

Т.В. Задворний¹
 Т.В. Борікун¹
 Н.Ю. Лук'янова¹
 Ю.В. Вітрук²
 Е.О. Стаховський²
 В.Ф. Чехун¹

¹Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України

²Національний інститут раку, Київ, Україна

Ключові слова: рак передміхурової залози, доброякісна гіперплазія передміхурової залози, мікроРНК, сироватка крові, пухлинна тканина.

мікроРНК-126, -205, -214 ПРИ ДОБРОЯКІСНИХ І ЗЛОЯКІСНИХ НОВОУТВОРЕННЯХ ПЕРЕДМІХУРОВОЇ ЗАЛОЗИ: ОБҐРУНТУВАННЯ МОЖЛИВОГО ДІАГНОСТИЧНОГО ТА ПРОГНОСТИЧНОГО ЗНАЧЕННЯ

Необхідність ранньої діагностики раку передміхурової залози (РПЗ) та вибір оптимальної тактики лікування спонукають до пошуку і впровадження в клінічну практику нових, більш чутливих, специфічних і ефективних діагностичних та предиктивних маркерів. Найбільш перспективним в цьому напрямку вважається використання мікроРНК. Доведено, що вони мають суттєву перевагу перед іншими біомаркерами завдяки своїй стабільності, оскільки вже на ранніх стадіях канцерогенезу пухлини характеризуються унікальним профілем експресії мікроРНК. **Мета:** дослідити рівень мікроРНК-126, -205 та -214 у сироватці крові (СК) і пухлинній тканині (ПТ) хворих з доброякісними та злоякісними новоутвореннями передміхурової залози та оцінити можливість їх використання як діагностичних і прогностичних маркерів. **Об'єкт і методи:** дослідження проводили на клінічному матеріалі 70 хворих на РПЗ II–III стадії та 20 хворих з доброякісною гіперплазією передміхурової залози (ДГПЗ). Контролем слугували показники досліджуваних мікроРНК у СК 20 умовно здорових осіб (донорів). Рівні мікроРНК-126, -205 та -214 у СК та ПТ визначали за допомогою зворотно-транскрипційної полімеразної ланцюгової реакції в реальному часі. **Результати:** продемонстровано, що розвиток новоутворень у передміхуровій залозі супроводжується зміною показників експресії мікроРНК-126, -205 та -214 як на рівні пухлини, так і на рівні організму. Зокрема, в СК хворих на РПЗ та із ДГПЗ рівень мікроРНК-126 був достовірно нижчим, ніж у донорів; рівні мікроРНК-205 та -214 були достовірно підвищеними. Експресія всіх досліджених мікроРНК в тканині РПЗ була достовірно вищою порівняно з такою в тканині ДГПЗ. Встановлено існування зв'язку між рівнем досліджених мікроРНК у СК та ПТ з такими клініко-патологічними характеристиками РПЗ, як вік хворих, стадія пухлинного процесу, наявність метастазів у регіонарних лімфатичних вузлах, градація за Глісоном та рівень ПСА в СК. **Висновок:** отримані результати свідчать про зв'язок основних клініко-патологічних характеристик хворих на РПЗ з рівнями експресії у СК та ПТ досліджених мікроРНК, що свідчить про участь останніх у формуванні ступеня злоякісності РПЗ та обґрунтовує необхідність продовження вивчення запропонованої панелі мікроРНК для їх використання як додаткових прогностичних та діагностичних маркерів.

Протягом останнього десятиліття як в Україні, так і у світі зафіксоване зростання захворюваності на рак передміхурової залози (РПЗ) [1, 2]. У клінічній онкоурології важливими завданнями є рання діагностика цієї патології, вибір оптимальної тактики лікування, моніторинг перебігу з метою завчасного виявлення рецидивів та генералізації процесу [3]. На сьогодні єдиним маркером, який використовується в клінічній практиці для диференційної діагностики та визначення ефективності лікування РПЗ, є простатспецифічний антиген (ПСА) [4]. До-

ведено, що ПСА характеризується органоспецифічністю, але не канцероспецифічністю, а його помірне підвищення не завжди вказує на наявність злоякісного процесу. Найбільші проблеми у встановленні діагнозу виникають у тому випадку, коли рівень ПСА коливається від 4,1 до 10,0 нг/мл (так звана сіра зона) [5]. У цю групу входять пацієнти не тільки з РПЗ, але і з іншими захворюваннями, у першу чергу доброякісною гіперплазією передміхурової залози (ДГПЗ) [3]. На основі зазначеного вище можна зробити висновок про необхідність пошуку

і впровадження в клінічну практику нових, більш чутливих, специфічних і ефективних діагностичних та предиктивних маркерів РПЗ.

Починаючи з 2006 р. невпинно збільшується кількість робіт, що свідчать про можливість використання мікроРНК в якості нових діагностичних та прогностичних маркерів при новоутвореннях різного гістогенезу, в тому числі й при РПЗ. Доведено, що вони мають суттєву перевагу перед іншими біомаркерами завдяки своїй стабільності, оскільки вже на ранніх стадіях канцерогенезу пухлини мають унікальний профіль експресії мікроРНК [6]. МікроРНК — це родина коротких рибонуклеїнових кислот довжиною 19–24 нуклеотидів, які виконують функцію посттранскрипційних регуляторів експресії генів і відіграють ключову роль в онкогенезі [7].

Згідно з даними літератури, одними з найбільш перспективних мікроРНК, які можуть бути використані як маркери для диференційної діагностики та прогнозування перебігу захворювання у пацієнтів з новоутвореннями передміхурової залози (ПЗ), є мікроРНК-126, -205 та -214. Встановлено, що ці мікроРНК залучені до регуляції процесів васкуляризації, проліферації та апоптозу, міграції та інвазії пухлинних клітин [8–10]. МікроРНК-214 є одним з основних медіаторів дії 5 α -дигідротестостерону на клітини ПЗ при злоякісній трансформації. Гіперекспресія мікроРНК-214 може спричинити пригнічення синтезу лактоферину, а також активує ген *NANOG*, що в свою чергу призводить до ініціації пухлинних стовбурових клітин [10]. Перспективність використання мікроРНК-126, -205 та -214 в якості прогностичних маркерів РПЗ підтверджена також даними власних досліджень, проведених в системі *in vitro*. Зокрема, нами встановлено, що рівень онкогенної мікроРНК-205 був вищими у 1,2 раза в клітинах нечутливої до андрогенів лінії РПЗ людини DU-145 порівняно з гормоночутливою лінією LNCaP [11].

Мета роботи: дослідити рівні мікроРНК-126, -205 та -214 в сироватці крові (СК) і пухлинній тканині хворих із доброякісними та злоякісними новоутвореннями ПЗ і оцінити можливість їх використання в якості діагностичних та прогностичних маркерів.

ОБ'ЄКТ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Робота базується на результатах обстеження та лікування 70 хворих на РПЗ II–III стадії та 20 хворих на ДГПЗ, які перебували на лікуванні в Національному інституті раку протягом 2015–2017 рр. та дали інформовану згоду на використання їх біологічних матеріалів у дослідженні. Клінічний діагноз встановлювали на підставі визначення ПСА в СК, пальцевого ректального дослідження, комп'ютерної томографії органів малого таза та/або трансректального ультразвукового дослідження ПЗ та органів черевної порожнини, остеосцинтиграфії, рентгенографії органів грудної порожнини. У всіх хворих діагноз було верифіковано після проведення трансректаль-

ної мультифокальної біопсії ПЗ під ультразвуковим контролем. Стадію пухлинного процесу визначали згідно з міжнародною класифікацією пухлин (TNM, 7-ме видання, 2009).

Для морфологічного дослідження пухлин операційний матеріал фіксували в розчині нейтрального формаліну (10%) та здійснювали подальшу обробку із дотриманням загальноприйнятих принципів гістологічної техніки. З парафінових блоків готували препарати, які забарвлювали гематоксиліном та еозином, і за допомогою світлооптичної мікроскопії вивчали морфологічні особливості будови пухлин.

Для дослідження експресії мікроРНК було застосовано метод зворотно-транскрипційної полімеразної ланцюгової реакції (ЗТ-ПЛР) у реальному часі. З гомогенату 100 мг тканини РПЗ виділяли тотальну РНК за допомогою комерційного набору «Рибозоль» (Амплісенс, Росія). Виділення тотальної РНК із СК проводили за допомогою комерційного набору NucleoSpin® miRNANucleospin (MACHEREY-NAGEL, Німеччина). Кількість виділеної РНК визначали на спектрофотометрі NanoDrop 2000c Spectrophotometer (ThermoScientific, США). Чистоту виділеної РНК контролювали, використовуючи співвідношення величин оптичного поглинання при довжині хвиль 260 та 280 нм. РНК розчиняли у tris-EDTA буфері та до проведення ПЛР зберігали при $t = -20^{\circ}\text{C}$. ЗТ-ПЛР проводили на апаратній системі виявлення AppliedBiosystems 7900HT FastRealTime PCR System з використанням комерційного набору для ЗТ-ПЛР TaqMan MicroRNA Assay (ThermoScientific, США) за протоколом виробника. В якості ендogenous контролю для об'єктивізації показників експресії використовували мікроРНК RNU48. Відносну експресію досліджуваних мікроРНК було визначено порівняльним dCT методом (ум. од.). Дослід проведено у трьох повторях для кожного зразка.

Контролем у даному дослідженні слугували показники мікроРНК-126, -205 та -214 у периферичній крові 20 умовно здорових осіб (донорів).

Статистичну обробку отриманих результатів виконували за допомогою програми STATISTICA 6.0. Порівняння достовірності відмінностей середніх величин проводили з використанням t -критерію Стьюдента. Достовірними вважали розбіжності при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Клінічна характеристика залучених у дослідження хворих на РПЗ наведена у табл. 1. Відносна кількість хворих на РПЗ II стадії становила 41,43%, III — 58,57%. Середній вік хворих — $61,3 \pm 3,6$ року. Результати комплексного обстеження (рентгенологічне, ультразвукове, лабораторне) показали наявність метастазів у регіонарних лімфатичних вузлах (РЛВ) у 55,72% хворих. Віддалені метастази у всіх хворих були відсутні. Залежно від ступеня градації

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

РПЗ за Глісоном хворих було розділено на дві підгрупи: з помірно диференційованою (сума балів ≤ 7) та з низькодиференційованою аденокарциномою (сума балів за Глісоном > 7). За рівнем ПСА в СК хворі були розподілені наступним чином: ПСА ≤ 10 і ПСА > 10 нг/мл.

Таблиця 1

Загальна клінічна характеристика хворих на РПЗ

Показник	Кількість хворих	
	п	%
Загальна кількість хворих	70	100
Вік хворих, років		
Середній	61,3 \pm 3,6	
Коливання віку	52–78	
Стадія РПЗ за TNM		
II	29	41,43
III	41	58,57
Наявність метастазів у РЛВ		
– (N0)	31	44,28
+ (N+)	39	55,72
Градація за Глісоном, балів		
≤ 7	44	62,85
> 7	26	37,15
Рівень ПСА, нг/мл		
≤ 10	37	52,85
> 10	33	47,15

Середній вік хворих на ДГПЗ становив $63,6 \pm 9,7$ року з індивідуальними коливаннями від 48 до 72 років.

Аналіз отриманих результатів дослідження мікроРНК в СК хворих із доброякісними та злоякісними новоутвореннями ПЗ продемонстрував, що вивчені зразки характеризуються низьким рівнем мікроРНК-126 та високим рівнем мікроРНК-205, -214 (табл. 2) у порівнянні з показниками донорів.

Таблиця 2

Рівень експресії мікроРНК в СК донорів і хворих із доброякісними та злоякісними новоутвореннями ПЗ

МікроРНК	Відносний рівень експресії мікроРНК, ум. од.		
	Донори	Хворі на ДГПЗ	Хворі на РПЗ
-126	3,90 \pm 2,40	0,18 \pm 0,04*	0,09 \pm 0,03**
-205	0,16 \pm 0,08	5,56 \pm 0,52*	3,05 \pm 0,42**
-214	0,19 \pm 0,15	0,53 \pm 0,10*	1,11 \pm 0,23**

* $p < 0,05$ порівняно із СК донорів.

** $p < 0,05$ порівняно з СК хворих на ДГПЗ.

Зокрема, рівень експресії мікроРНК-126 у СК хворих на ДГПЗ та РПЗ був у 21,7 та 43,3 раза нижчим, ніж аналогічні показники донорів. Рівні мікроРНК-205 та -214 у хворих на ДГПЗ становили $5,56 \pm 0,52$ та $0,53 \pm 0,10$ ум. од., що достовірно перевищувало показники донорів ($0,16 \pm 0,08$ та $0,19 \pm 0,15$ ум. од. відповідно). Показники мікроРНК-205 у СК хворих на РПЗ хоч і достовірно перевищували такі у донорів, проте були нижчими у 1,8 раза у зіставленні з її рівнем у хворих на ДГПЗ. Рівень циркулюючої мікроРНК-214 у хворих на РПЗ становив $1,11 \pm 0,23$ ум. од. і був значно підвищений у порівнянні як з умовно здоровими індивідами, так і з хворими на ДГПЗ (у 5,8 та 2,0 раза відповідно; див. табл. 2).

Аналіз експресії дослідженої панелі мікроРНК в пухлинній тканині хворих із доброякісними та злоякісними новоутвореннями ПЗ виявив, що їх рівень

був вищим у тканині РПЗ. Зокрема, показники експресії мікроРНК-126, -205 та -214 у тканині РПЗ були в 2,8; 6,5 та 1,5 раза вищими порівняно з аналогічними показниками тканини ДГПЗ (табл. 3).

Таблиця 3

Рівень експресії мікроРНК в пухлинній тканині хворих із доброякісними та злоякісними новоутвореннями ПЗ

МікроРНК	Відносний рівень експресії мікроРНК, ум. од.	
	Хворі на ДГПЗ	Хворі на РПЗ
-126	0,61 \pm 0,12	1,70 \pm 0,29*
-205	1,70 \pm 0,22	11,09 \pm 1,3*
-214	0,92 \pm 0,17	1,34 \pm 0,16*

* $p < 0,05$ порівняно з пухлинною тканиною хворих на ДГПЗ.

Отже, отримані нами результати свідчать про наявність асоціативних зв'язків між експресією досліджуваних мікроРНК та злоякісним ростом у ПЗ.

Для визначення тактики лікування хворого на локалізований РПЗ важливе значення має не тільки своєчасне виявлення захворювання, а й можливість прогнозування подальшого перебігу пухлинного процесу з метою виявлення його потенційно агресивних форм. З огляду на це ми провели вивчення зв'язку між експресією мікроРНК та основними клініко-патологічними параметрами РПЗ, а саме — віком пацієнтів, стадією захворювання, наявністю метастазів у РЛВ, ступенем градації за Глісоном та рівнем ПСА в СК.

Встановлено, що у СК хворих на РПЗ відбувається підвищення відносного рівня експресії мікроРНК-205 та -214 з віком. Значення показників мікроРНК-205 та -214 у пацієнтів віком старше 60 років були в 1,3 та 1,7 раза вищими у порівнянні з такими у хворих, вік яких був меншим 60 років. Не виявлено залежності між віком хворих на РПЗ та рівнем циркулюючої мікроРНК-126 (рис. 1).

Виявлено існування залежності між відносним рівнем циркулюючих мікроРНК та стадією РПЗ. Зокрема, рівні мікроРНК-205 та -214 у пацієнтів з РПЗ II стадії ($2,36 \pm 0,30$ та $0,75 \pm 0,2$ ум. од.) були в 1,6 та 2,0 раза вищими порівняно з аналогічними показниками хворих на РПЗ III стадії ($3,76 \pm 0,37$ та $1,48 \pm 0,34$ ум. од. відповідно). Зв'язок мікроРНК-126 зі стадією мав зворотний характер, а саме — її рівень поступово знижувався від $0,13 \pm 0,02$ до $0,06 \pm 0,02$ ум. од. зі зростанням стадії захворювання (див. рис. 1).

Нами також продемонстровано існування зв'язку між рівнем циркулюючих мікроРНК-126 і -214 та наявністю метастатичного ураження РЛВ у хворих на РПЗ. Як видно з даних, наведених на рис. 1, показники мікроРНК-126 у СК пацієнтів без метастазів були у 2,2 раза нижчими у порівнянні із хворими з метастатичним ураженням РЛВ. Що стосується мікроРНК-214, то її рівень, навпаки, був підвищений в 1,9 раза у СК хворих із регіонарними метастазами.

Встановлено, що серед досліджених циркулюючих мікроРНК лише рівень мікроРНК-214 корелює із показником Глісона та є істотно вищим при пухлинах із сумою балів > 7 . Показано існу-

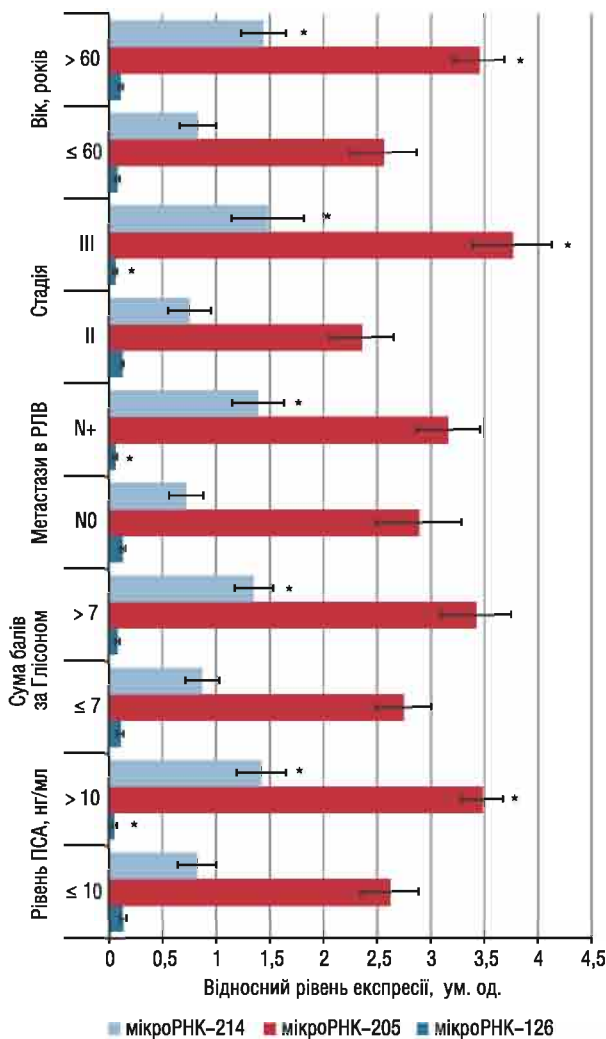


Рис. 1. Зв'язок рівня мікроРНК-126, -205 та -214 у СК хворих на РПЗ з основними клініко-патологічними характеристиками пацієнтів

* $p < 0,05$ порівняно з відповідними клініко-патологічними характеристиками

вання зв'язку між експресією всіх досліджуваних мікроРНК та рівнем ПСА в СК. Так, рівень мікроРНК-215 та -214 був вищим у хворих зі значеннями ПСА > 10 нг/мл. Зв'язок між ПСА та мікроРНК-126 мав зворотний характер, рівень останньої був нижчим у пацієнтів із показниками ПСА ≤ 10 нг/мл (див. рис. 1).

Наступним кроком нашої роботи стало визначення зв'язку між відносним рівнем експресії досліджуваних мікроРНК у пухлинній тканині та основними клініко-патологічними характеристиками хворих на РПЗ. Нами встановлено, що рівень експресії мікроРНК-126 в пухлинній тканині хворих на РПЗ віком до 60 років був вищим у порівнянні з аналогічним показником пацієнтів старше 60 років ($2,16 \pm 0,13$ та $1,35 \pm 0,23$ ум. од. відповідно). Показано, що рівень мікроРНК-205 був в 1,6 раза вищим у пацієнтів старшої вікової групи (> 60 років) порівняно з групою хворих, вік яких не перевищував 60 років. Зміни рівня мікроРНК-214 зі збільшенням віку хворих на РПЗ були

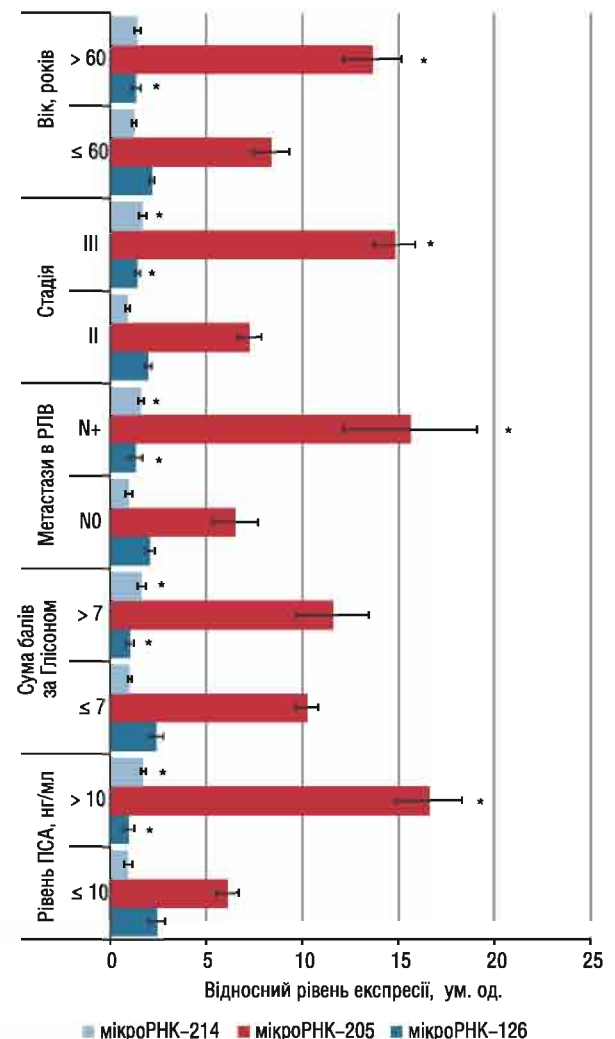


Рис. 2. Зв'язок рівня експресії мікроРНК-126, -205 та -214 у пухлинній тканині хворих на РПЗ з основними клініко-патологічними характеристиками пацієнтів

* $p < 0,05$ порівняно з відповідними клініко-патологічними характеристиками

статистично недостовірними і спостерігалися на рівні тенденції (рис. 2).

Найвищі рівні експресії мікроРНК-205 та -214 відмічено в пухлинних клітинах хворих на РПЗ III стадії ($14,80 \pm 1,08$ та $1,68 \pm 0,21$ ум. од. відповідно) порівняно із пацієнтами з РПЗ II стадії ($7,24 \pm 0,63$ та $0,90 \pm 0,12$ ум. од. відповідно). Водночас підвищення стадії пухлинного процесу супроводжувалося зниженням у 1,9 раза експресії мікроРНК-126 (див. рис. 2).

Показано наявність існування зв'язку між експресією досліджуваних мікроРНК у пухлинних клітинах та метастатичним ураженням РЛВ. У пацієнтів з метастатичним ураженням РЛВ показники експресії мікроРНК-126, -205 та -214 у тканині пухлини становили $1,33 \pm 0,35$, $15,60 \pm 3,49$ та $1,58 \pm 0,15$ ум. од. відповідно, тоді як у хворих з категорією N0 аналогічні показники дорівнювали $2,08 \pm 0,23$, $6,50 \pm 1,17$ та $0,96 \pm 0,18$ ум. од. відповідно. Подальший аналіз дозволив встановити залежність експресії деяких дослідже-

них мікроРНК від градації за Глісоном та рівня ПСА в СК. Виявлено, що у тканині РПЗ, яка характеризувалася сумою балів за Глісоном > 7 , рівень експресії мікроРНК-214 був у 1,6 раза вищим, а мікроРНК-126 — у 2,4 раза нижчим порівняно з пухлинами із сумою балів за Глісоном ≤ 7 . Не встановлено зв'язку між експресією мікроРНК-205 та градацією за Глісоном. Показано, що у пацієнтів з рівнем ПСА в СК > 10 нг/мл експресія мікроРНК-126 була достовірно нижчою порівняно з групою хворих зі значеннями ПСА ≤ 10 нг/мл ($0,96 \pm 0,27$ проти $2,44 \pm 0,43$ ум. од.). Рівні експресії мікроРНК-205 та -214 достовірно зростали з підвищенням рівня ПСА до > 10 нг/мл — у 2,7 та 1,8 раза відповідно (див. рис. 2).

Численні результати, представлені в сучасній науковій літературі, демонструють перспективність вивчення ролі та можливостей застосування мікроРНК у хворих з онкоурологічною патологією [12]. Загальновідомим є той факт, що клітини різних органів та новоутворень мають різні профілі експресії мікроРНК. Саме ця відмінність може лягти в основу визначення органної приналежності пухлин, прогнозування відповіді на терапію чи визначення прогнозу перебігу хвороби.

Згідно з нашими результатами, розвиток новоутворень у ПЗ асоційований зі зміною рівнів як циркулюючих мікроРНК, так і пухлинних мікроРНК, зокрема мікроРНК-126, -205 та -214.

На сьогодні встановлено пухлиносупресивну роль мікроРНК-126 для різних типів неопластичних захворювань. Відомо, що мікроРНК-126 інгібує ріст пухлинних клітин шляхом пригнічення їх проліферативної активності, а також задіяна в регулюванні процесів міграції та інвазії. Зниження експресії мікроРНК-126 в СК та пухлинній тканині хворих на РПЗ у порівнянні зі здоровими донорами і пацієнтами з ДГПЗ, що було зафіксоване нами, узгоджується з уже наявною та доступною нам інформацією [13, 14].

Ще одним ключовим учасником онкогенезу у ПЗ є мікроРНК-205, порушення експресії якої продемонстровано при багатьох ракових захворюваннях. Згідно з даними літератури мікроРНК-205 може проявляти як онкосупресивні, так і онкогенні властивості; бере участь у регуляції апоптозу, ангиогенезу та метастазування. Як онкосупресор мікроРНК-205 діє в якості інгібітору проліферації клітин, їх міграції та інвазії. Загалом вважається, що експресія мікроРНК-205 у пухлинній тканині знижується при різних типах раку, у тому числі РПЗ, у порівнянні з нормальною тканиною. З іншого боку, як онкогенний чинник мікроРНК-205 може сприяти ініціації та розвитку пухлини. Крім того, ця мікроРНК демонструє потенціал у ролі терапевтичної мішені при різних типах раку [15, 16]. У даному контексті отримані нами результати щодо підвищення рівнів експресії мікроРНК-205 в СК хворих на ДГПЗ та РПЗ у порівнянні з донорами є досить

цікавими та узгоджуються з уже опублікованою раніше інформацією [17–19]. При РПЗ мікроРНК-205 вважається онкосупресором, її мішенями є BCL-2, протеїнкіназа C і рецептори до андрогенів. Підвищення рівня мікроРНК-205 пов'язане із зупинкою клітинного циклу, епітеліально-мезенхімальним переходом, зменшенням експресії E-кадгерину та фібронектину. У дослідженні [19] було також показано існування зворотного кореляційного зв'язку між експресією мікроРНК-205 та наявністю метастазів, а також показниками загальної виживаності хворих.

Досить суперечливою є інформація, яка стосується прогностичного значення при РПЗ мікроРНК-214. Досі не існує єдиного погляду на її роль у розвитку новоутворень даного генезу. Відомо, що мікроРНК-214 дерегулюється при деяких типах пухлин людини, включаючи меланому, рак молочної залози, яєчника, шлунка та гепатоцелюлярну карциному. Фактично, мікроРНК-214 є одним із ключових регуляторів та координаторів сигнальних мереж, таких як PTEN/АКТ, β -катенін. Цікаво, що мікроРНК-214 також бере участь у регуляції важливих модуляторів експресії генів: епігенетичного репресора Ezh2, «genome guardian» p53, фактора транскрипції TFAP2, — тим самим відіграючи істотну роль у регуляції проліферації, проявів стовбурових властивостей, ангиогенезу, інвазії, екстравазації, метастазування та стійкості до хіміотерапії [10].

Зафіксоване нами зниження показників експресії мікроРНК-214 як на рівні пухлини, так і організму у хворих на РПЗ узгоджується з раніше опублікованими роботами наших зарубіжних колег [20, 21].

Отже, отримані дані свідчать про зв'язок рівнів досліджених мікроРНК з деякими клініко-патологічними характеристиками хворих на РПЗ, які мають прогностичне значення (вік пацієнтів, стадія захворювання, наявність метастатичного ураження РЛВ, градація за Глісоном та рівень ПСА в СК хворих), що вказує на участь цих мікроРНК у формуванні ступеня злоякісності РПЗ та асоціацію з агресивністю перебігу захворювання.

ВИСНОВКИ

1. Продемонстровано, що розвиток новоутворень у ПЗ супроводжується зміною показників експресії мікроРНК-126, -205 та -214 на рівні як пухлини, так і організму.

2. Встановлено існування оберненої залежності між рівнем циркулюючої мікроРНК-126 та такими клініко-патологічними характеристиками хворих на РПЗ, як стадія пухлинного процесу, наявність метастазів у РЛВ, та рівнем ПСА в СК; прямої залежності — між рівнем циркулюючих мікроРНК-205, -214 та віком хворих на РПЗ, стадією пухлинного процесу та рівнем ПСА в СК.

3. Встановлено, що рівні експресії мікроРНК-126, -205 та -214 у пухлинній тканині хворих на РПЗ були

в 2,8; 6,5 та 1,5 раза вищими порівняно з пацієнтами із ДГПЗ, та продемонстровано залежність експресії цих мікроРНК від таких клініко-патологічних характеристик хворих на РПЗ, як вік, стадія пухлинного процесу, наявність метастазів у РЛВ, градація за Глісоном, рівень ПСА в СК.

4. Отримані результати свідчать про зв'язок основних клініко-патологічних характеристик хворих на РПЗ з рівнями експресії у СК та пухлинній тканині досліджених мікроРНК, що вказує на участь останніх у формуванні ступеня злоякісності РПЗ та обґрунтовує необхідність продовження вивчення запропонованої панелі мікроРНК для їх використання як додаткових прогностичних та діагностичних маркерів.

Робота виконана за підтримки цільової комплексної міждисциплінарної програми наукових досліджень Національної академії наук України «Молекулярно-біологічні фактори гетерогенності злоякісних клітин та варіабельність клінічного перебігу гормонозалежних пухлин» (№ держреєстрації 0117U002034).

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, *et al.* Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin* 2018; **68**: 394–424.
2. Cancer in Ukraine, 2016–2017. Incidence, mortality, activities of oncological service. *Bull Natl Cancer Registry of Ukr.* Kyiv 2018; **19**: 136 p. (in Ukrainian).
3. Scherbina OV, Sakalo VS, Kovalyov MP, *et al.* Diagnostics and monitoring of prostatic cancer. *Oncology* 2006; **8** (4): 322–6 (in Ukrainian).
4. Alyaev YuG, Bezrukov YeA, Shestiperov PA. Molecular pathology of prostate cancer: diagnostic and prognostic value of major markers. *Cancer Urology* 2006; **2**: 45–51 (in Russian).
5. Strigina EA, Medvedev VL, Kurzanov AN. Diagnostic and prognostic markers in prostate cancer. *Modern Problems of Science and Education* 2016; **2**: 14–23 (in Russian).
6. Heneghan HM, Miller N, Kerin MJ. MiRNAs as biomarkers and therapeutic targets in cancer. *Curr Opin Pharmacol* 2010; **10** (5): 543–50.
7. Lopez-Serra P, Esteller M. DNA methylation-associated silencing of tumor suppressor microRNAs in cancer. *Oncogene* 2012; **31**: 1609–22.
8. Litvinova NYu, Dubenko DE, Eliseeva AM, *et al.* MicroRNA-126: a new perspective direction in the diagnosis and treatment of ischemic limb diseases. *UMJ Heart & Vessels* 2016; **3**: 91–4 (in Ukrainian).
9. Luu HN, Lin HY, Sørensen KD, *et al.* miRNAs associated with prostate cancer risk and progression. *BMC Urology* 2017; **17** (1): 18.
10. Penna E, Orso F, Taverna D. miR-214 as a key hub that controls cancer networks: small player, multiple functions. *J Invest Dermatol* 2015; **135** (4): 960–9.
11. Zadvornyi TV, Lukianova NY, Borikun TV, *et al.* Effects of exogenous lactoferrin on phenotypic profile and invasiveness of human prostate cancer cells (DU145 and LNCaP) *in vitro*. *Exp Oncol* 2018; **40** (3): 184–9.
12. Stroy A. Micro ribonucleic acids in oncurology: perspectives of usage. *ECPB* 2015; **1**: 56–62 (in Ukrainian).
13. Watahiki A, Wang Y, Morris J, *et al.* MicroRNAs associated with metastatic prostate cancer. *PloS One* 2011; **6** (9): e24950.

14. Al-Kafaji G, Said HM, Alam MA, *et al.* Blood-based microRNAs as diagnostic biomarkers to discriminate localized prostate cancer from benign prostatic hyperplasia and allow cancer-risk stratification. *Oncol Lett* 2018; **16** (1): 1357–65.

15. Yang Q, Sun P, Feng H, *et al.* Reduced expression level of miR-205 predicts poor prognosis in osteosarcoma. *Biomed Res* 2018; **28** (21): 9248–52.

16. Fitzgerald KA, Guo J, Tierney EG, *et al.* The use of collagen-based scaffolds to simulate prostate cancer bone metastases with potential for evaluating delivery of nanoparticulate gene therapeutics. *Biomaterials* 2015; **66**: 53–66.

17. Kalogirou C, Spahn M, Krebs M, *et al.* MiR-205 is progressively down-regulated in lymph node metastasis but fails as a prognostic biomarker in high-risk prostate cancer. *Int J Mol Sci* 2013; **14** (11): 21414–34.

18. Boll K, Reiche K, Kasack K, *et al.* MiR-130a, miR-203 and miR-205 jointly repress key oncogenic pathways and are downregulated in prostate carcinoma. *Oncogene* 2013; **32** (3): 277.

19. Sun T, McKay R, Kantoff P, *et al.* The role of miRNAs in prostate cancer. *Eur Urol* 2015; **68** (4): 589–90.

20. Walter BA, Valera VA, Pinto PA, *et al.* Comprehensive microRNA profiling of prostate cancer. *J Cancer* 2013; **4** (5): 350–7.

21. Kim WT, Kim WJ. MicroRNAs in prostate cancer. *Prostate Int* 2013; **1** (1): 3–9.

EXPRESSION OF miRNA-126, -205 AND -214 IN BENIGN AND MALIGNANT NEOPLASMS OF THE PROSTATE GLAND: POSSIBLE DIAGNOSTIC AND PROGNOSTIC SIGNIFICANCE

T.V. Zadvornyi¹, T.V. Borikun¹, N. Yu. Lukianova¹, Yu. V. Vitruk², E.O. Stakhovskiy², V.F. Chekhun¹

¹RE. Kavetsky Institute of Experimental Pathology, Oncology and Radiobiology, NAS of Ukraine

²National Cancer Institute, Kyiv, Ukraine

Summary. The need for early diagnosis of prostate cancer (PCa) and the choice of optimal treatment tactics encourage the search and introduction of new, more sensitive, specific and effective diagnostic and predictive markers into the clinical practice. The most promising in this direction is the use of miRNAs. It has been shown that they have a significant advantage over other biomarkers due to their stability, since miRNA profile changes in the early stages of carcinogenesis. **Aim:** to investigate the level of miRNA-126, -205 and -214 expression in blood serum and tumor tissue from patients with benign and malignant neoplasms of the prostate and evaluate the possibility of their use as diagnostic and prognostic markers. **Object and methods:** The research was conducted on the clinical material of 70 patients with stage II and III PCa and 20 patients with benign prostatic hyperplasia (BPH). The control of the miRNAs in the peripheral blood of 20 healthy donors served as control. Expression of miRNA-126, -205 and -214 in blood serum and tumor tissue was determined by RT-PCR. **Results:** the development of neoplasms in the prostate gland has been shown to be accompanied by a change in the expression of miRNA-126 and miRNA-205 and -214 both in tumor and in blood serum. We observed a decrease in the miRNA-126 levels in serum from PCa and BPH patients, at the same time,

the levels of miRNA-214 and -205 were increased in comparison with healthy donors. The levels of all investigated miRNAs were higher in tissue of PCa when compared with BPH samples. We established a link between the expression of the investigated miRNAs in serum and tumor tissue with such clinical and pathological characteristics of PC as age, cancer stage, presence of metastases in regional lymph nodes, Glisson score and PSA level. Conclusion: the obtained results indicate the connection of miRNA-126, -205 and -214 expression in blood serum and tumor tissue with the main clinical and pathological characteristics of patients with PCa. This evidence proves the involvement of these miRNAs in the development of the malignancy degree of PCa, and substantiates the need to conti-

nue the study of the proposed miRNAs panel for their use as additional prognostic and diagnostic markers.

Key Words: prostate cancer, benign prostatic hyperplasia, miRNA, blood serum, tumor tissue.

Адреса для листування:

Задворний Т.В.
03022, Київ, вул. Васильківська, 45
Інститут експериментальної патології,
онкології і радіобіології
ім. Р.Є. Кавецького НАН України
E-mail: tito132007@ukr.net

Одержано: 30.01.2019