

DOI: 10.25205/978-5-4437-1691-6-365

**ВНЕКЛЕТОЧНЫЕ МИКРОРНК МОЧИ БОЛЬНЫХ РАКОМ ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ
КАК ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ МАРКЕРЫ ЭФФЕКТИВНОСТИ ТЕРАПИИ*****EXTRACELLULAR MIRNAS IN THE URINE OF PROSTATE CANCER PATIENTS
AS POTENTIAL MARKERS OF THERAPY EFFECTIVENESS**Е. В. Шутко^{1,3}, Г. Саллум¹, О. Е. Брызгунова¹, Е. А. Мурина¹,
И. А. Остальцев², С. В. Пак², П. П. Лактионов^{1,2}, М. Ю. Коношенко¹¹Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск²Национальный медицинский исследовательский центр им. акад. Е. Н. Мешалкина, Новосибирск³Новосибирский государственный университетE. V. Shutko^{1,3}, G. Salloum¹, O. E. Bryzgunova¹, E. A. Murina¹,
I. A. Ostal'cev², S. V. Pak², P. P. Laktionov^{1,2}, M. Y. Konoshenko¹¹Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk²Meshalkin National Medical Research Center, Novosibirsk³Novosibirsk State University

✉ katshutko@gmail.com

Аннотация

Анализ aberrантной экспрессии микроРНК мочи является потенциально ценным неинвазивным маркером эффективности лечения. Источником перспективных для прогностических целей микроРНК могут служить супернатант и внеклеточные везикулы мочи. С помощью анализа экспрессии 14 выбранных микроРНК мочи пациентов с раком предстательной железы (РПЖ) до и через 3, 6 и 12 месяцев после радикальной простатэктомии и лучевой терапии, выявлены пары микроРНК — потенциальные маркеры эффективности терапии.

Abstract

Analysis of aberrant urinary miRNA expression has the potential to be a valuable non-invasive marker of treatment efficacy. The supernatant and extracellular vesicles of urine can serve as a source of promising miRNAs for prognostic purposes. By analyzing the expression of 14 selected miRNAs in the urine samples of patients with prostate cancer before and 3, 6 and 12 months after radical prostatectomy and radiation therapy, miRNA ratios were identified as potential markers of therapy effectiveness.

Введение

Рак предстательной железы (РПЖ) на протяжении долгих лет занимает лидирующие позиции по заболеваемости и смертности среди мужчин. Подбор метода лечения — в частности, широко распространенных радикальной простатэктомии (РПЭ) или лучевой терапии (ЛТ) — и оценка эффективности терапии остаются актуальными проблемами, поскольку нередко (20–40 % после РПЭ и 31–46 % случаев после ЛТ) наблюдается рецидив заболевания в течение 5 лет после лечения.

Одним из наиболее перспективных подходов является анализ относительной экспрессии микроРНК мочи, поскольку при развитии многих заболеваний, в том числе онкологических, а также в процессе терапии, наблюдается aberrантная экспрессия маркерных микроРНК.

Целью исследования является анализ динамики относительной экспрессии микроРНК мочи (внеклеточных везикул (ВВ) и супернатанта) у больных РПЖ после РПЭ и ЛТ с точки зрения поиска наиболее перспективных прогностических маркеров.

Материалы и методы

Образцы мочи 22 больных РПЖ до и после РПЭ (через 3, 6 и 12 месяцев) и 10 больных РПЖ до и после ЛТ (через 3, 6 и 12 месяцев), а также 18 здоровых доноров (ЗД) получены из ОПК и радиологического отделения НМИЦ имени академика Е. Н. Мешалкина (Новосибирск, Россия). Фракции супернатанта и ВВ мочи были выделены методами последовательных центрифугирований и агрегации-преципитации с использованием полиэтилен-

* Исследование выполнено при поддержке РФФИ (проект № 23-25-10026) в рамках поддержанного Правительством Новосибирской области проекта 0000005406995998235120582/ № p-45.

© Е. В. Шутко, Г. Саллум, О. Е. Брызгунова, Е. А. Мурина, И. А. Остальцев, С. В. Пак, П. П. Лактионов, М. Ю. Коношенко, 2024

гликоля и декстрана синего. Из полученных фракций мочи были выделены микроРНК с использованием стекловолоконистых фильтров. С помощью ОТ-ПЦР в режиме реального времени были получены данные о пороговых циклах детекции каждой из 14 (hsa-miRNA-19b, -22-3p, -30e, -31, -92a, -125b, -144, -200b, -205, -222, -375, -378a, -425, -660) выбранных на основе литературных данных и биоинформатического анализа микроРНК в образцах здоровых и больных доноров. Для нормализации полученных результатов использовали метод попарной нормировки. Работа выполнена в ИХБФМ СО РАН (Новосибирск, Россия).

Результаты

Для определения пар микроРНК, достоверно изменивших относительную экспрессию после РПЭ или ЛТ, использовали дисперсионный анализ повторных измерений. Было выявлено 29 и 22 пар микроРНК, изменивших экспрессию после РПЭ и ЛТ соответственно в супернатанте мочи, а также 22 и 40 таких пар во фракции ВВ мочи. Эти пары микроРНК можно разделить на различные группы с одинаковыми паттернами динамики экспрессии для обоих видов терапии.

Наиболее значимыми критериями для разделения пар микроРНК на группы были признаны направление изменения экспрессии после терапии и достоверные различия между уровнями экспрессии микроРНК до лечения и через год после. Основной интерес с точки зрения оценки эффективности терапии представляют собой пары микроРНК, относительная экспрессия которых после лечения приблизилась к таковой у здоровых доноров: 9 и 2 пары микроРНК после РПЭ и ЛТ соответственно в супернатанте и 10 и 27 во фракции ВВ мочи.

Кроме того, был выявлен ряд пар микроРНК как в супернатанте, так и во фракции ВВ мочи, по уровням относительной экспрессии которых спустя год после терапии достоверно отличались от всех остальных некоторые пациенты с признаками рецидива онкозаболевания, такими как вторичные изменения в тазовых лимфоузлах или повышенный уровень простат-специфического антигена в крови.

Выявленные закономерности позволяют предположить высокий потенциал микроРНК в качестве маркеров рецидива РПЖ, что может быть использовано при корректировке терапии после первичного лечения РПЭ или ЛТ.

Исходя из полученных результатов, во фракции ВВ мочи было выявлено большее количество потенциально прогностически значимых пар, чем в бесклеточной фракции. Кроме того, 5 пар микроРНК (miRNA-31/375, miRNA-30e/92a, miRNA-30e/205, miRNA-125b/660, miRNA-200b/375) во фракции ВВ мочи были определены как наиболее перспективные для оценки эффективности как РПЭ, так и ЛТ.

Тем не менее для разработки высокоэффективных прогностических панелей многообещающими выглядят смешанные панели, состоящие частично из везикулярных микроРНК и частично из микроРНК из фракции супернатанта мочи, что может способствовать высокой точности и надежности таких потенциальных клинических тестов, поэтому фракции ВВ и супернатанта мочи представляют большой интерес с точки зрения прогностических целей.

Выводы

Описана годовая динамика экспрессии микроРНК после РПЭ и ЛТ и выявлены наиболее перспективные прогностические пары микроРНК. Оценка эффективности лечения РПЖ путем анализа относительной экспрессии выявленных пар микроРНК, достоверно изменяющих свою экспрессию после терапии, представляет собой потенциально ценный клинический инструмент.