

Современная молекулярная диагностика на основе микроРНК для прогноза поведения уротелиальной карциномы

В.Ю. Старцев¹, С.Л. Воробьев², Н.И. Тяпкин³, А.Э. Саад⁴, Г.В. Кондратьев¹

¹ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России; Россия, 194100 Санкт-Петербург, ул. Литовская, 2;

²ООО «Национальный центр клинической морфологической диагностики»; Россия, 192071 Санкт-Петербург, пр-кт Славы, 32;

³ГБУЗ «Ленинградский областной клинический онкологический диспансер им. Л.Д. Романа»; Россия, 188663 Ленинградская область, Кузьмоловский, ул. Заозерная, 2;

⁴ООО «Многопрофильная клиника «Сестрорецкая»; Россия, 197706 Санкт-Петербург, Сестрорецк, ул. Пограничников, 2, стр. 1

Контакты: Николай Иванович Тяпкин nikt1982@gmail.com

Введение. Рак мочевого пузыря, или уротелиальная карцинома, представляет собой распространенное, агрессивное и до сих пор трудно прогнозируемое заболевание. Для проведения адекватной терапии крайне необходима своевременная диагностика, поскольку раннее выявление этой опухоли может значительно увеличить выживаемость пациента в любом возрасте. Все большую значимость приобретают молекулярно-генетические исследования у онкологических пациентов, в том числе с карциномой уротелия. В мировой литературе описан и практически используется ряд основных молекулярно-генетических биомаркеров уротелиальной карциномы, однако сведения о роли исследований микроРНК (miRNA) в диагностике этого заболевания стали доступны лишь в последние годы.

Цель исследования – изучение информации в мировой медицинской литературе о значении идентификации miRNA в резецированных тканях мочевого пузыря с немешечно-инвазивными уротелиальными опухолями.

Материалы и методы. Изучены публикации мировой научной литературы в базах данных PubMed, CrossRef и Scopus за 2001–2022 гг.

Результаты. Результаты исследований демонстрируют, что прогностические уровни некоторых miRNA, а также ассоциированных с ними белков следует оценивать в исходной опухолевой ткани и везикулах мочи в разных клинических условиях. Применение молекулярно-генетического исследования как одного из новых методов диагностики позволит персонализировать подход к лечению конкретного пациента и при необходимости сделать выбор в пользу более агрессивного метода лечения. В свою очередь, это позволит увеличить общую выживаемость и повысить качество жизни пациента с агрессивной опухолью.

Заключение. Следующие несколько лет предполагают появление множества новых открытий, которые помогут раскрыть секреты нарушения регуляции miRNA при уротелиальной карциноме, что приведет к разработке и применению новой таргетной терапии у этого контингента пациентов.

Ключевые слова: уротелиальная карцинома, рак мочевого пузыря, микроРНК, молекулярная диагностика, везикулы мочи, аспирационная биопсия, биомаркер рака мочевого пузыря

Для цитирования: Старцев В.Ю., Воробьев С.Л., Тяпкин Н.И. и др. Современная молекулярная диагностика на основе микроРНК для прогноза поведения уротелиальной карциномы. Онкоурология 2023;19(1):151–9. DOI: 10.17650/1726-9776-2023-19-1-151-159

Modern mRNA-based molecular diagnostics for prediction of urothelial carcinoma behavior

V.Yu. Startsev¹, S.L. Vorobyov², N.I. Tyapkin³, A.E. Saad⁴, G.V. Kondratiev¹

¹Saint Petersburg State Pediatric Medical University, Ministry of Health of Russia; 2 Litovskaya St., Saint Petersburg 194100, Russia;

²National Center for Clinical Morphological Diagnostics; 32 Prospekt Slavy, Saint Petersburg 192071, Russia;

³L.D. Roman Leningrad Regional Clinical Oncological Hospital; 2 Zaozernaya St., Kuzmolovskiy, Leningrad region 188663, Russia;

⁴“Sestroretskaya” Multi-field Clinic; Build. 1, 2 Pogranichnikov St., Sestroretsk, Saint Petersburg 197706, Russia

Contacts: Nikolay Ivanovich Tyapkin nikt1982@gmail.com

Background. Bladder cancer, or urothelial carcinoma, is a common, aggressive, and still difficult to predict disease. For adequate therapy, timely diagnosis is essential since early detection of this tumor can significantly increase patient's survival at any age. Molecular genetic studies in cancer patients, including those with urothelial carcinoma, are becoming increasingly important. A number of major molecular genetic biomarkers of urothelial carcinoma are described in the world literature and used in clinical practice, however, information on the role of microRNA (miRNA) studies in the diagnosis of this disease has become available only in recent years.

Aim. To examine information of the world literature on the significance of miRNA identification in resected bladder tissues with non-muscle invasive urothelial tumors.

Materials and methods. We studied information from the world medical literature in the PubMed, CrossRef and Scopus databases dated between 2001 and 2022 on the significance of miRNA identification in resected bladder tissues with non-muscle invasive urothelial tumors.

Results. The results of the studies demonstrate that predictive levels of some miRNAs, as well as their associated proteins, should be assessed in the original tumor tissue and urinary vesicles in different clinical settings. The use of molecular genetic research, as one of the new diagnostic methods, will allow to personalize treatment for a particular patient and, if necessary, make a choice in favor of a more aggressive treatment method. In turn, this will increase the overall survival and quality of life of patients with aggressive tumors.

Conclusion. The next few years may bring many new discoveries that will help to unlock the secrets of miRNA dysregulation in urothelial carcinoma, leading to development and application of new targeted therapies in this patient population.

Keywords: urothelial carcinoma, bladder cancer, microRNA, molecular diagnostics, urine vesicles, aspiration biopsy, bladder cancer biomarker

For citation: Startsev V.Yu., Vorobyov S.L., Tyapkin N.I. et al. Modern mRNA-based molecular diagnostics for prediction of urothelial carcinoma behavior. *Onkourologiya = Cancer Urology* 2023;19(1):151–9. (In Russ.). DOI: 10.17650/1726-9776-2023-19-1-151-159

Введение

Рак мочевого пузыря, или уротелиальная карцинома (УТК), занимает 9-е место в мире по распространенности среди злокачественных опухолей, 2-е место среди карцином органов мочевыделительной системы и 13-е место по частоте среди причин смерти от онкологических заболеваний [1, 2]. При постановке первичного диагноза приблизительно 3/4 случаев УТК имеют форму немышечно-инвазивного рака мочевого пузыря (НМИРМП) [3].

Стратегии лечения НМИРМП включают трансуретральную резекцию стенки мочевого пузыря с последующей внутривезикулярной химиотерапией или иммунотерапией, в то время как основным методом лечения мышечно-инвазивного рака мочевого пузыря (МИРМП) является радикальная цистэктомия, иногда в сочетании с системной медикаментозной противоопухолевой терапией [4]. У пациентов с МИРМП отдельных групп возможно сохранить мочевой пузырь (би-, три- и тетрамодальные подходы), и научные дебаты на этот счет продолжают до сих пор.

Для проведения адекватной терапии крайне необходима своевременная диагностика, поскольку раннее выявление УТК может значительно увеличить выживаемость пациента [5]. Междисциплинарная диагностика УТК с привлечением не только специалистов лучевой диагностики и гистоморфологов, но и генетиков становится все более актуальной. Существенные препятствия обнаруживаются и в научной сфере,

и в знании клиницистов, что требует сотрудничества химиков, физиков, биологов, клиницистов, материаловедов, инженеров и технических исследователей. Успешный выбор метода диагностики способен привести к повышению ее качества и индивидуализированному лечению рака с помощью наименее инвазивных подходов.

Усилия современной науки направлены на изучение новых технологий ранней диагностики УТК. Известные биомаркеры охватывают широкий спектр биохимических объектов: нуклеиновые кислоты, белки, сахара, малые метаболиты, цитогенетические и цитокинетические параметры, а также целые опухолевые клетки, обнаруживаемые в жидкостях организма. Их можно использовать для диагностики, прогноза поведения опухоли, оценки риска прогрессирования, а также эффективности лечения пациента, ее токсичности и риска развития рецидивов УТК. Перечень биомаркеров этой опухоли, одобренных Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (Food and Drug Administration, FDA), представлен в таблице.

Чувствительность большинства представленных тестов возрастает с увеличением стадии опухоли или степени ее злокачественности (см. таблицу) [6]. Некоторые тесты демонстрируют ложноположительные результаты, связанные, например, с воспалением или макрогематурией, что затрудняет диагностику рецидивов УТК [7]. Именно поэтому одобренные FDA

Одобрённые тесты и биомаркеры уротелиальной карциномы [8, 9]
Approved urothelial carcinoma tests and biomarkers [8, 9]

Тест Test	Биомаркер Biomarker	Тип исследования Assay type	Чувствительность, среднее значение (диапазон), % Sensitivity, mean (range), %	Специфичность, среднее значение (диапазон), % Specificity, mean (range), %
NMP22®BC test	NMP-22	Сэндвич-иммуноанализ Sandwich immunoassay	69 (26–100)	77 (41–92)
NMP22®BladderChek®	NMP-22	Сэндвич-иммуноанализ Sandwich immunoassay	58 (51–85)	88 (77–96)
BTA stat®	Белок-аналог фактора комплемента Н Complement factor H-related protein	Калориметрический иммуноанализ Calorimetric immunoassay	64 (29–83)	77 (56–86)
BTA TRAK®	Белок-аналог фактора комплемента Н Complement factor H-related protein	Сэндвич-иммуноанализ Sandwich immunoassay	65 (53–91)	74 (28–83)
ImmunoCyt™	Карциноэмбриональный антиген и 2 муцина Carcinoembryonic antigen and 2 mucins	Иммунофлуоресцентная цитология Immunofluorescent cytology	78 (52–100)	78 (63–79)
UroVysion™	Анеуплоидия хромосом 3, 7, 17 и потеря локуса 9p21 Chromosome 3, 7, 17 aneuploidy and 9p21 locus loss	Мультитаргетная методика флуоресцент- ной гибридизации <i>in situ</i> (FISH) Multitarget fluorescence <i>in situ</i> hybridization (FISH)	63 (30–86)	87 (63–95)

тесты до сих пор не заменили существующие стандарты при динамическом наблюдении: исследование цитологии осадка мочи и цистоскопию.

Несмотря на множество известных, но пока не одобренных FDA тестов и биомаркеров (BLCA-1, BLCA-4, гиалуронидаза, цитокератины 8, 18, 19, сурвивин, ProEGF, SAA4, APOA1, APOA2, APOB, APOC2, APOC3, APOE, CCL18, PAI-1, CD44, FGFR3, p53, CDK1, HOXA13, MDK, IGFBP5 и др.), большинство из них не используются в рутинной клинической практике: не было проведено сравнительных исследований биомаркеров с достаточным объемом выборки в качестве дополнения или замены цистоскопии. Тесты демонстрируют низкую чувствительность и, следовательно, «пропускают» значительную часть больных УТК, демонстрируя ложноотрицательные результаты. В целях улучшения диагностики проводятся обширные исследования по поиску чувствительных и специфических биомаркеров карциномы уротелия. Разработка генных биомаркеров способствует поиску новых терапевтических мишеней и оценке прогноза опухолей, в том числе УТК [10].

МикроРНК (miRNA) — короткие, некодирующие молекулы длиной до 25 нуклеотидов, участвующие

в регуляции экспрессии генов. Данные молекулы участвуют в дифференцировке, пролиферации, апоптозе. При этом их концентрация может меняться при патологических процессах, что представляет наибольший интерес в медицинской практике.

В 2007 г. было описано, что секретированные одним типом клеток miRNA могут переноситься в другие типы клеток. Это означает, что кроме клеточной miRNA в организме присутствует и внеклеточная циркулирующая miRNA, которая была обнаружена в различных биологических жидкостях. По современным представлениям, появление циркулирующей miRNA в крови может быть результатом как секреции их клетками, так и гибели самих клеток при апоптозе и некрозе [11].

Систематический обзор известных на сегодня miRNA, потенциальных биомаркеров заболеваний сердечно-сосудистой системы, был выполнен в 2018 г. российскими кардиологами [12]. Также выяснилось, что кроме кардиоваскулярных заболеваний циркулирующие в крови miRNA могут быть прогностическим и предиктивным фактором инсульта [13]. Наиболее перспективным может оказаться исследование miRNA в качестве биомаркеров для ранней диагностики

онкологических заболеваний. Опубликован ряд масштабных исследований, систематических обзоров и метаанализов, указывающих, что профили экспрессии циркулирующих miRNA, особенно с использованием их комбинации, имеют большую потенциальную диагностическую ценность для точного и раннего обнаружения опухоли молочной железы [14–16]. Подобные исследования проводятся и для других локализаций опухолей, но в российской научной литературе освещены пока недостаточно.

Цель исследования — изучение информации в мировой медицинской литературе о значении идентификации miRNA в резецированных тканях мочевого пузыря с НМИРМП.

Материалы и методы

Изучены публикации мировой научной литературы за 2001–2022 гг. о результатах молекулярной диагностики образцов тканей УТК, полученные в базах данных PubMed, CrossRef и Scopus. Использован сплошной поиск по ключевым словам.

Результаты

Биомаркеры на основе РНК, включая уровни экспрессии кодирующих и не кодирующих РНК, играют важную роль во многих биологических процессах [17].

Малые РНК (длиной 20–22 нуклеотида), не способные кодировать белок, считаются жизненно важными регуляторами развития и прогрессирования многих видов рака, включая УТК [18]. Первая miRNA была обнаружена у *Caenorhabditis elegans* в 1993 г. [19], однако общая регуляторная функция miRNA впервые полноценно описана только в 2001 г. [20].

Исследование не кодирующих РНК при раке признано многообещающим в связи с высокой прогностической ценностью отчасти потому, что небольшой размер этих частиц делает их устойчивыми к деградации и, следовательно, к изменениям [21]. MiRNA регулирует свои гены-мишени, связываясь с их специфическими сайтами, затем модифицирует ген-мишень посредством репрессии трансляции, расщепления, деградации или секвестрации [22]. MiRNA включают группу из нуклеотидных не кодирующих РНК, участвующих в посттранскрипционной регуляции экспрессии генов [23], действуя как опухолевые супрессоры или онкогены и модулируя различные опухолесупрессивные/онкогенные пути [24]. Различия в экспрессии этих РНК наблюдались в образцах рака в сравнении с образцами здоровой ткани, а также в образцах колоректального рака и карцином молочной железы в разных стадиях [25, 26]. На сегодняшний день уровень экспрессии miRNA рассматривается как диагностический биомаркер различных видов рака [27].

S.P. Deng и соавт. идентифицировали гены, характеризующиеся высокой диагностической значимостью

для УТК (*GDF9, CYP1A2, ATF7, TRPM3, CER1, PTPRJ, KCNIP1 и LRRCL15*), путем построения и оценки 2 клеточных линий (нормальные и раковые клетки) [28]. H. Gaballah путем сравнения инвазивных и неинвазивных образцов с помощью пакета R. Limma идентифицировал гены-кандидаты (*PURA, SRPK2, TRAK1, BRD2 и UPF3*) для оценки прогрессии и вероятности инвазивного роста культур клеток УТК [29]. X. Zhang и соавт. выявили *POU2F3, NKD1, CYP2C8, LINC00189, GCC2 и OR9Q1* при плоскоклеточной УТК [30]. Уровни экспрессии указанных генов в тканях опухолей мочевого пузыря были проанализированы с учетом выявленных в моче miRNA.

Y. Di и соавт. изучили взаимодействия генов и их miRNA-мишеней посредством двусторонних сетей и идентифицировали гены и биомаркеры miRNA в различных образцах УТК [31]. Среди перечня генов были исключены гены с низким уровнем экспрессии и выделены *COL5A1, COL8A1* как наиболее значимые для прогноза УТК ($p < 0,01$) и возможные терапевтические мишени. Авторами отмечено, что *COL5A1* кодирует α -цепь, связанную с коллагеном XI типа, и способствует метастазированию аденокарциномы легкого [32], а ген *COL8A1* кодирует короткие α -цепи коллагена VIII типа, связанные с ангиогенезом и ремоделированием сосудов, и играет важную роль в развитии гепатокарциномы [31–33].

Сильная взаимосвязь между miRNA и канцерогенезом указывает на потенциальное применение miRNA в клинической онкоурологии. Так, в 2013 г. L. Adam и соавт. предположили перспективность использования miRNA семейства miR-200 (например, miR-141, -141a, -429, -192 и др.) в качестве неинвазивных диагностических и прогностических маркеров УТК [34], а в 2020 г. M. Taheri и соавт. сообщили об использовании miR-26b-5p как прогностического биомаркера рецидива и прогрессирования УТК [35, 36]. Молекула miR-29c идентифицирована как ген-супрессор рака, подавляющий пролиферацию, миграцию и инвазию клеток при УТК [18].

Внимание исследователей давно приковано к особой форме miRNA — miR-26b, блокирующей переход G1/S-фазы клеточного цикла путем активации белка контрольной точки pRb [37]. В 2009 г. F. Gottardo и соавт. отметили выраженное ($p = 0,0006$) снижение экспрессии miR-26b среди группы из 10 miRNA с нарушенной регуляцией в поперечном скрининге УТК ($n = 25$) по сравнению с представителями нормальной ткани мочевого пузыря ($n = 2$) [38], что совпало с результатами более ранних исследований. Позже группой авторов на модели УТК high grade (26 % pTa, 74 % pT1) было установлено, что именно miR-26b-5p была наиболее тесно связана с рецидивом УТК ($p = 0,00084$, с поправкой на пол, возраст, множественность, размер опухоли, стадию, степень злокачественности) и с про-

грессированием ($p = 0,02$) [35]. При этом не получено корреляции экспрессии miR-26b-5p с полом ($p = 0,90$), множественностью поражения ($p = 0,95$), размером опухоли ($p = 0,62$), стадией и степенью злокачественности УТК ($p = 0,06$), наличием химиотерапии ($p = 0,1$) или проведением терапии БЦЖ (бациллой Кальметта–Герена) ($p = 0,71$), а также с возрастом на момент постановки диагноза ($p = 0,27$). Концентрация miR-26b-5p в опухоли была ниже, чем в гистологически нормальной соседней ткани, более чем в 65 % резецированных образцов.

Ген *MYC*, избыточно экспрессируясь примерно в половине образцов НМИРМП, не показал корреляции со стадией или степенью злокачественности опухоли [39], но подавлял *CTDSP* и miR-26b, что, возможно, объясняет низкие уровни miR-26b, наблюдаемые в некоторых опухолях [37]. Отмечается, что ген *MYC* — трудно поддающаяся лечению терапевтическая мишень, потому именно оценка концентрации miR-26b может служить потенциальной альтернативой для снижения риска рецидива.

Данные молекулы используются для диагностики и других видов карцином. Так, уровни miR-26b были значительно ниже в образцах сыворотки пациентов с раком предстательной железы по сравнению с образцами тканей здоровых реципиентов ($p < 0,001$) [40, 41].

В последние годы появилась информация о воздействии и на другие варианты РНК: в эксперименте сверхэкспрессия miR-20a-5p способствовала пролиферации, миграции и инвазии клеток УТК, а ингибирование данной молекулы подавляло пролиферацию, инвазию и миграцию этих клеток. В качестве гена-мишени miR-20a-5p определен *NR4A3* (в эксперименте *in vitro*), сверхэкспрессия которого может обратить вспять канцерогенный эффект miRNA. Данному субъекту также предрекают значительную роль потенциальной терапевтической мишени лечения УТК [42].

Подчеркивается роль высокой экспрессии данных форм РНК для прогноза общей выживаемости при УТК. Так, J.T. Lin и K.W. Tsai свидетельствуют о значительном сравнительном росте концентрации let-7b-5p, miR-149-5p, -146a-5p, -193a-5p и -423-5p в тканях УТК и высокой экспрессии miR-149-5p и -193a-5p, ассоциированной со снижением общей выживаемости пациентов [43].

Регуляция miR-320a [44] и miR-29c [45] за счет суперэкспрессии геном с повышенной экспрессией таурина (*TUG1*) представляется интересной в эксперименте для прогноза развития УТК, меланомы [46] и рака желудка [47], что требует большего количества наблюдений. В свою очередь, экспрессия *TUG1* повышена в тканях почечно-клеточного рака и положительно коррелирует со степенью по Фурману и размером опухоли, а депрессия *TUG1* может подавлять пролиферацию, миграцию и инвазию клеток карциномы,

а также индукцию апоптоза *in vitro* [48]. Эти положения представляют особый интерес для исследователей вариантов онкоурологической патологии.

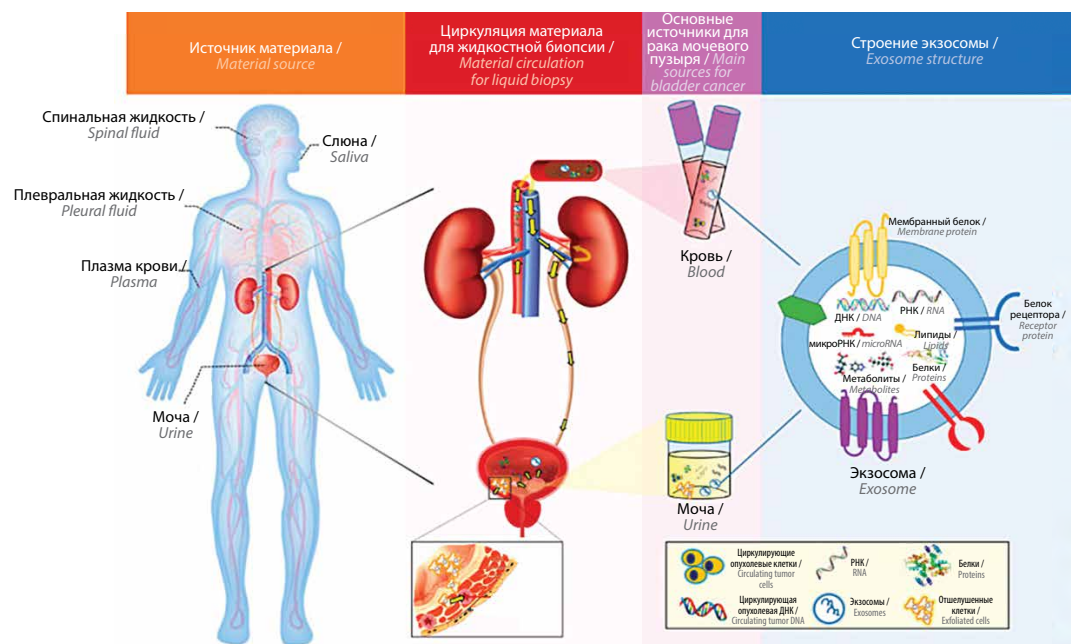
Множество других исследователей наблюдали аномальную экспрессию *TUG1*, тесно связанную с прогрессией и развитием УТК. Заявлено о подавлении пролиферации и инициации апоптоза в клеточных линиях УТК при депрессии *TUG1* посредством угнетения miR-142 [49]. В то же время J. Тап и соавт. обнаружили повышенный уровень *TUG1* в клеточных линиях и тканях УТК, а нокдаун *TUG1* способствовал подавлению метастазирования клеток карциномы путем ингибирования эпителиально-мезенхимального перехода miR-145/ZEB220 [50]. R. Iliev и соавт. отметили активацию *TUG1* в метастатических УТК при отрицательной корреляции с общей выживаемостью пациентов с МИРМП [51]. Точный молекулярный механизм, с помощью которого *TUG1* способствует прогрессии УТК, до сих пор неясен, однако понятно, что ген — потенциальный биомаркер данной опухоли.

Длинноцепочечные молекулы РНК также находятся в поле зрения современных исследователей в связи с высокой ($p = 0,0151$) потенциальной особенностью прогноза рецидива УТК [52, 53].

В настоящее время появились работы, в которых авторы стремятся использовать miRNA для дифференцировки опухолей с потенциалом к мышечной инвазии, что значимо выделяет эти диагностикумы из перечня имеющихся методик. S. Baumgart и соавт. проанализировали 63 miRNA с различной экспрессией ($p < 0,05$) в образцах тканей МИРМП и НМИРМП: экспрессия miR-146b-5p, -155-5p, -138-5p и -200a-3p (определена количественной полимеразной цепной реакцией в режиме реального времени) была связана с высокой степенью злокачественности УТК и склонностью к инвазии [54].

Изучение микровезикул (extracellular vesicles, EV) мочи у пациентов с УТК, начатое несколько лет назад, получило новое развитие в связи с исследованиями концентрации miRNA в EV (см. рисунок).

Под образцами жидкостной (или аспирационной) биопсии понимают любую жидкую среду организма, включая мочу, сыворотку, плазму, слюну, спинномозговую жидкость и плевральную жидкость (см. рисунок). При УТК моча (непосредственно контактирует с опухолью), сыворотка и плазма крови широко используются для диагностики. Нуклеиновые кислоты опухолевого происхождения распространяются с кровью (желтые стрелки на втором изображении указывают на кровообращение в органах мочевыделительной системы), что способствует обнаружению биомаркеров и в крови, и в моче (клетки опухоли, циркулирующие опухолевые клетки, циркулирующая опухолевая ДНК и экзосомы, или EV). Экзосомы действуют как важные медиаторы межклеточной коммуникации, передавая



Схематическое изображение источников аспирационной, или жидкостной, биопсии (Liquid Biopsy) и биомаркеров жидкостной биопсии (пояснения в тексте). Адаптировано из [55] с разрешения авторов
Diagram of the sources of aspiration or liquid biopsy and its biomarkers (explanation in the text). Adapted from [55] with permission from the authors

свое содержимое, включая ДНК, РНК, miRNA, липиды, белки и метаболиты, а благодаря двухслойной липидной структуре EV чрезвычайно стабильны и могут сопротивляться деградации ферментами, такими как РНКазы.

J.D. Long и соавт. выделили панель miRNA (miR-26a, -93, -191, -940) в EV пациентов с УТК и лиц без опухоли, что позволило провести высокочувствительное исследование (чувствительность 88 %, специфичность 78 %, площадь под ROC-кривой (AUC) 88,8 %) [56]. Зафиксированы показатели чувствительности 80 % для pTaG1, 95 % для pT1G3, 90 % для $\geq T2$ и специфичности 77 % для здоровых доноров и 80 % для отсутствия признаков заболевания.

Чуть позже О. Strømme и соавт. провели секвенирование ряда miRNA в EV образцов тканей УТК до хирургического вмешательства (трансуретральная резекция мочевого пузыря) и после него. В результате miR-451a и -486-5p оказались значительно активизированы в дооперационном периоде у пациентов с УТК в стадии pT1, что делает эти показатели привлекательными для оценки безрецидивной выживаемости больных УТК [57].

С каждым годом в научных экспериментах обнаруживают все новые варианты miRNA в моче пациентов, чувствительные к наличию опухолевых клеток, — miR-124-3p, -182-5p, -1-3p, -196a-5p, -23b-3p и -34a-5p с высоким результатом (AUC 0,985) [58], miR-200c/-141, miR-216a/-217 и miR-15b/-16-2 [59], и являющиеся независимыми предикторами рецидива

рования (повышение экспрессии miR-199a ($p = 0,006$) и снижение экспрессии miR-31 ($p = 0,01$)) и прогрессирования УТК (повышение экспрессии miR-21 ($p = 0,03$) и снижение экспрессии miR-31 ($p = 0,02$)) [60]. Таким образом, miRNA служат многообещающими биомаркерами для выявления инвазивных и высокозлокачественных карцином мочевого пузыря. Этот метод в дополнение к иммуногистохимическому методу диагностики может предоставить новый диагностический инструмент и улучшить индивидуализацию решений для своевременного выбора более агрессивного метода лечения пациентов.

Заключение

Результаты исследований демонстрируют, что прогностические уровни miR-26b, -451a, -486-5p и многих других miRNA, а также ассоциированных с ними белков (кодируемых геном *TUG1*) возможно оценить в исходной опухолевой ткани в разных клинических условиях. Необходима дальнейшая проверка прогностического значения этих показателей в исходной опухолевой ткани.

В будущем планируется осветить наиболее важные miRNA в контексте прогноза УТК и раскрыть дополнительные пути, которые контролируют экспрессию отдельных miRNA. Исследованиям в этой области будут способствовать достижения в области геномной инженерии с использованием технологии CRISPR-Cas9 (короткие палиндромные повторы с регулярными интервалами — CRISPR-ассоциированный белок 9),

моделирования на мышах и систем культивирования органоидов для моделирования рака, а также путем применения высокопроизводительных технологий секвенирования, которые позволяют выявлять известные на сегодняшний день мутации, вызывающие рак.

С учетом наличия этого мощного набора инструментов следующие несколько лет обещают захватывающие открытия, которые помогут раскрыть секреты нарушения

регуляции miRNA при такой агрессивной опухоли, как УТК. Понимание молекулярных и клеточных путей, контролирующих биогенез miRNA, и того, как эти механизмы работают при карциноме, позволит определить терапевтические мишени с разработкой таргетной терапии, что даст возможность восстановить профили экспрессии miRNA и обойти проблемы, связанные с доставкой синтетических миметиков miRNA (antagomiRs).

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Siegel R.L., Miller K.D., Jemal A. Cancer statistics, 2015. *CA Cancer J Clin* 2015;65(1):5–29. DOI: 10.3322/caac.21254
2. Huang R., Zheng Z., Xian S. et al. Identification of prognostic and bone metastatic alternative splicing signatures in bladder cancer. *Bioengineered* 2021;12(1):5289–304. DOI: 10.1080/21655979.2021.1964252
3. Seidl C. Targets for therapy of bladder cancer. *Semin Nucl Med* 2020;50(2):162–70. DOI: 10.1053/j.semnuclmed.2020.02.006
4. Stenzl A., Cowan N.C., De Santis M. et al. Treatment of muscle-invasive and metastatic bladder cancer: update of the EAU guidelines. *Eur Urol* 2011;59(6):1009–18. DOI: 10.1016/j.eururo.2011.03.023
5. Wu L., Qu X. Cancer biomarker detection: recent achievements and challenges. *Chem Soc Rev* 2015;44(10):2963–97. DOI: 10.1039/c4cs00370e
6. Dimashkieh H., Wolff D.J., Smith T.M. et al. Evaluation of urovysion and cytology for bladder cancer detection: a study of 1835 paired urine samples with clinical and histologic correlation. *Cancer Cytopathol* 2013;121(10):591–7. DOI: 10.1002/cncy.21327
7. Dhondt B., Van Deun J., Vermaerke S. et al. Urinary extracellular vesicle biomarkers in urological cancers: From discovery towards clinical implementation. *Int J Biochem Cell Biol* 2018;99:236–25. DOI: 10.1016/j.biocel.2018.04.009
8. Darwiche F., Parekh D.J., Gonzalvos M.L. Biomarkers for non-muscle invasive bladder cancer: current tests and future promise. *Indian J Urol* 2015;31(4):273–82. DOI: 10.4103/0970-1591.166448
9. Oeyen E., Hoekx L., Wachter S.D. et al. Bladder cancer diagnosis and follow-up: the current status and possible role of extracellular vesicles. *Int J Mol Sci* 2019;20(4):821. DOI: 10.3390/ijms20040821
10. Chen H., Pan Y., Jin X., Chen G. An immune cell infiltration-related gene signature predicts prognosis for bladder cancer. *Sci Rep* 2021;11(1):16679. DOI: 10.1038/s41598-021-96373-w
11. Valadi H., Ekström K., Bossios A. et al. Exosome-mediated transfer of mRNAs and microRNAs is a novel mechanism of genetic exchange between cells. *Nat Cell Biol* 2007;9(6):654–9. DOI: 10.1038/ncb1596
12. Ромакина В.В., Жиров И.В., Насонова С.Н. и др. МикроРНК как биомаркеры сердечно-сосудистых заболеваний. *Кардиология* 2018;58(1):66–71. DOI: 10.18087/cardio.2018.1.10083
Romakina V.V., Zhirov I.V., Nasonova S.N. et al. MicroRNAs as biomarkers of cardiovascular diseases. *Kardiologiya = Cardiology* 2018;58(1):66–71. (In Russ.). DOI: 10.18087/cardio.2018.1.10083
13. Гареев И.Ф., Сафин Ш.М., Джао Ш., Янг Г. Циркулирующие микроРНК как новые потенциальные биомаркеры для ранней диагностики и прогноза спонтанного внутримозгового кровоизлияния у людей. *Медицинский вестник Башкортостана* 2017;12(6):120–5.
Gareev I.F., Safin Sh.M., Zhao S., Yang G. Circulating microRNAs as new potential biomarkers for early diagnosis and prognosis of spontaneous intracerebral hemorrhage in humans. *Meditinskii vestnik Bashkortostana = Bashkortostan Medical Journal* 2017;12(6):120–5. (In Russ.).
14. Liu L., Wang S., Cao X., Liu J. Analysis of circulating microRNA biomarkers for breast cancer detection: a meta-analysis. *Tumour Biol* 2014;35(12):12245–53. DOI: 10.1007/s13277-014-2533-5
15. Cui Z., Lin D., Song W. et al. Diagnostic value of circulating microRNAs as biomarkers for breast cancer: a meta-analysis study. *Tumour Biol* 2015;36(2):829–39. DOI: 10.1007/s13277-014-2700-8
16. Tang S., Fan W., Xie J. et al. The role of ncRNAs in the diagnosis, prognosis and clinicopathological features of breast cancer: a systematic review and meta-analysis. *Oncotarget* 2017;8(46):81215–25. DOI: 10.18632/oncotarget.20149
17. Borga C., Meeran S.M., Fassan M. Non-coding RNAs, a real next-gen class of biomarkers? *Noncoding RNA Res* 2019;4(3):80–1. DOI: 10.1016/j.ncrna.2019.10.001
18. Lin S., Gregory R.I. MicroRNA biogenesis pathways in cancer. *Nat Rev Cancer* 2015;15(6):321–33. DOI: 10.1038/nrc3932
19. 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;75(5):843–54. DOI: 10.1016/0092-8674(93)90529-y
20. Lau N.C., Lim L.P., Weinstein E.G., Bartel D.P. An abundant class of tiny RNAs with probable regulatory roles in *Caenorhabditis elegans*. *Science* 2001;294(5543):858–62. DOI: 10.1126/science.1065062
21. Schubert M., Junker K., Heinzelmann J. Prognostic and predictive miRNA biomarkers in bladder, kidney and prostate cancer: Where do we stand in biomarker development? *J Cancer Res Clin Oncol* 2016;142(8):1673–95. DOI: 10.1007/s00432-015-2089-9
22. Sempere L.F., Kauppinen S. Translational implications of MicroRNAs in Clinical Diagnostics and Therapeutics. In: *Handbook of cell signaling*. Eds.: R.A. Bradshaw, E.A. Dennis. Oxford: Academic Press, 2009. Pp. 2965–2981.
23. O'Brien J., Hayder H., Zayed Y., Peng C. Overview of microRNA biogenesis, mechanisms of actions, and circulation. *Front Endocrinol* 2018;9:402. DOI: 10.3389/fendo.2018.00402
24. Peng Y., Croce C.M. The role of MicroRNAs in human cancer. *Signal Transduct Target Ther* 2016;1:15004. DOI: 10.1038/sigtrans.2015.4
25. Michael M.Z., O'Connor S.M., van Holst Pellekaan N.G., Young G.P. Reduced accumulation of specific microRNAs in colorectal neoplasia. *Mol Cancer Res* 2003;1(12):882–91.
26. Iorio M.V., Ferracin M., Liu C.G. et al. MicroRNA gene expression deregulation in human breast cancer. *Cancer Res* 2005;65(16):7065–70. DOI: 10.1158/0008-5472.Can-05-1783
27. Motieghader H., Kouhsar M., Najafi A. et al. mRNA–miRNA bipartite network reconstruction to predict prognostic module biomarkers in colorectal cancer stage differentiation. *Mol Biosyst* 2017;13(10):2168–80. DOI: 10.1039/c7mb00400a
28. Deng S.P., Zhu L., Huang D.S. Mining the bladder cancer-associated genes by an integrated strategy for the construction and analysis of differential co-expression networks. *BMC Genomics* 2015;16(3):S4. DOI: 10.1186/1471-2164-16-S3-S4
29. Gaballah H. Integration of Gene Coexpression Network, GO enrichment analysis for identification gene expression signature

- of invasive bladder carcinoma. Transcriptomics: Open Access 2016;126. DOI: 10.4172/2329-8936.1000126
30. Zhang X., Zhang M., Hou Y. et al. Single-cell analyses of transcriptional heterogeneity in squamous cell carcinoma of urinary bladder. *Oncotarget* 2016;7(40):66069–76. DOI: 10.18632/oncotarget.11803
31. Di Y., Chen D., Yu W., Yan L. Bladder cancer stage-associated hub genes revealed by WGCNA co-expression network analysis. *Hereditas* 2019;156:7. DOI: 10.1186/s41065-019-0083-y
32. Lv Z.T., Gao S.T., Cheng P. et al. Association between polymorphism rs12722 in COL5A1 and musculoskeletal soft tissue injuries: a systematic review and meta-analysis. *Oncotarget* 2018;9(20):15365–74. DOI: 10.18632/oncotarget.23805
33. Li X., Wang Z., Tong H. et al. Effects of COL8A1 on the proliferation of muscle-derived satellite. *Cell Biol Int* 2018;42(9):1132–40. DOI: 10.1002/cbin.10979
34. Adam L., Wszolek M.F., Liu C.G. et al. Plasma microRNA profiles for bladder cancer detection. *Urol Oncol* 2013;31(8):1701–8. DOI: 10.1016/j.urolonc.2012.06.010
35. Andrew A.S., Karagas M.R., Schroeck F.R., Marsit C.J. MicroRNA Dysregulation and non-muscle-invasive bladder cancer prognosis. *Cancer Epidemiol Biomark Prev* 2019;28(4):782–8. DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-18-0884
36. Taheri M., Shirvani-Farsani Z., Ghafouri-Fard S., Omrani M.D. Expression profile of microRNAs in bladder cancer and their application as biomarkers. *Biomed Pharmacother* 2020;131:110703. DOI: 10.1016/j.biopha.2020.110703
37. Zhu Y., Lu Y., Zhang Q. et al. MicroRNA-26a/b and their host genes cooperate to inhibit the G1/S transition by activating the pRb protein. *Nucleic Acids Res* 2012;40(10):4615–25. DOI: 10.1093/nar/gkr1278
38. Gottardo F., Liu C.G., Ferracin M. et al. Micro-RNA profiling in kidney and bladder cancers. *Urol Oncol* 2007;25(5):387–92. DOI: 10.1016/j.urolonc.2007.01.019
39. Christoph F., Schmidt B., Schmitz-Dräger B.J., Schulz W.A. Over-expression and amplification of the c-myc gene in human urothelial carcinoma. *Int J Cancer* 1999;20,84(2):169–73. DOI: 10.1002/(sici)1097-0215(19990420)84:2<169::aid-ijc13>3.0.co;2-f
40. Moltzahn F., Olshen A.B., Baehner L. et al. Microfluidic-based multiplex qRT-PCR identifies diagnostic and prognostic microRNA signatures in the sera of prostate cancer patients. *Cancer Res* 2011;71(2):550–60. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-10-1229
41. Ghorbanmehr N., Gharbi S., Korsching E. et al. Mir-21-5p, miR-141-3p, and miR-205-5p levels in urine-promising biomarkers for the identification of prostate and bladder cancer. *Prostate* 2019;79(1):88–95. DOI: 10.1002/pros.23714
42. Yang H., Chen Z., Liu Z. MiR-20a-5p negatively regulates NR4A3 to promote metastasis in bladder cancer. *J Oncol* 2021;2021:1377989. DOI: 10.1155/2021/1377989
43. Lin J.T., Tsai K.W. Circulating miRNAs act as diagnostic biomarkers for bladder cancer in urine. *Int J Mol Sci* 2021;22(8):4278. DOI: 10.3390/ijms22084278
44. Tan J., Liu B., Zhou L. et al. LncRNA TUG1 promotes bladder cancer malignant behaviors by regulating the miR-320a/FOXQ1 axis. *Cell Signal* 2022;91:110216. DOI: 10.1016/j.cellsig.2021.110216
45. Guo P., Zhang G., Meng J. et al. Upregulation of long noncoding RNA TUG1 promotes bladder cancer cell proliferation, migration, and invasion by inhibiting miR-29c. *Oncol Res* 2018;26(7):1083–91. DOI: 10.3727/096504018X15152085755247
46. Long J., Menggen Q., Wuren Q. et al. Long noncoding RNA Taurine-Upregulated Gene1 (TUG1) promotes tumor growth and metastasis through TUG1/Mir-129-5p/Astrocyte-Elevated Gene-1 (AEG-1) axis in malignant melanoma. *Med Sci Monit* 2018;24:1547–59. DOI: 10.12659/msm.906616
47. Ren K., Li Z., Li Y. et al. Long non-coding RNA 10 taurine-upregulated gene 1 promotes cell proliferation and invasion in gastric cancer via negatively modulating miRNA-145-5p. *Oncol Res* 2016;25(5):789–98. DOI: 10.3727/096504016X14783677992682
48. Zhang M., Lu W., Huang Y. et al. Downregulation of the long non-coding RNA TUG1 inhibits the proliferation, migration, invasion and promotes apoptosis of renal cell carcinoma. *J Mol Histol* 2016;47(4):421–8. DOI: 10.1007/s10735-016-9683-2
49. Liu Q., Liu H., Cheng H. et al. Downregulation 19 of long noncoding RNA TUG1 inhibits proliferation and induces apoptosis through the TUG1/miR-142/ZEB2 axis in bladder cancer cells. *Onco Targets Ther* 2017;10:2461–71. DOI: 10.2147/OTT.S124595
50. Tan J., Qiu K., Li M., Liang Y. Double-negative feedback 20 loop between long non-coding RNA TUG1 and miR-145 promotes epithelial to mesenchymal transition and radioresistance in human bladder cancer cells. *FEBS Lett* 2015;589(20):3175–81. DOI: 10.1016/j.febslet.2015.08.020
51. Iliev R., Kleinova R., Juracek J. et al. Overexpression of long non-coding RNA TUG1 predicts poor prognosis and promotes cancer cell proliferation and migration in high-grade muscle-invasive bladder cancer. *Tumour Biol* 2016;37(10):13385–90. DOI: 10.1007/s13277-016-5177-9
52. Zhang S., Zhong G., He W. et al. LncRNA up-regulated in nonmuscle invasive bladder cancer facilitates tumor growth and acts as a negative prognostic factor of recurrence. *J Urol* 2016;196(4):1270–8. DOI: 10.1016/j.juro.2016.05.107
53. Huang M., Long Y., Jin Y. et al. Comprehensive analysis of the lncRNA-miRNA-mRNA regulatory network for bladder cancer. *Transl Androl Urol* 2021;10(3):1286–301. DOI: 10.21037/tau-21-81
54. Baumgart S., Meschkat P., Edelmann P. et al. MicroRNAs in tumor samples and urinary extracellular vesicles as a putative diagnostic tool for muscle-invasive bladder cancer. *J Cancer Res Clin Oncol* 2019;145(11):2725–36. DOI: 10.1007/s00432-019-03035-6
55. Piao X.M., Cha E.J., Yun S.J. et al. Role of exosomal miRNA in bladder cancer: a promising liquid biopsy biomarker. *Int J Mol Sci* 2021;22(4):1713. DOI: 10.3390/ijms22041713
56. Long J.D., Sullivan T.B., Humphrey J. et al. A non-invasive miRNA based assay to detect bladder cancer in cell-free urine. *Am J Transl Res* 2015;7(11):2500–9.
57. Strømme O., Heck K.A., Brede G. et al. Differentially expressed extracellular vesicle-contained microRNAs before and after transurethral resection of bladder tumors. *Curr Issues Mol Biol* 2021;43(1):286–300. DOI: 10.3390/cimb43010024
58. Li R., Chen X., Li X. et al. A four-miRNA signature in serum as a biomarker for bladder cancer diagnosis. *Am J Transl Res* 2022;14(7):4606–16.
59. Ware A.P., Kabekkodu S.P., Chawla A. et al. Diagnostic and prognostic potential clustered miRNAs in bladder cancer. *3 Biotech* 2022;12(8):173. DOI: 10.1007/s13205-022-03225-z
60. Awadalla A., Zahran M.H., Abol-Enein H. et al. Identification of different miRNAs and their relevant miRNA targeted genes involved in sister chromatid cohesion and segregation (SCCS)/chromatin remodeling pathway on T1G3 urothelial carcinoma (UC) response to BCG immunotherapy. *Clin Genitourin Cancer* 2022;20(3):e181–9. DOI: 10.1016/j.clgc.2021.12.001

Вклад авторов

В.Ю. Старцев: разработка идеи исследования, постановка задачи исследования, написание текста статьи;
С.Л. Воробьев: выполнение рутинной работы по систематизации материала, написание текста статьи;
Н.И. Тяпкин, А.Э. Саад: написание текста статьи;
Г.В. Кондратьев: анализ результатов исследования, подготовка данных.

Authors' contributions

V.Yu. Startsev: developing the research idea, problem description, article writing;
S.L. Vorobyov: routine work of information systematization, article writing;
N.I. Tyapkin, A.E. Saad: article writing;
G.V. Kondratiev: analysis of study results, data preparation.

ORCID авторов / ORCID of authors

В.Ю. Старцев / V.Yu. Startsev: <https://orcid.org/0000-0003-1243-743X>
С.Л. Воробьев / S.L. Vorobyov: <https://orcid.org/0000-0002-7817-9069>
Н.И. Тяпкин / N.I. Tyapkin: <https://orcid.org/0000-0002-2479-0436>
А.Э. Саад / A.E. Saad: <https://orcid.org/0000-0003-0445-2277>
Г.В. Кондратьев / G.V. Kondratiev: <https://orcid.org/0000-0002-1462-6907>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Работа выполнена без спонсорской поддержки.

Funding. The work was performed without external funding.

Статья поступила: 15.09.2022. **Принята к публикации:** 23.02.2023.

Article submitted: 15.09.2022. **Accepted for publication:** 23.02.2023.