

МЕТИЛИРОВАНИЕ ГЕНОВ СУПРЕССОРНЫХ МИКРОРНК ПРИ РАКЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

О.А. Талипов¹, Д.А. Рябчиков¹, С.В. Чулкова^{1,2}, И.К. Воротников¹, А.М. Казаков¹, В.И. Логинов³, Т.П. Казубская¹, М.С. Винокуров¹, А.А. Осипова¹, Ф.К. Бердова¹

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва

²ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва

³ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии», Москва

Цель. Определение профиля метилирования генов супрессорных miR-203a, -375, -124a-1/2/3, -137, -127, -125b-1, -130b, -107 при раке молочной железы.

Материалы и методы. Методом бисульфитной конверсии ДНК с последующей метил-специфичной полимеразной цепной реакцией (ПЦР) определено изменение статуса метилирования 10 генов в CpG-островках промотора: miR-203a, miR-375, miR-124a-1/2/3, miR-137, miR-130b, miR-107, miR-125b-1 и miR-127. Исследование выполнено на представленной выборке из 70 парных (опухоль/непораженная ткань молочной железы) образцов ДНК, полученных от больных раком молочной железы (РМЖ). Полученные результаты обработаны с использованием стандартных статистических программ STATISTICA, v. 10 и SPSS, v. 21.

Результаты. Частота метилирования генов miR 124a-1, -124a-3, -125b-1, -127, -137, -130b в опухоли по сравнению с гистологически неизменной тканью была достоверно выше ($p < 0,05$). Наиболее часто наблюдалось метилирование генов miR 124a-1 (75,7%, $n = 53$ против 27,1%, $n = 19$, $p < 0,05$) и miR-125b-1 (48,6%, $n = 34$, $p < 0,05$). Гиперметилирование miR-125b-1, miR-127 при РМЖ показано впервые. Показана достоверная взаимосвязь метилирования нескольких генов miR (-127, 137, 125b-1) с показателями прогрессирования РМЖ (стадия, размер опухоли, метастазирование в лимфатические узлы). Установлено кометилирование отдельных miR ($p < 0,05$).

Заключение. Полученные данные об эпигенетических нарушениях дополняют «молекулярный портрет» РМЖ и вносят вклад в понимание его патогенеза. Установлена связь метилирования ряда генов микроРНК с прогрессированием РМЖ. Выявленные особенности метилирования исследованных генов в дальнейшем помогут в разработке современных подходов в диагностике и прогнозировании РМЖ.

Ключевые слова: метилирование генов, микроРНК, рак молочной железы.

METHYLATION OF SUPPRESSOR MICRORNA GENES IN BREAST CANCER

O.A. Talipov¹, D.A. Ryabchikov¹, S.V. Tchulkova^{1,2}, I.K. Vorotnikov¹, A.M. Kazakov¹, V.I. Loginov³, T.P. Kazubskaya¹, M.S. Vinokurov¹, A.A. Osipova¹, F.K. Berdova¹

¹ Federal State Budgetary Institution «N.N.Blokhin National Medical Research Center of Oncology» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow, Russia

² Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education «N.I.Pirogov Russian National Research Medical University» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow, Russia

³ Federal State Budgetary Research Institution «Scientific Research Institute of General Pathology and Pathophysiology», Moscow

Objective of the study is to determine the profile of methylation of suppressor miR -203a, -375, -124a-1/2/3, -137, -127, -125b-1, -130b, -107 genes in breast cancer.

Materials and Methods. The change in the methylation status of 10 genes in promoter CpG-islets: miR-203a, miR-375, miR-124a-1/2/3, miR-137, miR-130b, miR-107, miR-125b-1 and miR-127 was determined using the method of DNA bisulfite conversion with subsequent methylation-specific polymerase chain reaction (PCR). The study was performed on a sample of 70 paired (tumor/unaffected breast tissue) DNA specimens obtained from breast cancer patients. The results were analyzed using standard statistical programmes STATISTICA, v. 10 and SPSS, v. 21.

Results. The frequency of miR 124a-1, -124a-3, -125b-1, -127, -137, -130b gene methylation in a tumor compared to histologically intact tissue was reliably higher ($p < 0,05$). miR 124a-1 (75,7%, $n=53$ against 27,1%, $n=19$, $p < 0,05$) and miR-125b-1 (48,6%, $n=34$, $p < 0,05$) gene methylation was observed most commonly. miR-125b-1, miR-127 hypermethylation in breast cancer was observed for the first time. Reliable correlation between the methylation of several miR (-127, 137, 125b-1) genes with breast cancer progression indicators (stage, tumor size, metastasis into lymph nodes) was demonstrated. Co-methylation of separate miR was identified ($p < 0,05$).

Conclusion. The findings on epigenetic disorders complement the «molecular profile» of breast cancer and contribute to understanding its pathogenesis. The relationship between the methylation of a number of microRNA genes and breast cancer progression was found. The features of methylation of the genes, revealed under this study, will further enhance the development of the novel approaches to breast cancer diagnosis and prognosis.

Keywords: gene methylation, microRNA, breast cancer.

Введение

Несмотря на успехи ранней диагностики и лечения, рак молочной железы (РМЖ) остается лидером онкологической патологии у женщин и потенциально смертельной болезнью. Ежегодный стандартизированный показатель прироста заболеваемости в нашей стране за последние 10 лет составил 1,8% [1]. Точные механизмы возникновения и развития опухолей в настоящее время неизвестны, поэтому меры первичной профилактики в группах риска развития РМЖ недостаточно эффективны [2]. Исследования последних десятилетий свидетельствуют о гетерогенности РМЖ и широком спектре его морфологических и молекулярных подтипов [3]. Длительное время заболевание классифицировали только по клинкоморфологическим параметрам. С конца XX в. для диагностики и выбора адекватного лечения используют молекулярные маркеры [4].

Как известно, течение РМЖ зависит от многих факторов, включая генетические и эпигенетические нарушения. Одним из перспективных прогностических и диагностических маркеров на сегодняшний день при солидных опухолях рассматриваются микроРНК [5, 11]. МикроРНК (microRNA) — группа небольших белок-некодирующих последовательностей (20–22 нуклеотида), которые играют важную роль в регуляции экспрессии генов на посттранскрипционном уровне. Они участвуют в регуляции таких фундаментальных биологических процессов, как клеточная пролиферация, дифференцировка, апоптоз, адгезия, ангиогенез, ответ на стресс, в воспалительных процессах [3, 12]. МикроРНК распознает свои комплементарные последовательности в 3'-нетранслируемой области (3'-НТО) мРНК-мишеней [5]. Следует отметить,

что только зрелая микроРНК способна обеспечить распознавание в мРНК последовательности. В зависимости от комплементарности микроРНК с участком связывания в 3'-НТО мРНК-мишени их взаимодействие приводит либо к деградации мРНК-мишени (если она полностью комплементарна), либо к блокировке трансляции (если комплементарность частичная) [7]. По разным оценкам, от 30 до 60% генов человека являются мишенями микроРНК [13].

Нарушение экспрессии и регуляторной функции микроРНК может возникать в результате эпигенетической модификации (гиперметилирования). Гиперметилирование регуляторных участков генов микроРНК нарушает их взаимодействие с факторами транскрипции, поскольку происходит блокирование этих участков посредством белков, специфично связывающихся с метилированными CpG-парами (Methyl CpG binding proteins). Кроме того, в результате метилирования происходит изменение окружающего хроматина с переходом его в стабильно репрессированное состояние [14]. Следует отметить, что гиперметилирование генов микроРНК встречается в 5–6 раз чаще, чем белок-кодирующих генов [15]. Прежде всего это касается микроРНК, относящихся к супрессорным: miR-203a, -375, -124a-1/2/3, -137, -127, -125b-1, -130b, -107. Эти микроРНК ингибируют экспрессию онкогенов и тем самым сдерживают опухолевую прогрессию [3]. При разных видах рака изучаются профили метилирования генов микроРНК, поскольку они могут использоваться как прогностические и диагностические биомаркеры.

Цель: определение профиля метилирования генов супрессорных miR -203a, -375, -124a-1/2/3, -137, -127, -125b-1, -130b, -107 при РМЖ.

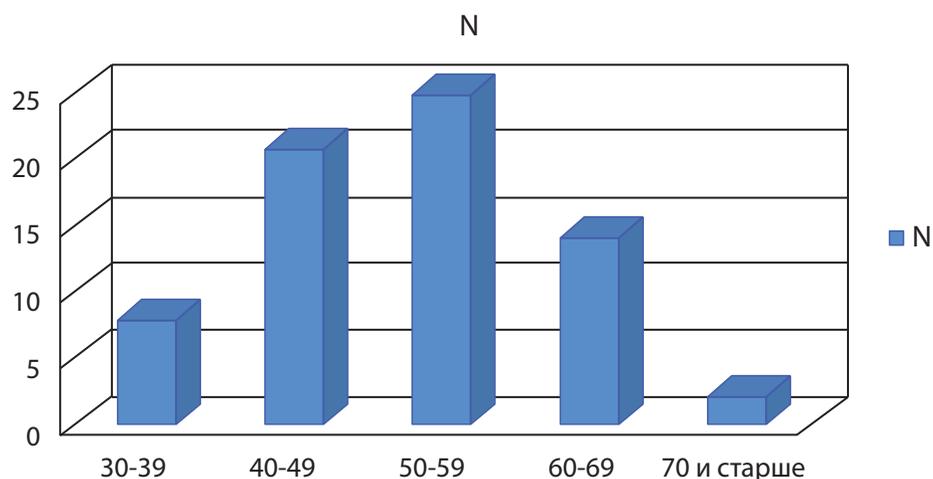


Рис. 1. Распределение пациентов в зависимости от возраста

Материалы и методы

В исследования включены 70 больных РМЖ в возрасте от 30 до 72 лет (средний возраст $51,9 \pm 9,8$ лет, медиана 54 года) (рис. 1). Статистически значимых различий распределения больных по возрастным группам не отмечено. Как видно из рисунка, большинство составили пациентки от 40 до 60 лет.

Все пациентки прошли обследование и лечение в ФГБУ «НМИЦ онкологии имени Н.Н. Блохина» Минздрава России в период с января 2004 г. по декабрь 2017 г. Диагноз был

Таблица 1

Распределение больных по стадиям заболевания

Показатель	Количество больных	Процент (%)
Стадии		
I	11	15,7
II	36	51,4
III	22	31,4
IV	1	1,4
Размер опухоли		
T1	15	21,4
T2	43	61,4
T3	5	7,2
T4	7	10
Метастазы		
N0M0	28	40
N1-2/M1	42	60

верифицирован гистологически и иммуногистохимически. В исследовании преобладали больные со II (51,4%) и III (31,4%) стадиями опухолевого процесса (табл. 1).

В таблице 2 представлено распределение больных по молекулярно-биологическим подтипам. Люминальный РМЖ диагностирован в 55 случаях; подтип А установлен у 19 больных; подтип Б-Her2/neu-негативный — у 13 больных, и в 23 случаях — подтип Б-Her2/neu-позитивный. Другие молекулярные подтипы РМЖ наблюдались в 15 случаях: трижды негативный — в 10 и Her2/neu(+) обогащенный — в пяти.

Молекулярно-генетические исследования провели на базе лаборатории патогеномики и транскриптомики ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии» (заведующий лабораторией — доктор биологических наук, профессор Э.А. Брага).

Материалом для исследования послужили 70 парных образцов (опухоль/непораженная ткань молочной железы). С использованием метода метил-специфичной ПЦР (МС-ПЦР) с праймерами, специфичными к метилированным и неметилированным аллелям, исследованы профили метилирования 10 генов микроРНК: miR-203a, miR-375, miR-124a-1/2/3, miR-137, miR-130b, miR-107, miR-125b-1 и miR-127.

Метод метил-специфичной ПЦР (МС-ПЦР)

Препараты ДНК из опухолей и из соответствующей нормальной ткани подвергали кон-

версии бисульфитом, а затем исследовали с помощью МС-ПЦР. Праймеры подбирали к исследуемому локусу в двух вариантах: 1) к метилированному аллелю, 2) к неметилированному аллелю. CpG-динуклеотиды в составе праймеров не метилированы. Праймеры комплементарны полностью метилированной или неметилированной ДНК после бисульфитной конверсии. МС-ПЦР проводили в 20 мкл реакционной смеси («СибЭнзим», Новосибирск).

Аmplификацию проводили по установленной программе (амплификатор T100 Bio-Rad, США). Для каждой пары праймеров проверяли отсутствие продукта ПЦР на неконвертированной ДНК и наличие продукта ПЦР на конвертированной ДНК. В качестве контролей для неметилированных аллелей использовали коммерческий препарат ДНК #G1471 (Promega, США).

В качестве позитивного контроля 100% метилирования использовали коммерческий препарат ДНК #SD1131 (Thermo Fisher Scientific, США). Продукты ПЦР разделяли с помощью электрофореза в 2% агарозном геле и результат анализировали с помощью системы Gel Doc EZ System (Bio-rad, США).

Подбор праймеров для МС-ПЦР осуществляли с помощью программ Methyl Primer Express v.1.0 (Invitrogen, США) и Primer Select (DNASTAR, США) со следующими параметрами: размер ампликонов 100–200 пар оснований, от 4 до 7 CpG-динуклеотидов на пару праймеров, от 4 до 10 цитозиновых остатков, не входящих в CpG-динуклеотиды, разница в температурах плавления праймеров в паре праймеров — не более 5 градусов. Первоначальные варианты пар праймеров проверяли на образо-

вание димеров, самодимеров и вторичных структур с помощью программы Vector NTI v.10.0 (Invitrogen, США).

Для статистической обработки результатов проведенного исследования все данные 70 больных РМЖ сформированы с помощью специально разработанного кодификатора и внесены в базу данных, созданную на основе электронных таблиц EXCEL v. 2010 г. Полученные результаты обработаны стандартными пакетами STATISTICA, v. 10 и SPSS, v. 21.

Достоверность различий между количественными показателями вычисляли по критерию *t* Стьюдента для нормально распределенных величин. Для сравнения качественных параметров применяли точный критерий Фишера и X². Различия считали значимыми при $p < 0,05$ (точность $\geq 95\%$); также использовалась маргинальная значимость ($0,05 < p < 0,1$) для обозначения тенденции.

Результаты и обсуждение

В нашем исследовании изучено метилирование 10 генов микроРНК, результаты которого представлены в табл. 3. Как видно из таблицы, частота метилирования генов микроРНК-124a-1, -124a-3, -125b-1, -127, -137, -130b в опухоли была статистически значимо выше ($p < 0,05$, по Фишеру), чем в образцах гистологически неизменной ткани молочной железы. Повышение частоты метилирования указанных генов описано при различных видах опухолей (в том числе при РМЖ) в других исследованиях зарубежными коллегами [14–17]. Обращает на себя внимание, что наиболее часто при РМЖ наблюдалось метилирование генов miR-124a-1 (75,7%, $n = 53$ против 27,1%, $n = 19$, $p < 0,05$),

Таблица 2

Распределение больных по молекулярно-биологическим подтипам

Подтипы РМЖ	Количество больных	Процент (%)
Люминальный А (РЭ и/или РП +, Her2/neu –, Ki67 менее 20)	19	27,1
Люминальный Б Her2/neu негативный (Her2/neu –, РЭ/РП +, Ki67 выше 20)	13	18,6
Люминальный Б Her2/neu позитивный (Her2/neu +, РЭ/РП +, Ki67 выше 20)	23	32,9
Erb-B2 — сверхэкспрессирующий (Her2/neu +, РЭ/РП –)	5	7,1
Трижды негативный	10	14,3
Итого	70	100

чем в образцах гистологически неизменной ткани молочной железы (табл. 3). Известно, что в результате метилирования промоторных CpG-островков генов микроРНК miR 124a (miR 124a 1,-2,-3) их экспрессия снижается. Низкий уровень экспрессии miR 124 наблюдается при метастатических и агрессивных формах РМЖ [17].

Чуть реже в нашем исследовании наблюдалось метилирование гена miR-125b-1, которое составило 48,6% ($n = 34, p < 0,05$), тогда как в образцах нормальной ткани молочной железы лишь у четырех больных выявлено метилирование данного гена.

Довольно часто выявлялось метилирование miR-375, однако различия недостоверны ($p = 0,1559$).

Частота метилирования генов микроРНК -124a-1, -124a-3, -137, -130b в гистологически неизменной ткани варьировала в диапазоне 10,0–27,1%. Установленное повышение частоты метилирования генов в условно нормальной ткани может означать, что события, выявленные нами на молекулярном уровне, опережают изменения на гистологическом уровне. Это может свидетельствовать о вовлеченности близлежащей ткани в опухолевый процесс. Вероятно,

метилование этих генов относится к ранним событиям в патогенезе РМЖ, что может служить основанием для их использования с целью ранней диагностики данного заболевания.

Следует подчеркнуть, что гиперметилование генов микроРНК miR-125b-1, miR-127 при РМЖ показано впервые. Изменение частоты метилирования для генов микроРНК miR-124a-2, -203a, -375 и -107 в опухоли по сравнению с гистологически неизменной тканью варьировало в диапазоне 0–1,7 раза и было статистически незначимо. В литературе существуют данные о частоте гиперметилования указанных генов miR при различных типах опухолей, но они противоречивы [3].

По данным различных исследований, при ряде опухолей отмечается ассоциация метилирования генов микроРНК с клиническими характеристиками опухоли. Нами также был проведен анализ изменения частоты метилирования генов микроРНК в зависимости от размера опухоли, поражения лимфатических узлов и от стадии заболевания. Выявлено статистически значимое увеличение частоты метилирования генов miR-127 и miR-137 на поздних III–IV стадиях по сравнению с I–II стадиями ($R = 0,503, p < 0,001$ и $R = 0,243, p < 0,05$, соответственно) (рис. 2).

Таблица 3

Частота метилирования генов микроРНК при РМЖ и в гистологически неизменной ткани молочной железы

Ген	Ткань молочной железы				p
	опухолевая (n = 70)		нормальная (n = 70)		
	абс.	%	абс.	%	
miR -124a-1	53	75,7	19	27,1*	1,3×10⁻⁸
miR -124a-2	16	22,9	17	24,3	1,0000
miR -124a-3	27	38,6	7	10,0*	0,0001
miR -125b-1	34	48,6	4	5,7*	8,7×10⁻⁹
miR -127	21	30,0	0	—*	9,7×10⁻⁷
miR -137	26	37,1	14	20,0*	0,0389
miR -203a	17	24,3	16	22,9	1,0000
miR -375	29	41,4	20	28,6	0,1559
miR -130b	26	37,1	10	14,3*	0,0034
miR -107	12	17,1	7	10,0	0,3237

* Различия достоверны по сравнению с нормальной тканью, $p < 0,05$.

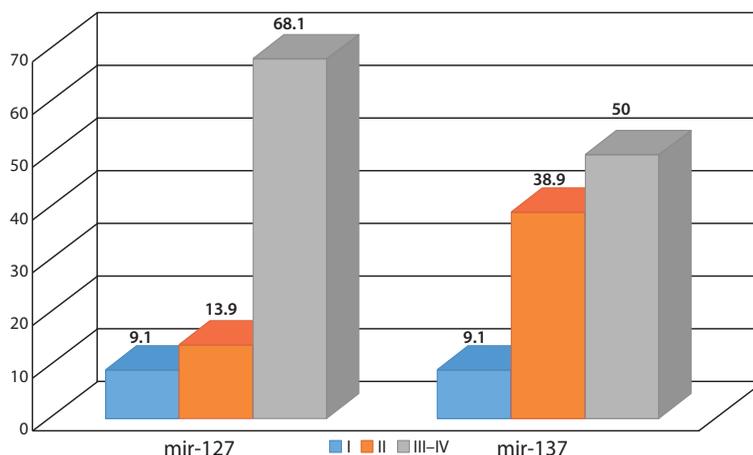


Рис. 2. Ассоциация метилирования генов *miR-127* и *miR-137* с клинической стадией РМЖ
Примечание: количество пациенток со стадиями I–IV — 11, 36, 22 и 1 соответственно

Также статистически значимо высокая частота метилирования гена *miR-127* связана с увеличением размера опухоли (T1/T2 против T3/T4), 10/56 против 11/14, $p = 0,0018$, а для генов *miR-125b-1*, *miR-127*, *miR-137* — с наличием метастазов в лимфатических узлах (N0M0 против N1-2M1) (9/28 против 25/42, $p = 0,0302$; 0/28 против 21/42, $p < 0,0001$; 6/28 против 20/42, $p = 0,0425$, соответственно).

Следующим этапом нами были сопоставлены данные по конкордантному изменению статуса метилирования исследованных генов микроРНК с использованием выборки из 70 образцов РМЖ. Конкордантность данных оценивали с помощью коэффициента корреляции Спирмена и выявили статистически значимую взаимосвязь между следующими генами микроРНК (табл. 4):

- *miR-124a-1* и *miR-124a-2*, *miR-137*;
- *miR-124a-3* и *125b-1*, *miR-137*;
- *miR-137* и *miR-124a-1*, *miR-124a-3*;
- *miR-127* и *miR-107*.

Полученные данные по кометилированию генов исследованных микроРНК могут свидетельствовать о том, что данные микроРНК предположительно участвуют в регуляции одних и тех же процессов в клетке, нарушение которых может приводить к прогрессированию РМЖ.

Роль супрессорных микроРНК в онкогенезе сложно переоценить. Например, изученные нами *miR-124a-1*, *miR-124a-2* и *miR-137* участвуют в совместной регуляции пролиферации клеток, вызывают остановку клеточного цикла в G1 фазе и апоптоз, ингибируют миграцию и инвазию клеток, влияют на дифференцировку стволовых клеток [3, 18]. Экспрессия генов *miR-124a-1*, *miR-124a-2* инактивируется в результате метилирования их промоторных CpG-островков, что показано при многих солидных опухолях [19–21]. При РМЖ низкий уровень экспрессии *miR-124* отражает агрессивность опухоли [17]. Повышенная экспрессия *miR-124* обеспечивает

Таблица 4

Кометилирование генов исследованных микроРНК

	124a-1	124a-2	124a-3	125b-1	127	137	107
124a-1		0,308	—	—	—	0,297	—
124a-2	0,308		—	—	—	—	—
124a-3	—	—		0,242	—	0,302	—
125b-1	—	—	0,242		—	—	—
127	—	—	—	—		—	0,281
137	0,297	—	0,302	—	—		—

Примечание. Показаны только статистически значимые результаты ($p < 0,05$).

подавление экспрессии генов STAT3, Bcl-2 и Cyclin D1, тем самым ингибируя клеточную инвазию и пролиферацию, индуцируя остановку клеточного цикла в фазе G0/G1 и облегчая апоптоз клетки [21].

Гиперметилирование промоторного района miR-137 ассоциировано с подавлением экспрессии этого гена при многих новообразованиях, в том числе при РМЖ [22]. За последние 5 лет в зарубежной литературе появились исследования об использовании гиперметилирования miR-137 в диагностике, прогнозе и лечении различных онкозаболеваний [3]. Исследования, проведенные на клеточной линии MDA-MB-231 РМЖ, показали, что гиперэкспрессия miR-137 приводит к уменьшению пролиферации и миграции, воздействуя на экспрессию эстрогенового рецептора (ER α) [23]. Это говорит о том, что miR-137 можно использовать в качестве потенциального терапевтического агента для лечения РМЖ.

Таким образом, учитывая литературные данные, полученные пары микроРНК можно было бы рассматривать как прогностические маркеры и потенциальные мишени в терапии РМЖ.

Заключение

Эпигенетические механизмы, в частности, метилирование промоторных областей генов

микроРНК, оказывают системное влияние на ключевые процессы и сигнальные пути в патогенезе рака. Учитывая, что нарушение паттерна метилирования ДНК наблюдается на всех этапах канцерогенеза и может быть использовано для диагностики и прогнозирования течения ряда опухолей [7, 26], мы изучили метилирование промоторных районов 10 генов микроРНК. Наше исследование показало, что частота метилирования генов микроРНК miR-124a-1, miR-124a-3, miR-137, miR-127, miR-125b-1, miR-130b при РМЖ составила 75,7, 38,6, 37,1, 30,0, 48,6 и 37,1% соответственно и во всех случаях была достоверно выше, чем в образцах гистологически нормальной ткани ($p < 0,01$). Для miR-127, miR-137, miR-125b-1 установлена ассоциация метилирования с параметрами прогрессирования РМЖ. Данные о повышенной частоте метилирования большинства из 10 изученных генов микроРНК, об их связи с клиническими характеристиками опухоли, полученные в этой работе, указывают на онкосупрессорную функцию таких микроРНК при РМЖ, что может быть использовано для разработки методов ранней диагностики. Анализ кометилирования генов микроРНК установил пары микроРНК, которые могут служить маркером неблагоприятного прогноза РМЖ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Рак молочной железы: Клинические рекомендации. — М.: Министерство здравоохранения Российской Федерации, 2017.
2. Кулигина Е.Ш. Эпидемиологические и молекулярные аспекты рака молочной железы // Практическая онкология. — 2010. — Т. 11. — № 4 (44). — С. 203–216; Семглазов В.Ф. Многоликая биология рака молочной железы: поиски адекватного лечения // Злокачественные опухоли. — 2016. — Т. . — № 19. — С. 5–10.
3. Рябчиков Д.А., Воротников И.К., Талитов О.А., Чулкова С.В., Логинов В.И., Снеговой А.В., Винокуров М.С., Казаков А.М., Хагажеева М.Н., Бердова Ф.К. МикроРНК и их роль в патогенезе и диагностике рака молочной железы // Медицинский алфавит. — 2020. — № 8 (422). — С. 12–15. doi: 10.33667/2078–5631–2020–8(422).
4. The Cancer Genome Atlas Network. Comprehensive molecular portraits of human breast tumours // Nature. 2012;490(7418):61–70. doi: 10.1038/nature11412
5. Рябчиков Д.А., Абдуллаева Э.И., Дудина И.А. и др. Роль микро-РНК в канцерогенезе и прогнозе злокачественных новообразований молочной железы // Вестник Российского научного центра рентгенорадиологии Минздрава России. 2018;18(2):1–20. URL: <http://vestnik.rncrr.ru/vestnik/v18/docs/ryabchikov.pdf>.
6. Pronina I.V., Loginov V.I., Burdennyi A.M., Fridman M.V., Senchenko V.N., Kazubskaya T.P., Kushlinskii N.E., Dmitriev A.A., Braga E.A. DNA methylation contributes to deregulation of 12 cancer-associated microRNAs and breast cancer progression // Gene. 2017;604:1–8. doi: 10.1016/j.gene.2016.12.018.
7. Чулкова С.В., Рябчиков Д.А., Дудина И.А. и др. Перспективы использования миРНК в качестве диагностических и прогностических биомаркеров меланомы // Российский биотерапевтический журнал. — 2019. — № 18(4). — С. 51–56. doi: 10.17650/1726–9784–2019–18–4–51–56.

8. Zhao G., Guo Y., Chen Z., Wang Y., Yang C., Dudas A., Du Z., Liu W., Zou Y., Szabo E., Lee S.C., Sims M., Gu W., Tillmanns T., Pfeffer L.M., Tigyi G., Yue J. MiR 203 Functions as a Tumor Suppressor by Inhibiting Epithelial to Mesenchymal Transition in Ovarian Cancer // *J Cancer Sci Ther.* 2015;7(2):34–43.
9. Obayashi M., Yoshida M., Tsunematsu T., Ogawa I., Sasahira T., Kuniyasu H., Imoto I., Abiko Y., Xu D., Fukunaga S., Tahara H., Kudo Y., Nagao T., Takata T. MicroRNA 203 suppresses invasion and epithelial-mesenchymal transition induction via targeting NUA1 in head and neck cancer // *Oncotarget.* 2016;7(7):8223–8239. doi: 10.18632/oncotarget.6972
10. Benati M., Montagnana M., Danese E., Paviati E., Giudici S., Franchi M., Lippi G. Evaluation of mir 203 Expression Levels and DNA Promoter Methylation Status in Serum of Patients with Endometrial Cancer // *Clin Lab.* 2017 Oct 1;63(10):1675–1681. doi: 10.7754/Clin.Lab.2017.170421
11. Steponaitiene R., Kupcinskas J., Langner C., et al. Epigenetic silencing of miR 137 is a frequent event in gastric carcinogenesis // *Mol Carcinog.* 2016;55:376–386.
12. Логинов В.И., Филиппова Е.А., Куревлев С.В., Фридман М.В., Бурденный А.М., Брага Э.А. Супрессорные и гиперметилируемые микроРНК в патогенезе рака молочной железы // *Генетика.* — 2018. — Т. 54. — № 7. — С. 757–775. doi: 10.1134/S0016675818070081
13. Wilson R.C., Doudna J.A. Molecular mechanisms of RNA interference // *Ann. Rev. Biophys.* 2013;42:217–239. doi: 10.1146/annurev-biophys-083012-130404
14. Toiyama Y., Okugawa Y., Goel A. DNA methylation and microRNA biomarkers for noninvasive detection of gastric and colorectal cancer // *Biochem Biophys Res Commun.* 2014;455(1–2):43–57. doi: 10.1016/j.bbrc.2014.08.001
15. Bertoli G., Cava C., Castiglioni I. MicroRNAs: New Biomarkers for Diagnosis, Prognosis, Therapy Prediction and Therapeutic Tools for Breast Cancer // *Theranostics.* 2015;5(10):1122–1143. doi: 10.7150/thno.11543
16. Kunej T., Godnic I., Ferdin J., Horvat S., Dovc P., Calin G.A. Epigenetic regulation of microRNAs in cancer: an integrated review of literature // *Mutat. Res.* 2011;717:77–84. doi: 10.1016/j.mrfmmm.2011.03.008
17. Li W., Zang W., Liu P., et al. MicroRNA 124 inhibits cellular proliferation and invasion by targeting Ets1 in breast cancer // *Tumour Biol.* 2014;35(11):10897–10904.
18. Benati M., Montagnana M., Danese E., Paviati E., Giudici S., Franchi M., Lippi G. Evaluation of mir 203 Expression Levels and DNA Promoter Methylation Status in Serum of Patients with Endometrial Cancer // *Clin Lab.* 2017;63(10):1675–1681. doi: 10.7754/Clin.Lab.2017.170421
19. Lujambio A., Ropero S., Ballestar E., Fraga M.F., Cerrato C., Setién F., Casado S., Suarez-Gauthier A., Sanchez-Cespedes M., Gil A., Spiteri I., Das P.P., Caldas C., Miska E., Esteller M. Genetic unmasking of an epigenetically silenced microRNA in human cancer cells // *Cancer Res.* 2007;67:1424–1429.
20. Furuta M., Kozaki K.I., Tanaka S., Arii S., Imoto I., Inazawa J. MiR-124 and miR-203 are epigenetically silenced tumor-suppressive microRNAs in hepatocellular carcinoma // *Carcinogenesis.* 2010;31:766–776.
21. Peixoto A., Relvas-Santos M., Azevedo R., Santos L.L., Ferreira J.A. Protein Glycosylation and Tumor Microenvironment Alterations Driving Cancer Hallmarks // *Front Oncol.* 2019;9:e380. doi: 10.3389/fonc.2019.00380
22. Wu Z., Huang W., Chen B., et al. Up-regulation of miR-124 inhibits invasion and proliferation of prostate cancer cells through mediating JAK-STAT3 signaling pathway // *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* 2017;21(10):2338–2345.
23. Vrba L., Muñoz-Rodríguez J.L., Stampfer M.R., Futscher B.W. MiRNA Gene Promoters Are Frequent Targets of Aberrant DNA Methylation in Human Breast Cancer // *PLoS One.* 2013;8:e54398.
24. Zhao Y., Li Y., Lou G., Zhao L., Xu Z., Zhang Y., He F. MiR-137 targets estrogen-related receptor alpha and impairs the proliferative and migratory capacity of breast cancer cells // *PLoS One.* 2012;7(6):e39102.
25. Kulis M. DNA methylation and cancer / M. Kulis, M. Esteller // *Adv. Genet.* 2010;70:27–56.
26. Sun Y., Duan F., Liu W., Peng Z., Dai L., Feng Y., Yang Z., Shang J., Wang K. Comprehensive Assessment of the Relationship Between MicroRNA-124 and the Prognostic Significance of Cancer // *Front Oncol.* 2018;8:252. doi: 10.3389/fonc.2018.00252
27. Zhang Y.I., Yan L.X., Wu Q.N., Du Z.M., Chen J., Liao D.Z., Huang M.Y., Hou J.H., Wu Q.L., Zeng M.S., Huang W.L., Zeng Y.X., Shao J.Y. MiR-125b is methylated and functions as a tumor suppressor by regulating the ETS1 proto-oncogene in human invasive breast cancer // *Cancer Res.* 2011 May 15;71(10):3552–3562. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-10-2435

АВТОРЫ

Талипов Орифжон Абсаматиллаевич, аспирант хирургического отделения № 5 опухолей молочных желез ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, 115478, Москва, Каширское шоссе, 24, e-mail: orifjon1986@mail.ru

Talipov Orifjon A., graduate student of the Department of Surgical Treatment of Breast Tumors № 5, Federal State Budgetary Institution “N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology” of the Ministry of Health of the Russian Federation, 115478, Moscow, Kashirskoye sh., 24, e-mail: orifjon1986@mail.ru

Рябчиков Денис Анатольевич, доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник хирургического отделения № 5 опухолей молочных желез ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, 115478, Москва, Каширское шоссе, 24, e-mail: dr.denisr@mail.ru

Ryabchikov Denis A., MD, RhD, DSc, Leading Researcher of the surgical Department No. 5, Federal State Budgetary Institution “N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology” of the Ministry of Health of the Russian Federation, 115478, Moscow, Kashirskoye sh., 24, e-mail: dr.denisr@mail.ru

Чулкова Светлана Васильевна, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории иммунологии гемопоэза ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, доцент кафедры онкологии и лучевой терапии лечебного факультета «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, 117997, Москва, ул. Островитянова, 1, e-mail: chulkova@mail.ru

Chulkova Svetlana V., MD, PhD, Senior Researcher of the Laboratory of Hemopoiesis, Federal State Budgetary Institution “N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology” of the Ministry of Health of the Russian Federation, assistant professor of the Oncology and Radiotherapy Department of the N.I. Pirogov Russian National Research Medical University, e-mail: chulkova@mail.ru

Воротников Игорь Константинович, доктор медицинских наук, профессор, ведущий научный сотрудник хирургического отделения № 5 опухолей молочных желез ФГБУ Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина Минздрава России, 115478, Москва, Каширское шоссе, 24, e-mail: orifjon1986@mail.ru

Vorotnikov Igor K., MD, RhD, Prof., DSc, Leading Researcher of the surgical Department No. 5, Federal State Budgetary Institution “N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology” of the Ministry of Health of the Russian Federation, 115478, Moscow, Kashirskoye sh., 24, e-mail: orifjon1986@mail.ru

Казakov Алексей Михайлович, клинический ординатор, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, 115478, Москва, Каширское шоссе, 24, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9534-2729>, e-mail: kazakovich873@gmail.com

Kazakov Aleksey M., clinical intern, Federal State Budgetary Institution “N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology” of the Ministry of Health of the Russian Federation, 115478, Moscow, Kashirskoye sh., 24, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9534-2729>, e-mail: kazakovich873@gmail.com

Логинов Виталий Игоревич, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории патогеномики и транскриптомики ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии», 125315, Москва, ул. Балтийская, 8, e-mail: werwolf2000@mail.ru

Loginov Vitaly I., PhD. (Biol.), Laboratory of Pathogenomics and Transcriptomics, Institute of General Pathology and Pathophysiology, 125315, Moscow, Baltiyskaya st., 8, e-mail: werwolf2000@mail.ru

Казубская Татьяна Павловна, доктор медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории клинической цитологии отдела морфологической и молекулярно-генетической диагностики опухолей ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, 115478, Москва, Каширское шоссе, 24, e-mail: oncogen5@ronc.ru

Kazubskaya Tatyana P., MD, PhD, Federal State Budgetary Institution “N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology” of the Ministry of Health of the Russian Federation, 115478, Moscow, Kashirskoye sh., 24, e-mail: oncogen5@ronc.ru

Виногуров Михаил Сергеевич, врач консультативного отделения ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, 115478, Москва, Каширское шоссе, 24, e-mail: vinogradov@yandex.ru

Vinokurov Mikhail S., doctor of the advisory department of the Federal State Budgetary Institution “N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology” of the Ministry of Health of the Russian Federation, 115478, Moscow, Kashirskoye sh., 24, e-mail: vinogradov@yandex.ru

Осипова Александра Александровна, аспирант хирургического отделения № 5 опухолей молочных желез ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, 115478, Москва, Каширское шоссе, 24, e-mail: osipova@yandex.ru

Osipova Alexandra A., PhD student, Department of Oncology, Federal State Budgetary Institution “N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology” of the Ministry of Health of the Russian Federation, 115478, Moscow, Kashirskoye sh., 24, e-mail: osipova@yandex.ru

Бердова Фарангиз Карамшоевна, аспирант хирургического отделения № 5 опухолей молочных желез № 5 ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, 115478, Москва, Каширское шоссе, 24, e-mail: farangizprecr@yandex.ru

Berdova Farangiz K., PhD student, Department of Oncology, Federal State Budgetary Institution “N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology” of the Ministry of Health of the Russian Federation, 115478, Moscow, Kashirskoye sh., 24, e-mail: farangizprecr@yandex.ru