

УДК 577.112.7

ЦИРКУЛИРУЮЩИЕ МИКРОРНК КАК ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ
МАРКЕРЫ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ*Я. Ю. КИСЕЛЕВА, С. П. РАДЬКО,
Н. В. БОДОЕВНИИ биомедицинской химии
им. В. Н. Ореховича

МикроРНК – это короткие некодирующие молекулы РНК, осуществляющие посттранскрипционную регуляцию экспрессии генов. Циркулирующие микроРНК, которые обнаруживаются в крови и других биологических жидкостях, могут играть специфическую роль в канцерогенезе. К настоящему времени выявлены количественные изменения определенных циркулирующих микроРНК для ряда онкологических заболеваний. В статье рассмотрены биогенез, функции и происхождение циркулирующих микроРНК, а также экспериментальные исследования, в которых показано, что циркулирующие микроРНК могут являться высокоспецифичными и высокочувствительными биомаркерами онкологических заболеваний.

Ключевые слова: микроРНК, биомаркеры, онкопатология, диагностика.

Поиск биомаркеров, позволяющих проводить минимально инвазивную раннюю диагностику злокачественных новообразований, а также прогнозировать течение и эффективность терапии остается одной из приоритетных задач онкологии. Молекулярный биомаркер онкопатологии должен с высокой чувствительностью и специфичностью дифференцировать пациентов с онкопатологией от здоровых людей и пациентов с патологиями, не связанными с новообразованиями. Если маркер удовлетворяет этим критериям, то он может быть полезен для скрининга, постановки диагноза, прогноза течения заболевания, предсказания ответа на терапию, мониторинга и оценки эффективности проводимого лечения.

В 2006 г. появились первые работы, указывающие на потенциальную возможность использования в качестве биомаркеров молекул микроРНК [23, 24]. Ми-

CIRCULATING microRNA AS DIAGNOSTIC
MARKERS OF ONCOLOGIC DISEASES

Y.Y. KISELEVA, S.P. RADKO, N.V. BODOEV

MicroRNAs are short non-coding RNA molecules participating in posttranscriptional regulation of gene expression. Circulating microRNAs which are revealed in blood and other biological fluids can play a specific role in cancerogenesis. Presently, quantitative alterations for particular circulating microRNAs are found in a number of oncologic diseases. The paper reviews biogenesis, functions, and the origination of the circulating microRNAs as well as the experimental studies demonstrating the utility of microRNAs as highly specific and sensitive biomarkers of oncologic diseases.

KEYWORDS: *microRNA, biomarkers, oncopathology, diagnostics.*

кроРНК представляют особый класс регуляторных молекул, которые осуществляют посттранскрипционный контроль трансляции и стабильности мРНК. Количество обнаруженных микроРНК человека постоянно растет и к настоящему времени, согласно базе данных MiRBase, насчитывает 2661 микроРНК (<http://www.mirbase.org>, Release 21). Интересно, что значительное число генов, обнаруженных микроРНК, локализованы в областях генома, которые подвержены изменениям при канцерогенезе [2]. Первоначально считалось, что микроРНК содержится только внутри клетки, однако в 1993 г. было показано [16], что значительная ее доля присутствует вне клеток – это так называемая циркулирующая микроРНК. Циркулирующие микроРНК выявлены в различных биологических жидкостях, таких как кровь, моча, слюна, амниотическая жидкость, грудное молоко [1, 39, 40]. Они высокостабильны в сыворотке и плазме, устойчивы к эндогенным рибонуклеазам и неблагоприятным физическим условиям, что позволяет эффективно выделять

* Работа выполнена в рамках Программы фундаментальных научных исследований государственных академий наук на 2013–2020 годы.

циркулирующие микроРНК из биологических жидкостей, их количество может быть измерено с высокой чувствительностью и специфичностью с помощью ПЦР в реальном времени, ДНК-микрочипов и метода РНК-секвенирования. Также они имеют стабильный и сходный уровень экспрессии в норме у мужчин и женщин, а также у лиц разного возраста. Таким образом, циркулирующие микроРНК обладают многими характеристиками «идеального биомаркера» [1]. В 2008 г. появились первые работы, указывающие на перспективность использования циркулирующих микроРНК в качестве биомаркеров онкологических заболеваний [15, 26, 34].

В обзоре рассмотрены биогенез, функции и происхождение циркулирующих микроРНК, а также экспериментальные исследования, в которых показано, что они могут действительно являться высокоспецифичными и высокочувствительными биомаркерами распространенных онкологических заболеваний.

БИОГЕНЕЗ И ФУНКЦИИ микроРНК

МикроРНК – это короткие некодирующие молекулы РНК длиной 19–23 нуклеотида, осуществляющие посттранскрипционную регуляцию экспрессии генов. Как правило, последовательности микроРНК находятся в межгенных участках или в интронах генов, но могут также присутствовать и в экзонах [27, 31]. Гены микроРНК транскрибируются РНК-полимеразой II с образованием первичной микроРНК, которая расщепляется в клеточном ядре рибонуклеазой III Drosha с образованием пре-микроРНК, а затем в цитоплазме с помощью рибонуклеазы III Dicer превращается в зрелую двухцепочечную форму микроРНК [9]. Одна из нитей зрелой микроРНК становится частью рибонуклеинового комплекса RISC (RNA-induced silencing complex). Концы микроРНК связываются с доменами главного каталитического белка комплекса Argonaute (Ago) и становятся недоступны действию экзонуклеаз, при этом центральная часть микроРНК сохраняет способность взаимодействовать с мишенью [9]. Мишенью RISC может стать любой регион мРНК. Как недавно показал анализ более чем 18000 взаимодействий микроРНК-мРНК [10], 42% взаимодействий происходит с кодирующей последовательностью мРНК, а 23% и 4% – с некодирующими участками 3'UTR и 5'UTR соответственно. Как полагают, микроРНК преимущественно осуществляют негативную посттрансляционную регуляцию экспрессии генов, посредством остановки трансляции мРНК и ее последующей деградации [4]. Однако в последнее время появились свидетельства, что микроРНК могут активировать трансляцию при аресте клеточного цикла [36]. Известно также, что микроРНК могут взаимодействовать с белками-репрессорами, блокирующими трансляцию мРНК, и модулировать их влияние [5].

ПРОИСХОЖДЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ ЦИРКУЛИРУЮЩИХ МИКРОРНК, ИХ РОЛЬ В КАНЦЕРОГЕНЕЗЕ

МикроРНК, присутствующие в биологических жидкостях, известны как «циркулирующие». Появление циркулирующих микроРНК в крови может являться результатом как гибели клеток и их последующего лизиса, так и активной секреции микроРНК клетками. Предполагается, что живые клетки могут активно высвобождать микроРНК в составе экзосом и микровезикул, в то время как микроРНК клеток, находящихся в стадии апоптоза или некроза, может циркулировать в составе апоптотических телец и белковых комплексов [21]. Источником циркулирующей микроРНК могут также быть и клетки крови. Для моноцитов, например, показано, что они активно секретируют микроРНК miR-150, упакованную в везикулы [43]. Уровень микроРНК в плазме крови, которые экспрессируются миелоидными (miR-223, miR-197, miR-574-3p и let-7a) или лимфоидными (miR-150) клетками, тесно коррелирует с количеством лейкоцитов и лимфоцитов в крови [32]. Следует отметить, что часть микроРНК, выявляемых в биологических жидкостях, может быть методическим артефактом. Так, гемолиз эритроцитов приводит к появлению в плазме или сыворотке крови таких микроРНК, как miR-451, miR-92a, miR-16 и miR-486-5p [32].

Известно, что микроРНК сохраняется при неблагоприятных физиологических условиях (циклы замораживания-оттаивания, значительные изменения pH среды, длительное нахождение при комнатной температуре) и, в целом, показывает высокую устойчивость к воздействию рибонуклеаз, присутствующих в плазме и сыворотке крови [1]. Однако следует отметить, что устойчивость к рибонуклеазам может различаться значительно для индивидуальных микроРНК [13]. Так, из 5 тестированных микроРНК, уровень miR-1 и miR-122 в сыворотке снижался значительно через 3 ч, в то время как уровень miR-16, miR-21 и miR-142-3p оставался приблизительно одинаковым в течение 5 ч. При инкубации сыворотки в течение 24 ч уровень всех 5 микроРНК падал в 2 раза и более. Добавление ингибиторов РНКаз в пробирку перед забором крови практически полностью предотвращало потерю микроРНК в течение 24 ч (авторы использовали для анализа микроРНК miR-122, специфичную для печени, для того чтобы исключить влияние гемолиза на результаты эксперимента). Кроме того, анализ влияния длительной инкубации сыворотки (до 24 ч) на стабильность микроРНК в везикулярной и неvesикулярной фракциях показал, что микроРНК, ассоциированная с везикулами, более стабильна [13].

Циркулирующие микроРНК могут играть специфическую роль в канцерогенезе, в зависимости от своего происхождения. Предполагают, что опухолевые клетки могут избегать атаки со стороны Т- и В-

лимфоцитов, высвобождая иммуносупрессивные микроРНК [21]. Также они могут секретировать ангиогенные микроРНК для формирования капилляров [30]. Известно, что экзосомы, секретлируемые клетками опухоли легких, содержат композицию микроРНК, отличающуюся от ее композиции в экзосомах незлокачественных клеток [6]. Экзосомы, секретлируемые опухолевыми клетками, содержат онкогенные микроРНК, такие как miR-21, miR-27b, miR-29a. Было обнаружено, что экзосомальные miR-21 и miR-29a могут связываться с Толл-подобными рецепторами, запускать иммунный ответ, приводящий к росту опухоли и метастазам [6]. В работе Melo et al. [25] было показано, что микроРНК, присутствующие в экзосомах, секретлируемых клетками MCF-7 (аденокарцинома молочной железы), могут проникать в нормальные эпителиальные клетки и индуцировать изменения экспрессии генов. Последующее введение таких клеток мышам приводило к формированию опухоли. Кроме того, было впервые показано, что секретлируемые экзосомы содержат все компоненты, необходимые для преобразования пре-микроРНК в зрелую микроРНК и могут осуществлять биогенез микроРНК вне клеток [25]. С другой стороны, микроРНК, секретлируемые клетками, окружающими опухоль, могут оказывать супрессирующее действие на развитие и рост опухоли [21].

ЦИРКУЛИРУЮЩИЕ МИКРОРНК КАК ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ ОНКОПАТОЛОГИИ

Рак легких является наиболее распространенной онкологической патологией и в России, и в мире. Ежегодно от него умирает свыше 1,37 млн людей. Высокая смертность связана как с повсеместным распространением причины заболевания – курением табака, так и с отсутствием специфических симптомов (скудностью клинических проявлений и объективных данных) на ранней стадии заболевания. Использование компьютерной томографии для скрининга рака легких среди курильщиков позволяет снизить смертность на 20% [44]. Однако недостатком такого подхода к решению задачи является гипердиагностика, так как большая часть выявляемых аномалий злокачественными новообразованиями не является [44]. Необходим дополнительный минимально инвазивный метод, который позволит повысить специфичность диагностики рака легких.

В 2011 г. появились две работы, в которых были выявлены микроРНК, уровень которых изменен в плазме крови пациентов с раком легких, и с использованием ROC-анализа проведена оценка их диагностической ценности. В работе [33] из 12 микроРНК, уровень которых в плазме определяли в группе пациентов с немелкоклеточным раком легкого и контрольной группе, были отобраны четыре – miRNA-21, -126, -210 и 486-5p, обладающие наибольшей диагностической ценностью. Предложенная панель

микроРНК позволила дифференцировать пациентов с немелкоклеточным раком легкого и здоровых людей с чувствительностью и специфичностью 86,22% и 96,55%, соответственно (площадь под ROC-кривой составила 0,926). Кроме того, данная панель микроРНК позволила диагностировать первую стадию немелкоклеточного рака легкого с чувствительностью 73,33% и специфичностью 96,55%. В другой работе [44] было предложено использовать панель из трех микроРНК (miR-155, miR-197, miR-182), определение уровня которых в плазме крови позволило дифференцировать больных мелкоклеточным и немелкоклеточным раком легких и здоровых индивидуумов с чувствительностью 81,33% и специфичностью 86,76% (площадь под ROC-кривой составила 0,9012). Следует также отметить работу Nadal et al. [29], которые предположили, что регуляция микроРНК, специфичных для немелкоклеточного рака легкого, нарушена как в клетках опухоли, так и в сыворотке крови. Действительно, им удалось показать, что комбинация четырех микроРНК (miR-141, miR-193b, miR-200 и miR-301) позволяет с высокой точностью отличить больных немелкоклеточным раком легкого I стадии (площадь под ROC-кривой 0,991) и больных с разными стадиями этого заболевания (площадь под ROC-кривой 0,993) от здорового контроля. Чувствительность теста составила 97%, а специфичность 96%.

Исследования диагностического потенциала микроРНК как маркеров онкопатологии проводились с использованием не только сыворотки или плазмы крови, но и других биологических жидкостей. Так, в работе Xing et al. [41] предложено использовать микроРНК слюны для предоперационного теста, позволяющего оценить, является ли солитарный легочный узел, обнаруженный при компьютерной томографии, доброкачественным новообразованием или обусловлен злокачественной опухолью. Сравнение уровней 13 микроРНК, для которых ранее была показана связь с раком легких, позволило выявить три микроРНК (miR-21, miR-31, miR-210), которые дают возможность разделить пациентов с доброкачественным солитарным легочным узлом и пациентов со злокачественной опухолью (площадь под ROC-кривой для трех микроРНК составляет 0,919). При тестировании на независимой выборке данная панель микроРНК показала высокую чувствительность (80,52%) и специфичность (86,08%).

Рак молочной железы (РМЖ) остается одной из ведущих причин смертности женщин от онкологических заболеваний в мире. Хотя маммография является сегодня «золотым стандартом» выявления РМЖ, она дает до 20% ложно негативных заключений [3]. Поэтому в настоящее время также ведется поиск биомаркеров, позволяющих диагностировать данную онкопатологию с высокой чувствительностью и специфичностью на ранних стадиях заболевания, используя

минимально инвазивные процедуры. В работе Chan et al. [3] было проведено исследование микроРНК как потенциальных биомаркеров РМЖ. В результате было отобрано четыре микроРНК (miR-1, miR-92a, miR-133a, miR-133b) с повышенной представленностью в сыворотке крови больных. Площадь под ROC-кривой для данной панели микроРНК составляла 0,90-0,91 [3]. ROC-анализ другой панели микроРНК (miR-145, miR-155 и miR-382) показал чувствительность и специфичность 97,6% и 100%, соответственно (площадь под ROC-кривой составила 0,988) [22], что указывает на высокий потенциал микроРНК как диагностических маркеров РМЖ.

Рак простаты (РП) является наиболее часто встречающимся злокачественным новообразованием у мужчин старше 60-ти лет. В настоящее время опухолевым маркером РП является простатический специфический антиген (ПСА), определяемый в сыворотке крови. Однако ПСА не является высокоспецифичным и точным маркером – одной из основных проблем использования ПСА как маркера является гипердиагностика. Исследование потенциала микроРНК как дополнительного маркера было недавно выполнено в работе Guzel et al. [8], где впервые сделана попытка сравнить профиль микроРНК секрета предстательной железы пациентов с РП и пациентов с доброкачественной гиперплазией предстательной железы и выявить комбинацию микроРНК, позволяющую дифференцировать доброкачественную гиперплазию от РП. Было отобрано четыре микроРНК, уровень которых в секрете пациентов с РП был либо значительно снижен (miR-221, miR-133b, miR-361-3p), либо значительно повышен (miR-203). Roc-анализ такой панели микроРНК показал ее высокую диагностическую ценность для дискриминации пациентов с РП и пациентов с доброкачественной гиперплазией предстательной железы: площадь под ROC-кривой составила 0,95 (в то время как для ПСА площадь под ROC-кривой составляет 0,46) [8].

Гепатоцеллюлярная карцинома (ГЦК) является наиболее часто встречающейся злокачественной опухолью печени. Прогноз при ГЦК крайне неблагоприятный, если она не диагностируется на ранних стадиях. Сывороточный альфа-фетопротеин наиболее часто используется в качестве биомаркера для скрининга данной патологии, однако около половины случаев не диагностируются из-за низкой чувствительности данного теста. Возможность использования циркулирующих микроРНК в качестве биомаркера при ГЦК исследовали Lui et al. [18]. Сравнивая опухолевую и соседнюю здоровую ткань печени, а также сыворотку пациентов, авторы [18] выявили четыре микроРНК, чья представленность в сыворотке снижалась после хирургического лечения. Последующее исследование диагностической ценности отобранных микроРНК позволило предложить панель из двух микроРНК

(miR-15b и miR-130b), комбинация которых обладала высокой чувствительностью (98,2%) и специфичностью (91,5%). Площадь под ROC-кривой составила 0,98 [18]. Более того, их чувствительность в группе больных ГЦК с низким уровнем альфа-фетопротеина (<20 нг/мл) составила 97,6%. Использование miR-15b и miR-130b как маркеров также позволило выявлять больных на ранней стадии ГЦК, которых тест с альфа-фетопротеином не выявляет [18]. В другой работе [12] проводилась оценка диагностической ценности панели, состоящей из miR-10b, miR-181a и miR-106b. Было показано, что такая панель обладает достаточно высоким диагностическим потенциалом для дискриминации пациентов с ГЦК и здоровых индивидуумов: чувствительность и специфичность равнялись 85% и 91%, соответственно, а площадь под ROC-кривой составляла 0,94 [12].

В работе [20] была изучена диагностическая значимость микроРНК miR-196a и miR-196b при раке полости рта (РПР) и предраковых поражениях слизистой оболочки рта. Уровни miR-196a и miR-196b в плазме были существенно повышены у пациентов как с предраковыми поражениями слизистой оболочки рта (в 5,9 и 14,8 раз, соответственно), так и при РПР (9,3 и 17 раз, соответственно) по сравнению со здоровым контролем. Комбинированное определение двух микроРНК показало высокую диагностическую чувствительность и специфичность такой панели как при предраковых состояниях (площадь под ROC-кривой 0,845), так и при РПР (площадь под ROC-кривой 0,963), а также позволяет прогнозировать злокачественное развитие неоплазии (площадь под ROC-кривой – 0,95, чувствительность – 91%, специфичность – 85%) [20].

В случае рака желудка было показано, что уровень микроРНК miRNA-378 в сыворотке больных как на ранних (I-II), так и на поздних (III-IV) стадиях заболевания значительно превышает ее уровень в сыворотке здоровых людей [19]. ROC-анализ показал, что чувствительность и специфичность предложенного теста составляет 87,5% и 70,73%, соответственно (площадь под ROC-кривой – 0,861). Полученные авторами [19] результаты указывают, что использование miRNA-378 может быть полезно при разработке панелей биомаркеров для ранней диагностики рака желудка.

Для улучшения диагностики раннего рака желудка (РРЖ), Li et al. [17] предложили использовать микроРНК miRNA-199a-3p. Ее уровень в плазме крови пациентов с РРЖ был значительно выше, чем у здоровых людей и пациентов с предраковыми заболеваниями желудка. Чувствительность, специфичность и точность miRNA-199a-3p в качестве диагностического маркера РРЖ составили 76%, 74% и 75%, соответственно, а площадь под ROC-кривой – 0,818 [17].

Zhu et al. [45] показали, что пять микроРНК (miR-16, miR-25, miR-92a, miR-451 и miR-486-5p) могут стать потенциальными биомаркерами при некардиаль-

ной аденокарциноме желудка, поскольку их уровень в плазме пациентов постоянно повышен по сравнению с контрольной группой. Они демонстрируют высокую диагностическую точность даже на ранней стадии некардиальной аденокарциномы желудка (площадь под ROC-кривой 0,989, диагностическая чувствительность и специфичность – 97,5% и 87,5%).

В работе [37] было проведено тестирование 10 микроРНК, уровень которых, как показали более ранние исследования, изменяется у пациентов с колоректальным раком (КРР). Сравнение их уровня в сыворотке 30 пациентов и 30 здоровых доноров позволило отобрать шесть микроРНК с повышенной (miR-21 и let-7g) и пониженной (miRNAs, miR-31, miR-92a, miR-181b, miR-203) представленностью при КРР. Они составили панель микроРНК, которая позволяет выявлять КРР с чувствительностью 93% и специфичностью 91%, что значительно выше показателей клинических маркеров, используемых для диагностики КРР в настоящее время [37]. Еще одна комбинация циркулирующих микроРНК для диагностики пациентов с КРР предложена в работе [38]. Панель из трех микроРНК (miR-409-3p, miR-7 и miR-93) позволяет дифференцировать пациентов с КРР и здоровых индивидуумов с чувствительностью 82% и специфичностью 89% (площадь под ROC-кривой – 0,897). Кроме того, микроРНК могут быть полезны не только в качестве диагностических маркеров КРР, но и позволяют прогнозировать эффективность химиотерапии. Панель из пяти циркулирующих микроРНК (miR-20a, miR-130, miR-145, miR-216 и miR-372) позволяет дифференцировать пациентов, чувствительных и устойчивых к химиотерапии (площадь под ROC-кривой – 0,841-0,918) [42]. Использование такой панели позволит улучшить стратегию выбора химиотерапевтического режима и персонализировать тактику ведения пациентов с КРР.

Рак поджелудочной железы (РПЖ) является одним из наиболее летальных среди злокачественных новообразований. Пятилетняя выживаемость составляет только 6% [7]. Это связано как с трудностями ранней диагностики, так и с агрессивным течением заболевания, высокой устойчивостью опухоли к современным методам лечения. В работе Ganerola et al. [7] была поставлена задача создания панели биомаркеров, состоящей из циркулирующих микроРНК, которая позволила бы диагностировать раннюю стадию РПЖ. В результате проведенного исследования были отобраны три микроРНК – miR-642b, miR-885-5p и miR-22, диагностическая ценность которых была подтверждена на трех независимых группах: пациентов с ранней стадией РПЖ, здоровых людей и здоровых людей с повышенным риском развития РПЖ (случай РПЖ в семейном анамнезе). Чувствительность и специфичность панели составили 91%, площадь под ROC-кривой – 0,97 [7].

Среди циркулирующих микроРНК выявлены такие, экспрессия которых повышена при целом ряде опухолей. Проведенный в работе [14] анализ литературных данных показал, что miR-18a является наиболее количественно представленной микроРНК в плазме и/или сыворотке пациентов с онкологическими заболеваниями. MiR-18a, локализована в онкогенном кластере miR-17-92. Ее представленность в плазме пациентов значительно повышена при РПЖ (площадь под ROC-кривой – 0,937) [28] и плоскоклеточном раке пищевода (чувствительность – 86,8%, специфичность – 100%, площадь под ROC-кривой – 0,94) [11]. MiR-18a показывает высокий диагностический потенциал для выявления плоскоклеточного рака пищевода в ранней преинвазивной стадии (площадь под ROC-кривой – 0,94) и гепатоцеллюлярной карциномы (площадь под ROC-кривой составляла 0,88, чувствительность – 86%, специфичность – 75%) [14]. Кроме того, уровень miR-18a значительно повышен в плазме и сыворотке крови пациентов с немелкоклеточным раком легких, РЖ, ретинобластомой, РМЖ и раком толстой кишки по сравнению со здоровыми людьми [14]. Недавно было предположено [35], что источником miR-18a могут являться клетки опухоли, так как ее концентрация в культуральной среде клеточных линий, сверхэкспрессирующих miR-18a, растет с увеличением числа клеток и продолжительности культивирования. Авторы [14] считают, что циркулирующая микроРНК miR-18a может стать перспективным биомаркером для скрининга пациентов с различными онкопатологиями и мониторинга динамики развития опухоли.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диагностические панели биомаркеров злокачественных новообразований высоко востребованы в современной медицине, поскольку могут выявить раковые заболевания на самых ранних стадиях, когда болезнь во многих случаях излечима. МикроРНК стабильны в биологических жидкостях и устойчивы в условиях, связанных с проведением молекулярно-биологических тестов, их количественная представленность может быть измерена воспроизводимо и с высокой чувствительностью с помощью недорогих методов, основанных на полимеразной цепной реакции. Существующие сегодня экспериментальные данные свидетельствуют, что для разных типов злокачественных опухолей выявлены микроРНК и панели микроРНК, обладающие высокой диагностической чувствительностью и специфичностью, которые при успешном прохождении клинических испытаний могут быть внедрены в медицинскую практику в качестве востребованных неинвазивных и минимально инвазивных клинических тестов.

ЛИТЕРАТУРА

1. ALLEGRA A., ALONCI A., CAMPO S. ET AL. Circulating microRNAs: new biomarkers in diagnosis, prognosis and treatment of cancer (review) // *Int. J. Oncol.* 2012. V. 41, N 6. P. 1897–1912.
2. CALIN G. A., SEVIGNANI C., DUMITRU C. D. ET AL. Human microRNA genes are frequently located at fragile sites and genomic regions involved in cancers // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2004. V. 101, N 9. P. 2999–3004.
3. CHAN M., LIAW C. S., JI S. M. ET AL. Identification of circulating microRNA signatures for breast cancer detection // *Clin. Cancer Res.* 2013. V. 19, N 16. P. 4477–4487.
4. DALMAY T. Mechanism of miRNA-mediated repression of mRNA translation // *Essays Biochem.* 2013. V. 54. P. 29–38.
5. EIRING A.M., HARB J.G., NEVIANI P. ET AL. miR-328 functions as an RNA decoy to modulate hnRNP E2 regulation of mRNA translation in leukemic blasts // *Cell.* 2010. V. 140, N 5. P. 652–665.
6. FABBRI M., PAONE A., CALORE F. ET AL. MicroRNAs bind to Toll-like receptors to induce prometastatic inflammatory response // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2012. V. 109, N 31. P. E2110–2116.
7. GANEPOLA G.A., RUTLEDGE J.R., SUMAN P. ET AL. Novel blood-based microRNA biomarker panel for early diagnosis of pancreatic cancer // *World J. Gastrointest. Oncol.* 2014. V. 6, N 1. P. 22–33.
8. GUZEL E., KARATAS O. F., SEMERCIOZ A. ET AL. Identification of microRNAs differentially expressed in prostatic secretions of patients with prostate cancer // *Int. J. Cancer.* 2014. V. 136, N 4. P. 875–879.
9. HA M., KIM V.N. Regulation of microRNA biogenesis // *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2014. V. 15, N 8. P. 509–524.
10. HELWAK A., KUDLA G., DUDNAKOVA T. ET AL. Mapping the human miRNA interactome by CLASH reveals frequent noncanonical binding // *Cell.* 2013. V. 153, N 3. P. 654–665.
11. HIRAJIMA S., KOMATSU S., ICHIKAWA D. ET AL. Clinical impact of circulating miR-18a in plasma of patients with oesophageal squamous cell carcinoma // *Br. J. Cancer.* 2013. V. 108, N 9. P. 1822–1829.
12. JIANG L., CHENG Q., ZHANG B. H. ET AL. Circulating microRNAs as biomarkers in hepatocellular carcinoma screening: a validation set from China // *Medicine (Baltimore).* 2015. V. 94, N 10. P. e603.
13. KOBERLE V., PLELI T., SCHMITHALS C. ET AL. Differential stability of cell-free circulating microRNAs: implications for their utilization as biomarkers // *PLoS One.* 2013. V. 8, N 9. P. e75184.
14. KOMATSU S., ICHIKAWA D., TAKESHITA H. ET AL. Circulating miR-18a: a sensitive cancer screening biomarker in human cancer // *In Vivo.* 2014. V. 28, N 3. P. 293–297.
15. LAWRIE C.H., GAL S., DUNLOP H.M. ET AL. Detection of elevated levels of tumour-associated microRNAs in serum of patients with diffuse large B-cell lymphoma // *Br. J. Haematol.* 2008. V. 141, N 5. P. 672–675.
16. LEE R. C., FEINBAUM R. L., AMBROS V. The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14* // *Cell.* 1993. V. 75, N 5. P. 843–854.
17. LI C., LI J. F., CAI Q. ET AL. MiRNA-199a-3p: A potential circulating diagnostic biomarker for early gastric cancer // *J. Surg. Oncol.* 2013. V. 108, N 2. P. 89–92.
18. LIU A. M., YAO T.J., 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. V. 2, N 2. P. e000825.
19. LIU H., ZHU L., LIU B. ET AL. Genome-wide microRNA profiles identify miR-378 as a serum biomarker for early detection of gastric cancer // *Cancer Lett.* 2012. V. 316, N 2. P. 196–203.
20. LU Y.C., CHANG J. T., HUANG Y. C. ET AL. Combined determination of circulating miR-196a and miR-196b levels produces high sensitivity and specificity for early detection of oral cancer // *Clin. Biochem.* 2014. V. 48, N 3. P. 115–121.
21. MA R., JIANG T., KANG X. Circulating microRNAs in cancer: origin, function and application // *J. Exp. Clin. Cancer Res.* 2012. V. 31, N P. 38.
22. MAR-AGUILAR F., MENDOZA-RAMIREZ J.A., MALAGON-SANTIAGO I. ET AL. Serum circulating microRNA profiling for identification of potential breast cancer biomarkers // *Dis. Markers.* 2013. V. 34, N 3. P. 163–169.
23. MARTIN C.M., ASTBURY K., O'LEARY J.J. Molecular profiling of cervical neoplasia // *Expert Rev. Mol. Diagn.* 2006. V. 6, N 2. P. 217–229.
24. MATTIE M.D., BENZ C.C., BOWERS J. ET AL. Optimized high-throughput microRNA expression profiling provides novel biomarker assessment of clinical prostate and breast cancer biopsies // *Mol. Cancer.* 2006. V. 5. P. 24.
25. MELO S.A., SUGIMOTO H., O'CONNELL J.T. ET AL. Cancer exosomes perform cell-independent microRNA biogenesis and promote tumorigenesis // *Cancer Cell.* 2014. V. 26, N 5. P. 707–721.
26. MITCHELL P.S., PARKIN R.K., KROH E.M. ET AL. Circulating microRNAs as stable blood-based markers for cancer detection // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2008. V. 105, N 30. P. 10513–10518.
27. MONTEYS A.M., SPENGLER R.M., WAN J. ET AL. Structure and activity of putative intronic miRNA promoters // *Rna.* 2010. V. 16, N 3. P. 495–505.
28. MORIMURA R., KOMATSU S., ICHIKAWA D. ET AL. Novel diagnostic value of circulating miR-18a in plasma of patients with pancreatic cancer // *Br. J. Cancer.* 2011. V. 105, N 11. P. 1733–1740.

29. NADAL E., TRUINI A., NAKATA A. ET AL. A Novel Serum 4-microRNA Signature for Lung Cancer Detection // *Sci. Rep.* 2015. V. 5, N P. 12464.
30. OLIVE V., JIANG I., HE L. Mir-17-92, a cluster of miRNAs in the midst of the cancer network // *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 2010. V. 42, N 8. P. 1348–1354.
31. OZSOLAK F., POLING L. L., WANG Z. ET AL. Chromatin structure analyses identify miRNA promoters // *Genes Dev.* 2008. V. 22, N 22. P. 3172–3183.
32. PRITCHARD C. C., KROH E., WOOD B. ET AL. Blood cell origin of circulating microRNAs: a cautionary note for cancer biomarker studies // *Cancer Prev. Res. (Phila)*. 2012. V. 5, N 3. P. 492–497.
33. SHEN J., TODD N. W., ZHANG H. ET AL. Plasma microRNAs as potential biomarkers for non-small-cell lung cancer // *Lab. Invest.* 2011. V. 91, N 4. P. 579–587.
34. SKOG J., WURDINGER T., VAN RIJN S. ET AL. Glioblastoma microvesicles transport RNA and proteins that promote tumour growth and provide diagnostic biomarkers // *Nat. Cell. Biol.* 2008. V. 10, N 12. P. 1470–1476.
35. TSUJURA M., KOMATSU S., ICHIKAWA D. ET AL. Circulating miR-18a in plasma contributes to cancer detection and monitoring in patients with gastric cancer // *Gastric Cancer*. 2015. V. 18, N 2. P. 271–279.
36. VASUDEVAN S., TONG Y., STEITZ J.A. Switching from repression to activation: microRNAs can up-regulate translation // *Science*. 2007. V. 318, N 5858. P. 1931–1934.
37. WANG J., HUANG S. K., ZHAO M. ET AL. Identification of a circulating microRNA signature for colorectal cancer detection // *PLoS One*. 2014. V. 9, N 4. P. e87451.
38. WANG S., XIANG J., LI Z. ET AL. A plasma microRNA panel for early detection of colorectal cancer // *Int. J. Cancer*. 2015. V. 136, N 1. P. 152–161.
39. WEBER J. A., BAXTER D. H., ZHANG S. ET AL. The microRNA spectrum in 12 body fluids // *Clin. Chem.* 2010. V. 56, N 11. P. 1733–1741.
40. XIAO Y. F., YONG X., FAN Y. H. ET AL. MicroRNA detection in feces, sputum, pleural effusion and urine: novel tools for cancer screening (Review) // *Oncol. Rep.* 2013. V. 30, N 2. P. 535–544.
41. XING L., SU J., GUARNERA M. A. ET AL. Sputum microRNA biomarkers for identifying lung cancer in indeterminate solitary pulmonary nodules // *Clin. Cancer Res.* 2015. V. 21, N 2. P. 484–489.
42. ZHANG J., ZHANG K., BI M. ET AL. Circulating microRNA expressions in colorectal cancer as predictors of response to chemotherapy // *Anticancer Drugs*. 2014. V. 25, N 3. P. 346–352.
43. ZHANG Y., LIU D., CHEN X. ET AL. Secreted monocytic miR-150 enhances targeted endothelial cell migration // *Mol. Cell*. 2010. V. 39, N 1. P. 133–144.
44. ZHENG D., HADDADIN S., WANG Y. ET AL. Plasma microRNAs as novel biomarkers for early detection of lung cancer // *Int. J. Clin. Exp. Pathol.* 2011. V. 4, N 6. P. 575–586.
45. ZHU C., REN C., HAN J. ET AL. A five-microRNA panel in plasma was identified as potential biomarker for early detection of gastric cancer // *Br. J. Cancer*. 2014. V. 110, N 9. P. 2291–2299.

Киселева Яна Юрьевна,
к.м.н., н.с. ФГБНУ «НИИ биомедицинской химии
им. В.Н. Ореховича»

Радько Сергей Павлович,
к.б.н., в.н.с. ФГБНУ «НИИ биомедицинской химии
им. В.Н. Ореховича»

Бодоев Николай Васильевич,
д.х.н., профессор, г.н.с. ФГБНУ «НИИ биомедицинской
химии им. В.Н. Ореховича»

☎ 119121, г. Москва, ул. Погодинская, д. 10, стр. 8,
тел.: +7 (499) 246-71-15, e-mail: yana.kiseleva@gmail.com