic target in human epithelial ovarian cancer. *Cancer Res*. — 2008. — 68(24):10307–10314.
13. Wyman S.K., Parkin R.K., Mitchell P.S., Fritz B.R., O'Briant K., Godwin A.K., Urban N., Drescher C.W., Knudsen B.S., Tewari M. Repertoire of microRNAs in epithelial ovarian cancer as determined by next generation sequencing of small RNA cDNA libraries. *PLoS One*. — 2009. — 4(4):e5311.
14. Chao A., Lin C.Y., Lee Y.S., Tsai C.L., Wei P.C., Hsueh S., Wu T.I., Tsai C.N., Wang C.J., Chao A.S. et al. Regulation of ovarian cancer progression by microRNA-187 through targeting Disabled homolog-2. *Oncogene*. — 2012. — 31(6):764–775.
15. Iorio M.V., Croce C.M. MicroRNA profiling in ovarian cancer. *Methods Mol Biol*. — 2013 — 1049:187–197.
16. Yang L., Li N., Wang H., Jia X., Wang X., Luo J. Altered microRNA expression in cisplatin-resistant ovarian cancer cells and upregulation of miR-130a associated with MDR1/P-glycoprotein-mediated drug resistance. *Oncol Rep*. — 2012. — 28(2):592–600.
17. Yang H., Kong W., He L., Zhao J.J., O'Donnell J.D., Wang J., Wenham R.M., Coppola D., Kruk P.A., Nicosia S.V. et al. MicroRNA expression profiling in human ovarian cancer: miR-214 induces cell survival and cisplatin resistance by targeting PTEN. *Cancer Res*. — 2008. — 68(2):425–433.
18. Ling S., Ruiqin M., Guohong Z., Ying W. Expression and prognostic significance of microRNA-451 in human epithelial ovarian cancer. *Eur J Gynaecol Oncol*. — 2015. — 36(4):463–468.
19. Yu X., Zhang X., Bi T., Ding Y., Zhao J., Wang C., Jia T., Han D., Guo G., Wang B. et al. MiRNA expression signature for potentially predicting the prognosis of ovarian serous carcinoma. *Tumour Biol*. — 2013. — 34(6):3501–3508.
20. Liu M., Zhang X., Hu C.F., Xu Q., Zhu H.X., Xu N.Z. MicroRNA-mRNA functional pairs for cisplatin resistance in ovarian cancer cells. *Chin J Cancer*. — 2014. — 33(6):285–294.
21. Liu Z., Gersbach E., Zhang X., Xu X., Dong R., Lee P., Liu J., Kong B., Shao C., Wei J.J. MiR-106a represses the Rb tumor suppressor p130 to regulate cellular proliferation and differentiation in high-grade serous ovarian carcinoma. *Mol Cancer Res*. — 2013. — 11(11):1314–1325.
22. Wang X., Meng X., Li H., Liu W., Shen S., Gao Z. MicroRNA-25 expression level is an independent prognostic factor in epithelial ovarian cancer. *Clin Transl Oncol*. — 2014. — 16(11):954–958.
23. Wang L., Zhu M.J., Ren A.M., Wu H.F., Han W.M., Tan R.Y., Tu R.Q. A ten-microRNA signature identified from a genome-wide microRNA expression profiling in human epithelial ovarian cancer. *PLoS One*. — 2014. — 9(5):e96472.
24. Wang S., Zhao X., Wang J., Wen Y., Zhang L., Wang D., Chen H., Chen Q., Xiang W. Upregulation of microRNA-203 is associated with advanced tumor progression and poor prognosis in epithelial ovarian cancer. *Med Oncol*. — 2013. — 30(3):681.
25. Fan Y., Fan J., Huang L., Ye M., Huang Z., Wang Y., Li Q., Huang J. Increased expression of microRNA-196a predicts poor prognosis in human ovarian carcinoma. *Int J Clin Exp Pathol*. — 2015. — 8(4):4132–4137.
26. Jin M., Yang Z., Ye W., Xu H., Hua X. MicroRNA-150 predicts a favorable prognosis in patients with epithelial ovarian cancer, and inhibits cell invasion and metastasis by suppressing transcriptional repressor ZEB1. *PLoS One*. — 2014. — 9(8):e103965.
27. Kim Y.W., Kim E.Y., Jeon D., Liu J.L., Kim H.S., Choi J.W., Ahn W.S. Differential microRNA expression signatures and cell type-specific association with Taxol resistance in ovarian cancer cells. *Drug Des Devel Ther*. — 2014. — 8:293–314.
28. Vilming Elgaaen B., Olstad O.K., Haug K.B., Brusletto B., Sandvik L., Staff A.C., Gautvik K.M., Davidson B. Global miRNA expression analysis of serous and clear cell ovarian carcinomas identifies differentially expressed miRNAs including miR-200c-3p as a prognostic marker. *BMC Cancer*. — 2014. — 14:80.
29. Tang Z., Ow G.S., Thiery J.P., Ivshina A.V., Kuznetsov V.A. Meta-analysis of transcriptome reveals let-7b as an unfavorable prognostic biomarker and predicts molecular and clinical subclasses in high-grade serous ovarian carcinoma. *Int J Cancer*. — 2013. — 134(2):306–318.

30. Qin C.Z., Lou X.Y., Lv Q.L., Cheng L., Wu N.Y., Hu L., Zhou H.H. MicroRNA-184 acts as a potential diagnostic and prognostic marker in epithelial ovarian cancer and regulates cell proliferation, apoptosis and inflammation. *Pharmazie*. — 2015. — 70(10):668–673.
31. Li W., Liu Z., Chen L., Zhou L., Yao Y. MicroRNA-23b is an independent prognostic marker and suppresses ovarian cancer progression by targeting runt-related transcription factor-2. *FEBS Lett*. — 2014. — 588(9):1608–1615.
32. Luo J., Zhou J., Cheng Q., Zhou C., Ding Z. Role of microRNA-133a in epithelial ovarian cancer pathogenesis and progression. *Oncol Lett*. — 2014. — 7(4):1043–1048.
33. Wang Y., Li L., Qu Z., Li R., Bi T., Jiang J., Zhao H. The expression of miR-30a* and miR-30e* is associated with a dualistic model for grading ovarian papillary serous carcinoma. *Int J Oncol*. — 2014. — 44(6):1904–1914.
34. Zhou J., Gong G., Tan H., Dai F., Zhu X., Chen Y., Wang J., Liu Y., Chen P., Wu X. et al. Urinary microRNA-30a-5p is a potential biomarker for ovarian serous adenocarcinoma. *Oncol Rep*. — 2015. — 33(6):2915–2923.
35. Zhang X., Guo G., Wang G., Zhao J., Wang B., Yu X., Ding Y. Profile of differentially expressed miRNAs in high-grade serous carcinoma and clear cell ovarian carcinoma, and the expression of miR-510 in ovarian carcinoma. *Mol Med Rep*. — 2015.
36. Banno K., Yanokura M., Iida M., Adachi M., Nakamura K., Nogami Y., Umene K., Masuda K., Kisu I., Nomura H. et al. Application of microRNA in diagnosis and treatment of ovarian cancer. *Biomed Res Int*. — 2014. — 2014:232817.
37. Vecchione A., Belletti B., Lovat F., Volinia S., Chiappetta G., Giglio S., Sonogo M., Cirombella R., Onesti E.C., Pellegrini P. et al. A microRNA signature defines chemoresistance in ovarian cancer through modulation of angiogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA*. — 2013. — 110(24):9845–9850.
38. Ying H.C., Xu H.Y., Lv J., Ying T.S., Yang Q. MicroRNA signatures of platinum-resistance in ovarian cancer. *Eur J Gynaecol Oncol*. — 2015. — 36(1):16–20.
39. Brozovic A., Duran G.E., Wang Y.C., Francisco E.B., Sikić B.I. The miR-200 family differentially regulates sensitivity to paclitaxel and carboplatin in human ovarian carcinoma OVCAR-3 and MES-OV cells. *Mol Oncol* 2015. — 9(8):1678–1693.
40. Davidson B., Trope C.G., Reich R. The clinical and diagnostic role of microRNAs in ovarian carcinoma. *Gynecol Oncol*. — 2014. — 133(3):640–646.
41. Langhe R. MicroRNA and Ovarian Cancer. *Adv Exp Med Biol*. — 2015. — 889:119–151.
42. Petrillo M., Zannoni G., Beltrame L., Martinelli E., DiFeo A., Paracchini L., Craparotta I., Mannarino L., Vizzielli G., Scambia G. et al. Identification of high-grade serous ovarian cancer miRNA species associated with survival and drug response in patients receiving neo-adjuvant chemotherapy: a retrospective longitudinal analysis using matched tumor biopsies. *Ann Oncol*. — 2016. — doi: 10.1093/annonc/mdw007.
43. Jabbari N., Reavis A.N., McDonald J.F. Sequence variation among members of the miR-200 microRNA family is correlated with variation in the ability to induce hallmarks of mesenchymal-epithelial transition in ovarian cancer cells. *J Ovarian Res*. — 2014, 7:12.
44. Chen D., Zhang Y., Wang J., Chen J., Yang C., Cai K., Wang X., Shi F., Dou J. MicroRNA-200c overexpression inhibits tumorigenicity and metastasis of CD117+CD44+ ovarian cancer stem cells by regulating epithelial-mesenchymal transition. *J Ovarian Res*. — 2013. — 6(1):50.
45. Gao N., Tian J.X., Shang Y.H., Zhao D.Y., Wu T. Catalpol suppresses proliferation and facilitates apoptosis of OVCAR-3 ovarian cancer cells through upregulating microRNA-200 and downregulating MMP-2 expression. *Int J Mol Sci*. — 2014. — 15(11):19394–19405.
46. Ibrahim F.F., Jamal R., Syafruddin S.E., Ab Mutalib N.S., Saidin S., MdZin R.R., Hossain Mollah M.M., Mokhtar N.M. MicroRNA-200c and microRNA-31 regulate proliferation, colony formation, migration and invasion in serous ovarian cancer. *J Ovarian Res*. — 2015. — 8:56.
47. Knouf E.C., Garg K., Arroyo J.D., Correa Y., Sarkar D., Parkin R.K., Wurz K., O'Briant K.C., Godwin A.K., Urban N.D. et al. An integrative genomic approach identifies p73 and p63 as activators of miR-200 microRNA family transcription. *Nucleic Acids Res*. — 2011. — 40(2):499–510.
48. Liu N., Zhong L., Zeng J., Zhang X., Yang Q., Liao D., Wang Y., Chen G. Upregulation of microRNA-200a associates with tumor proliferation, CSCs phenotype and chemosensitivity in ovarian cancer. *Neoplasma*. — 2015. — 62(4):550–559.
49. Nam E.J., Lee M., Yim G.W., Kim J.H., Kim S., Kim S.W., Kim Y.T. MicroRNA profiling of a CD133(+) spheroid-forming subpopulation of the OVCAR3 human ovarian cancer cell line. *BMC Med Genomics*. — 2012. — 5:18.
50. Wu Q., Guo R., Lin M., Zhou B., Wang Y. MicroRNA-200a inhibits CD133/1+ ovarian cancer stem cells migration and invasion by targeting E-cadherin repressor ZEB2. *Gynecol Oncol*. — 2011. — 122(1):149–154.
51. Cheng W., Liu T., Wan X., Gao Y., Wang H. MicroRNA-199a targets CD44 to suppress the tumorigenicity and multidrug resistance of ovarian cancer-initiating cells. *FEBS J*. — 2012. — 279(11):2047–2059.
52. Joshi H.P., Subramanian I.V., Schnettler E.K., Ghosh G., Rupaimoole R., Evans C., Saluja M., Jing Y., Cristina I., Roy S. et al. Dynamin 2 along with microRNA-199a reciprocally regulate hypoxia-inducible factors and ovarian cancer metastasis. *Proc Natl Acad Sci USA*. — 2014. — 111(14):5331–5336.

53. Kinose Y., Sawada K., Nakamura K., Sawada I., Toda A., Nakatsuka E., Hashimoto K., Mabuchi S., Takahashi K., Kurachi H. et al. The hypoxia-related microRNA miR-199a-3p displays tumor suppressor functions in ovarian carcinoma. *Oncotarget*. — 2015. — 6(13):11342–11356.
54. Liu M.X., Siu M.K., Liu S.S., Yam J.W., Ngan H.Y., Chan D.W. Epigenetic silencing of microRNA-199b-5p is associated with acquired chemoresistance via activation of JAG1-Notch1 signaling in ovarian cancer. *Oncotarget*. — 2014. — 5(4):944–958.
55. Wang Z., Ting Z., Li Y., Chen G., Lu Y., Hao X. MicroRNA-199a is able to reverse cisplatin resistance in human ovarian cancer cells through the inhibition of mammalian target of rapamycin. *Oncol Lett*. — 2013. — 6(3):789–794.
56. Zhao H.M., Wei W., Sun Y.H., Gao J.H., Wang Q., Zheng J.H. MicroRNA-9 promotes tumorigenesis and mediates sensitivity to cisplatin in primary epithelial ovarian cancer cells. *Tumour Biol*. — 2015. — 36(9):6867–6873.
57. Guo L.M., Pu Y., Han Z., Liu T., Li Y.X., Liu M., Li X., Tang H. MicroRNA-9 inhibits ovarian cancer cell growth through regulation of NF-kappaB1. *FEBS J*. — 2009. — 276(19):5537–5546.
58. Zhao S.F., Zhang X., Zhang X.J., Shi X.Q., Yu Z.J., Kan Q.C. Induction of microRNA-9 mediates cytotoxicity of curcumin against SKOV3 ovarian cancer cells. *Asian Pac J Cancer Prev*. — 2014. — 15(8):3363–3368.
59. Dong R., Liu X., Zhang Q., Jiang Z., Li Y., Wei Y., Yang Q., Liu J., Wei J.J., Shao C. et al. MiR-145 inhibits tumor growth and metastasis by targeting metadherin in high-grade serous ovarian carcinoma. *Oncotarget*. — 2014. — 5(21):10816–10829.
60. Zhang W., Wang Q., Yu M., Wu N., Wang H. MicroRNA-145 function as a cell growth repressor by directly targeting c-Myc in human ovarian cancer. *Technol Cancer Res Treat*. — 2013. — 13(2):161–168.
61. Zhou J., Gong J., Ding C., Chen G. Quercetin induces the apoptosis of human ovarian carcinoma cells by upregulating the expression of microRNA-145. *Mol Med Rep*. — 2015. — 12(2):3127–3131.
62. Gao Y., Meng H., Liu S., Hu J., Zhang Y., Jiao T., Liu Y., Ou J., Wang D., Yao L. et al. LncRNA-HOST2 regulates cell biological behaviors in epithelial ovarian cancer through a mechanism involving microRNA let-7b. *Hum Mol Genet*. — 2014. — 24(3):841–852.
63. Liu N., Zhou C., Zhao J., Chen Y. Reversal of paclitaxel resistance in epithelial ovarian carcinoma cells by a MUC1 aptamer-let-7i chimera. *Cancer Invest*. — 2012. — 30(8):577–582.
64. Su Z., Hou X.K., Wen Q.P. Propofol induces apoptosis of epithelial ovarian cancer cells by upregulation of microRNA let-7i expression. *Eur J Gynaecol Oncol*. — 2015. — 35(6):688–691.
65. Xie Y.L., Yang Y.J., Tang C., Sheng H.J., Jiang Y., Han K., Ding L.J. Estrogen combined with progesterone decreases cell proliferation and inhibits the expression of Bcl-2 via microRNA let-7a and miR-34b in ovarian cancer cells. *Clin Transl Oncol*. — 2014. — 16(10):898–905.
66. Xu C.X., Xu M., Tan L., Yang H., Permeth-Wey J., Kruk P.A., Wenham R.M., Nicosia S.V., Lancaster J.M., Sellers T.A. et al. MicroRNA miR-214 regulates ovarian cancer cell stemness by targeting p53/Nanog. *J Biol Chem*. — 2012. — 287(42):34970–34978.
67. Chen Y.F., Dong Z., Xia Y., Tang J., Peng L., Wang S., Lai D. Nucleoside analog inhibits microRNA-214 through targeting heat-shock factor 1 in human epithelial ovarian cancer. *Cancer Sci*. — 2013. — 104(12):1683–1689.
68. Hu X., Macdonald D.M., Huettner P.C., Feng Z., El Naqa I.M., Schwarz J.K., Mutch D.G., Grigsby P.W., Powell S.N., Wang X. A miR-200 microRNA cluster as prognostic marker in advanced ovarian cancer. *Gynecol Oncol*. — 2009. — 114(3):457–464.
69. Koutsaki M., Spandidos D.A., Zaravinos A. Epithelial-mesenchymal transition-associated miRNAs in ovarian carcinoma, with highlight on the miR-200 family: prognostic value and prospective role in ovarian cancer therapeutics. *Cancer Lett*. — 2014. — 351(2):173–181.
70. Resnick K.E., Alder H., Hagan J.P., Richardson D.L., Croce C.M., Cohn D.E. 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):55–59.
71. Gao Y.C., Wu J. MicroRNA-200c and microRNA-141 as potential diagnostic and prognostic biomarkers for ovarian cancer. *Tumour Biol*. — 2015. — 36(6):4843–4850.
72. Chung Y.W., Bae H.S., Song J.Y., Lee J.K., Lee N.W., Kim T., Lee K.W. Detection of microRNA as novel biomarkers of epithelial ovarian cancer from the serum of ovarian cancer patients. *Int J Gynecol Cancer*. — 2013. — 23(4):673–679.
73. Chao A., Lai C.H., Chen H.C., Lin C.Y., Tsai C.L., Tang Y.H., Huang H.J., Lin C.T., Chen M.Y., Huang K.G. et al. Serum microRNAs in clear cell carcinoma of the ovary. *Taiwan J Obstet Gynecol*. — 2014. — 53(4):536–541.
74. Guo F., Tian J., Lin Y., Jin Y., Wang L., Cui M. Serum microRNA-92 expression in patients with ovarian epithelial carcinoma. *J Int Med Res*. — 2013. — 41(5):1456–1461.
75. Hong F., Li Y., Xu Y., Zhu L. Prognostic significance of serum microRNA-221 expression in human epithelial ovarian cancer. *J Int Med Res*. — 2013. — 41(1):64–71.

76. Ji T., Zheng Z.G., Wang F.M., Xu L.J., Li L.F., Cheng Q.H., Guo J.F., Ding X.F. Differential microRNA expression by Solexa sequencing in the sera of ovarian cancer patients. *Asian Pac J Cancer Prev.* — 2014. — 15(4):1739–1743.
77. Kan C.W., Hahn M.A., Gard G.B., Maidens J., Huh J.Y., Marsh D.J., Howell V.M. Elevated levels of circulating microRNA-200 family members correlate with serous epithelial ovarian cancer. *BMC Cancer.* — 2013. — 12:627.
78. Langhe R., Norris L., Saadeh F.A., Blackshields G., Varley R., Harrison A., Gleeson N., Spillane C., Martin C., O'Donnell D.M. et al. A novel serum microRNA panel to discriminate benign from malignant ovarian disease. *Cancer Lett.* — 2015. — 356(2 Pt B):628–636.
79. Liang H., Jiang Z., Xie G., Lu Y. Serum microRNA-145 as a novel biomarker in human ovarian cancer. *Tumour Biol.* — 2015. — 36(7):5305–5313.
80. Xu Y.Z., Xi Q.H., Ge W.L., Zhang X.Q. Identification of serum microRNA-21 as a biomarker for early detection and prognosis in human epithelial ovarian cancer. *Asian Pac J Cancer Prev.* — 2013. — 14(2):1057–1060.
81. Ayaz L., Cayan F., Balci S., Gorur A., Akbayir S., Yildirim Yaroglu H., Dogruer Unal N., Tamer L. Circulating microRNA expression profiles in ovarian cancer. *J Obstet Gynaecol.* — 2014. — 34(7):620–624.
82. Blondal T., Jensby Nielsen S., Baker A., Andreasen D., Mouritzen P., Wrang Teilum M., Dahlsveen I.K. Assessing sample and miRNA profile quality in serum and plasma or other biofluids. *Methods.* — 2013. — 59(1):1–6.
83. Wang Z.H., Xu C.J. Research Progress of MicroRNA in Early Detection of Ovarian Cancer. *Chin Med J (Engl).* — 2015. — 128(24):3363–3370.
84. Quitadamo A., Tian L., Hall B., Shi X. An integrated network of microRNA and gene expression in ovarian cancer. *BMC Bioinformatics.* — 2015. — 16 Suppl 5:5.
85. Wan Y.W., Mach C.M., Allen G.I., Anderson M.L., Liu Z. On the reproducibility of TCGA ovarian cancer microRNA profiles. *PLoS One.* — 2014. — 9(1):e87782.

АВТОРЫ

Герштейн Елена Сергеевна, д.ф.н., профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории клинической биохимии ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва, 115478, Каширское шоссе, 24.

Gershteyn Elena Sergeevna, Ph.D. in Physical Sciences, Professor, Leading Research Associate of the Laboratory of Clinical Biochemistry of Federal State Budgetary Institution «N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow, 115478, Kashirskoye shosse, 24.

Кушлинский Дмитрий Николаевич, врач ФГБУ «Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В.И. Кулакова» Минздрава России, Москва, 117997, ул. Академика Опарина, 4.

Kushlinskiy Dmitriy Nikolaevich, Physician of Federal State Budgetary Institution «V.I. Kulakov Research Center of Obstetrics, Gynecology and Perinatology» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow, Academician Oparin street, 4.

Адамян Лейла Владимировна, академик РАН, профессор, руководитель отделения оперативной гинекологии ФГБУ «Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В.И. Кулакова» Минздрава России, заведующий кафедрой репродуктивной медицины и хирургии ГБОУ ВПО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова» Минздрава России, Москва, 127473, ул. Делегатская, 20 стр. 1.

Adamyany Leyla Vladimirovna, Academician of the Russian Academy of Sciences, Professor, Chief of Department of Gynecologic Surgery of Federal State Budgetary Institution «V.I. Kulakov Research Center of Obstetrics, Gynecology and Perinatology» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Head of the Chair of Reproductive Medicine and Surgery of State Budgetary Educational Institution of Higher Professional Education «A.I. Evdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow, 127473, Delegatskaya street, 20 building 1.

Кушлинский Николай Евгеньевич, член-корреспондент РАН, профессор, заведующий лабораторией клинической биохимии ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва 115478, Каширское шоссе, 24.

Kushlinskiy Nikolay Evgenievich, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Professor, Chief of Laboratory of Clinical Biochemistry of Federal State Budget Institution «N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow, 115478, Kashirskoye shosse, 24.