

МЕТИЛИРОВАНИЕ ГЕНОВ МИКРОРНК: НОВЫЕ МАРКЕРЫ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ И ПРОГНОЗА МЕТАСТАЗИРОВАНИЯ РАКА ЯИЧНИКОВ

**Э.А. Брага^{1,2}, В.И. Логинов^{1,2}, И.В. Пронина¹, А.М. Бурдённый¹,
Е.А. Филиппова¹, С.С. Лукина^{1,3}, Н.А. Иванова¹, А.В. Смирнова³,
Д.С. Ходырев⁴, Д.О. Уткин⁵, Т.П. Казубская⁵, Н.Е. Кушлинский⁵**

¹ ФГБНУ «НИИ общей патологии и патофизиологии», Москва, Россия

² ФГБНУ «Медико-генетический научный центр им. акад. Н.П. Бочкова», Москва, Россия

³ ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России», Москва

⁴ ФНКЦ специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий ФМБА России, Москва

⁵ ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, 115478, Москва

Цель. Анализ диагностического и прогностического потенциала группы генов микроРНК, гиперметилируемых при раке яичников (РЯ).

Материалы и методы. Исследованы парные образцы (опухоль и условная норма), полученные после операции 54 пациенток с морфологически установленным диагнозом — эпителиальные опухоли яичника. Статус метилирования определяли с применением бисульфитной конверсии ДНК и последующей метил-специфичной ПЦР.

Результаты. В большинстве исследованных образцов показано aberrантное метилирование 8 генов микроРНК. Сопоставление данных по метилированию этих генов в 54 образцах опухолей пациенток и 18 доноров (умерших от неонкологических заболеваний) позволило определить набор из 4 маркеров (MIR-107, -124-3, -129-2, -193a), обладающих диагностическим потенциалом. Согласно ROC-анализу, этот набор маркеров позволяет диагностировать РЯ в образцах биопсии пациенток с высокой клинической чувствительностью 87% и специфичностью 100%, AUC = 0.936. В соответствии с клинико-гистологическими характеристиками 54 образца РЯ разбили на две группы: 37 образцов — без метастазирования и 17 образцов — с метастазированием в региональные лимфатические узлы или отдаленные органы. Метилирование 5 генов (MIR-1258, -129-2, -137, -193a, -203a) значимо ассоциировано с метастазированием и позволяет дифференцировать эти две группы пациенток. Согласно ROC-анализу, этот набор маркеров может предсказывать метастазирование с клинической чувствительностью 94% и специфичностью 81%, AUC = 0.892. В соответствии с характеристиками данной системы для прогноза метастазирования РЯ необходимо установление метилирования 3 из 5 маркеров данной системы.

Заключение. Предложенные нами наборы маркеров, основанные на метилировании группы генов микроРНК, после их валидации могут найти применение в клинической онкологии.

Ключевые слова: рак яичников, микроРНК, метилирование, метастазирование, маркеры.

METHYLATION OF MICRORNA GENES: NOVEL MARKERS FOR DIAGNOSIS AND METASTASIS PREDICTION OF EPITHELIAL OVARIAN CANCER

**E.A. Braga^{1,2}, V.I. Loginov^{1,2}, I.V. Pronina¹, A.M. Burdennyi¹,
E.A. Filippova¹, S.S. Lukina^{1,3}, N.A. Ivanova¹, A.V. Smirnova³,
D.S. Khodyrev⁴, D.O. Utkin⁵, T.P. Kazubskaya⁵, N.E. Kushlinskii⁵**

¹ Federal State Budgetary Scientific Institution «Institute of General Pathology and Pathophysiology», Moscow,

² Federal State Budgetary Scientific Institution «N.P. Bochkov Research Center of Medical Genetics», Moscow,

³ Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education I.M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation;

⁴ Federal Research Clinical Center of Specialized Types of Medical Care and Medical Technologies, Federal Medico-Biological Agency of Russia, Moscow,

⁵ Federal State Budgetary Institution «N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow

Aim. Analysis of the diagnostic and prognostic potential of a group of microRNA genes hypermethylated in epithelial ovarian cancer (EOC).

Materials and methods. Paired samples (tumor and conditional norm) obtained after the surgery of 54 patients with morphologically diagnosed ovarian epithelial tumors were studied. Methylation status was determined using bisulfite DNA conversion and subsequent methylation-specific PCR.

Results. Most of the studied samples showed aberrant methylation in 8 miRNA genes. The comparison of the data on the methylation of these genes in 54 paired patients' samples and 18 donors (who died from non-cancer diseases) samples made it possible to determine a set of 4 markers (MIR-107, -124-3, -129-2, -193a) that have diagnostic potential. According to the ROC analysis, this set of markers makes it possible to diagnose EOC in patients' biopsy samples with a high clinical sensitivity of 87% and a specificity of 100%, AUC = 0.936. In accordance with the clinical and histological characteristics, 54 samples of EOC were divided into two groups: 37 samples without metastasis and 17 samples with metastasis to regional lymph nodes or distant organs. The methylation of the 5 genes (MIR-1258, -129-2, -137, -193a, -203a) is significantly associated with metastasis and allows us to differentiate these two groups of patients. According to ROC analysis, this set of markers can predict metastasis with a clinical sensitivity of 94% and a specificity of 81%, AUC = 0.892. In accordance with the characteristics of this system, it is necessary to establish methylation of 3 out of 5 markers of this system for the prognosis of metastasis of EOC.

Conclusion. The proposed markers' set based on methylation of a group of microRNA genes can be use in clinical oncology after its validation.

Keywords: epithelial ovarian cancer, microRNA, methylation, metastasis, markers.

Введение

Ежегодно в мире более 200 тыс. женщин заболевают раком яичников (РЯ). Эпителиальные опухоли яичников — онкогинекологическое заболевание, отличающееся наиболее частым неблагоприятным исходом [1, 2]. Высокий уровень летальности усугубляется отсутствием методов выявления этого заболевания на ранних стадиях. РЯ обычно обнаруживают, когда он уже диссеминирован в брюшину, и зачастую первым индикатором наличия РЯ становится образование асцита. Для своевременной диагностики этого заболевания необходимо открытие новых, более эффективных молекулярных маркеров и их внедрение в клиническую практику. [3].

Метилирование ДНК — эпигенетическая модификация генома, связанная с регуляцией многочисленных процессов в клетке посредством инактивации генов без затрагивания последовательности ДНК. В опухолях наблюдается специфичное гиперметилирование CpG-островков промоторных районов генов-супрессоров опухолевого роста [4]. Метилирование CpG-островков, перекрывающихся с промоторными районами, вовлечено также в подавление экспрессии генов регуляторных микроРНК. Отмечено, что доля генов микроРНК, подверженных метилированию, значительно больше, чем генов, кодирующих белки [5, 6]. Эта особенность генов микроРНК повышает их при-

влекательность в качестве перспективных маркеров онкологических заболеваний.

Известно много работ, исследующих роль микроРНК и их генов-мишеней в патогенезе и прогрессии РЯ (см. например, обзоры: [7–11]). Однако данные по метилированию генов микроРНК при РЯ ограничены единичными экспериментальными работами [12–14]; обзорных работ нет.

В данной работе изучено метилирование 8 генов микроРНК (MIR-107, MIR-124-3, MIR-1258, MIR-127, MIR-129-2, MIR-137, MIR-193a, MIR-203a), содержащих CpG-островки, в 54 клинических образцах РЯ и в 18 образцах ткани яичников от «доноров» (умерших женщин без онкопатологии, по данным анамнеза) с целью оценить их диагностический и прогностический потенциал. Участие этих 8 микроРНК в патогенезе РЯ ранее было показано, главным образом, в функциональных исследованиях на клеточных культурах [15–21]. Анализ метилирования генов микроРНК в клинических образцах РЯ позволяет оценить их диагностический и прогностический потенциал, что явилось целью данной работы.

Материалы и методы

Образцы рака яичников собраны и морфологически охарактеризованы в ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России.

Работа проведена с соблюдением принципов добровольности и конфиденциальности в соответствии с «Основами законодательства РФ об охране здоровья граждан», получено разрешение этического комитета НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина Минздрава России, а также информированное согласие больных. Анализировали образцы рака яичников у больных, которые до операции не получали лучевую или химиотерапию. Все опухоли яичников были классифицированы в соответствии с TNM-классификацией Международного противоракового союза и гистологически верифицированы на основании критериев классификации ВОЗ [22]. Для отбора образ-

цов с высоким содержанием опухолевых клеток (не менее 70–80%) проводили дополнительный гистологический анализ микросрезов (3–5 мкм), окрашенных гематоксилин-эозином. В исследовании использованы парные образцы опухолей и гистологически неизмененных тканей яичников, полученные от 54 больной раком яичников, включая 37 образцов от пациенток, у которых не было выявлено метастазов, и 17 образцов от пациенток, у которых выявлены метастазы в регионарных лимфатических узлах и/или в брюшине, в отдаленных органах. Клинико-гистологические характеристики всех опухолевых образцов приведены в табл. 1. Большинство образцов (77%, 42/54) были представлены серозной цистаденокарциномой. Образцы тканей хранили при -70°C . Замороженную в жидком азоте ткань измельчали с помощью гомогенизатора-диспергатора SilentCrusher S (Heidolph, Германия). Высокомолекулярную ДНК выделяли из ткани по стандартной методике.

Бисульфитную конверсию ДНК и метилспецифичную ПЦР (МС-ПЦР) проводили, как описано ранее [23]. Модифицированную бисульфитом ДНК (1–2 мкг) очищали с помощью Centrifugal Filter Microcon, Ultracel YM-30 (Millipore, США), хранили при -20°C и использовали в качестве матрицы при проведении МС-ПЦР. Для анализа метилирования каждой микроРНК методом МС-ПЦР используют две пары праймеров, специфичных к метилированному или к неметилированному аллелю. Для 8 исследуемых генов микроРНК МС-ПЦР проводили в 20 мкл реакционной смеси, содержащей 67 мМ Трис-НСl, рН 8.8, 16,7 мМ $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0.01% Tween-20; 1,5 мМ MgCl_2 , 0.25 мМ каждого dNTP; 10–20 нг ДНК; 25 пмоль каждого праймера; 0,5 ед. Hot Start Taq ДНК полимеразы («СибЭнзим», Новосибирск). Амплификацию проводили по программе: 95°C , 5 мин; 35 циклов $\{95^{\circ}\text{C}$, 10 с; $T_{\text{отж}}$ (см. табл. 2), 20 с; 72°C , 30 с $\}$; 72°C , 3 мин; ПЦР проводили на амплификаторе DNA Engine Dyad Cyler T-100 (Bio-Rad, США) с использованием олигонуклеотидов и условий амплификации, описанных в табл. 2. Препарат метилированной ДНК человека (#SD1131, «Thermo Scientific») использовали как контроль

Таблица 1

Клинические и гистологические характеристики 54 образцов первичных опухолей

Клинические и гистологические характеристики		N = 54
Гистологический тип опухоли	Пограничная серозная аденома	4
	S	42
	E	4
	CC	2
	Mu	2
Стадия	I	9
	II	9
	III	28
	IV	4
Степень дифференцировки	G1	6
	G2	12
	G3	32
Перитониеальные метастазы	T3b	0
	T3c	13
Поражение регионарных лимфоузлов	N0	38
	N1	16
Отдаленные метастазы	M0	50
	M1	4

Примечания: S — серозная цистаденокарцинома; E — эндометриодная цистаденокарцинома; Mu — муциозная цистаденокарцинома; CC — светлоклеточная цистаденокарцинома; G3 — низкодифференцированная; G2 — умереннодифференцированная; G1 — высокодифференцированная.

для метилированного аллеля, а препарат неметилированной ДНК человека (Male, #G1471, «Promega») — как контроль для неметилированного аллеля.

Статистический анализ полученных данных проводили с применением точного критерия Фишера; изменения считали значимыми при $p \leq 0.05$. Достоверность значений p проверяли с помощью поправки Бенджамини-Хохберга

на множественное сравнение; результат считали значимым при FDR (false discovery rate) равным 0.05 или ниже.

Результаты

Частоты встречаемости метилирования 8 генов микроРНК (*MIR-107*, *MIR-124-3*, *MIR-1258*, *MIR-127*, *MIR-129-2*, *MIR-137*, *MIR-193a*, *MIR-203*), исследованных с использованием

Таблица 2

Характеристика праймеров, температуры отжига и продуктов МС-ПЦР

Ген микроРНК	Структура праймеров	Тотж, °С	Продукт МС-ПЦР, п.н.
MIR-107	MF1: TTATTAGTAAGGAAGATTTTCGTTCCGGG MR1: TTAATAAAAACCTTACCTCATTCAACG	55	105
	UF1: TATTAGTAAGGAAGATTTTGTTGGGT UR1: ATATAAATAACACACAACCTTTCACCAA	55	130
MIR-124-3	MF2: GATAGTATAGTCGGTTGAGCGTAGCGT MR2: CCTCAAAACTAAAACGAACGACGAAC	55	152
	UF2: TAGTTGGTTGAGTGTAGTGTTTTG UR2: CAAAACATAAACAAACAACAAACATC	55	142
MIR-1258	MF3: GGAGAACGTTTGC GCGAAGTTTC MR3: CCAATCCGAAAACGCCGAT	60	167
	UF3: AATTTTGGGGTTTTTGTTAGGTAGG UR3: CACAAAACAACAACCTCAACCAACACA	60	213
MIR-127	MF4: GTTTTGC GATGATGTTGAAGCGTTT MR4: CGCCAAACCGTAAAATCTCTAAACTT	60	181
	UF4: GGGGTTTTGTGATGATGTTGAAGTGT UR4: CCACCAAACCATAAAATCTCTAAACTT	60	185
MIR-129-2	MF5: GATTTTAGTTCGTATTAATGAGTTGGCGGTTTC MR5: CCGACTACAAAATCGCGAATCTCTAAAC	58	187
	UF5: GATGATTTAGTTTGTATTAATGAGTTGGTG UR5: CAACTACAAAATCACAATCTCTAAACAA	58	189
MIR-137	MF6: GGTTTTTTGATTTTTTTCGGTGACG MR6: CCGCTAATACTCTCCTCGACTACGC	58	100
	UF6: GGTTTTTTGATTTTTTTCGGTGATGG UR6: CCCCCCTACCATAACTCTCTCTCAA	58	108
MIR-193a	MF7: TTGGAGTTCGCGATTTCGAGGTC MR7: CTCATCTCGCCCGCAAAAACC	60	198
	UF7: GAGGGTTGGGTTTGGAGTTTGTGA UR7: TAATCCAACACCCCTCATCTCACC	60	221
MIR-203a	MF8: TTTCGGGTCGTGGAGGATTAGTC MR8: ACTCCGAACGACGATAACCAACG	58	160
	UF8: GTGGAGGATTAGTTGTGGGATTTAT UR8: CCAACACAACAACACCTTTTATACAA	58	134

Примечания: Праймеры подобраны авторами с использованием известных программ (Methyl Primer Express v.1.0 и Vector NTI v.10.0). Условия МС-ПЦР ($T_{отж}$) подобраны экспериментально.

представительной выборки образцов тканей яичников от 54 пациенток, приведены в табл. 3. Результаты анализа показали статистически значимое повышение частоты метилирования всех 8 исследованных генов в образцах опухолей по сравнению с парными образцами гистологически неизмененных тканей яичников (28–61% против 4–11%; $p \leq 0.004$, $FDR = 0.05$, табл. 3). Эти результаты указывают на связь метилирования данных 8 генов с развитием РЯ. В образцах доноров не выявлено метилирование ни одного гена из 8 исследованных, что важно для применения их в качестве диагностических маркеров.

Примечательно, что с наибольшей частотой гиперметилирование отмечено для 5 генов: *MIR-107*, *MIR-124-3*, *MIR-127*, *MIR-129-2*, *MIR-193a* (48–61%). Методом ROC-анализа сформирован оптимальный набор маркеров для диагностики РЯ, включивший 4 гена микроРНК (*MIR-107*, *MIR-124-3*, *MIR-129-2*, *MIR-193a*). Согласно ROC-анализу, эта комбинация генов микроРНК позволяет диагностировать РЯ в образцах биопсии пациентки с высокой клинической чувствительностью — 87% и специфичностью 100%, $AUC = 0.936$ (рис. 1). Причем для установления диагноза РЯ необходимо выявление метилирования одного или более из данных 4 маркеров в ДНК биопсии пациентки.

В соответствии с данными по клинико-гистологической характеристике, 54 образца РЯ

разбили на две группы: 37 образцов — от пациенток без метастазирования и 17 образцов, — от пациенток с метастазированием в региональные лимфатические узлы или отдаленные органы. Сопоставление частот метилирования 8 генов микроРНК в этих двух группах образцов показал статистически значимую связь с метастазированием 5 генов: *MIR-1258*, *-129-2*, *-137*, *-193a*, *-203a* ($p \leq 0.05$, табл. 4). Причем наиболее высоко значимую связь с метастазированием показал ген *MIR-137* ($p = 5 \times 10^{-5}$). Метилирование гена *MIR-137* можно считать наиболее специфичным маркером метастазирования РЯ из 8 исследованных генов микроРНК.

Согласно анализу ROC-кривых (рис. 2), комбинация из 5 генов (*MIR-1258*, *-129-2*, *-137*, *-193a*, *-203a*) позволяет дифференцировать эти две группы пациенток с метастазами и без них, и представляет набор маркеров, который может предсказывать метастазирование с клинической чувствительностью 94% и специфичностью 81%, $AUC = 0.892$. Согласно характеристикам данной комбинации генов (рис. 2), для прогноза метастазирования РЯ необходимо выявление метилирования в трех или более из пяти маркеров данного набора.

Обсуждение

Определение статуса метилирования CpG-островков гена в опухолях важно для понимания функции гена в онкогенезе. Гиперметилиро-

Таблица 3

Частота метилирования 8 генов микроРНК в 54 парных образцах РЯ

Ген микроРНК	Опухоль	Норма	p^*	Донор**
<i>MIR-107</i>	52%, 28/54	4%, 2/54	1×10^{-8}	0%, 0/18
<i>MIR-124-3</i>	48%, 26/54	6%, 3/54	6×10^{-7}	0%, 0/18
<i>MIR-1258</i>	37%, 20/54	6%, 3/54	1×10^{-4}	0%, 0/18
<i>MIR-127</i>	50%, 27/54	9%, 5/54	5×10^{-6}	0%, 0/18
<i>MIR-129-2</i>	54%, 29/54	7%, 5/76	4×10^{-9}	0%, 0/18
<i>MIR-137</i>	43% 23/54	6%, 3/54	1×10^{-7}	0%, 0/18
<i>MIR-193A</i>	61%, 33/54	11%, 6/54	1×10^{-7}	0%, 0/18
<i>MIR-203A</i>	28%, 15/54	6%, 3/54	0.004	0%, 0/18

Примечания: Приведены данные МС-ПЦР.

* Применён тест Фишера.

** Пост-мортальные лица, онкологически здоровые по данным анамнеза. Статистически значимые частоты гиперметилирования генов в опухолях даны жирным шрифтом.

Сравнение частоты метилирования 8 генов микроРНК в 17 образцах опухолей пациенток с метастазами и в 37 образцах опухолей пациенток без метастазов

Ген микроРНК	Пациентки с метастазами	Пациентки без метастазов	p *
MIR-107	71%, 12/17	43%, 16/37	0.08
MIR-124-3	59%, 10/17	41%, 15/37	> 0.05
MIR-1258	59%, 10/17	27%, 10/37	0.04
MIR-127	41%, 7/17	27%, 10/37	> 0.05
MIR-129-2	76%, 13/17	43%, 16/37	0.04
MIR-137	88% 15/17	22%, 8/37	5×10⁻⁵
MIR-193A	88% 15/17	49%, 18/37	0.007
MIR-203A	47%, 8/17	19%, 7/37	0.05

Примечания: Приведены данные МС-ПЦР.

* Применён тест Фишера. Величина p при статистически значимом повышении частоты метилирования генов в опухолях пациенток с метастазами в сравнении с пациентками без метастазов даны жирным шрифтом.

вание — частая модификация онкосупрессорных генов, и, напротив, ряд генов с онкогенной функцией подвержен гипометилированию в опухолях [24, 25]. Аберрантное метилирование генов микроРНК выявлено в новообразованиях разных тканей (например, легкого, почки и молочной железы), и для этих генов показан диагностический потенциал [26–28].

База данных TCGA (The Cancer Genome Atlas, Атлас генома рака) представляет собой комплексное исследование, которое продвину-

ло наши знания о молекулярных основах рака [29]. Однако в этой базе экспрессионные профили микроРНК определены для 483 образцов рака яичников, но ни для одного образца парной нормы. Данные TCGA по анализу метилирования ДНК с использованием микрочипов покрывают только 30,000 CpG-сайтов генома человека при РЯ. Причем эти CpG-сайты не относятся к исследованным нами генам микроРНК [29]. В данной работе мы провели анализ аберрантного метилирования 8 генов

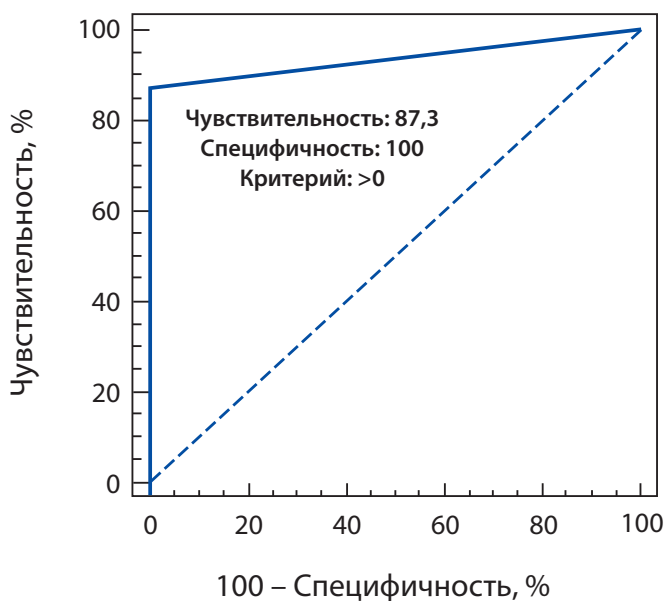


Рис. 1. ROC-анализ набора маркеров (MIR-107, -124-3, -129-2, -193a) для диагностики рака яичников (AUC = 0.936).

микроРНК, ассоциированных с онкогенезом, в 54 парных (опухоль/условная норма) образцах РЯ.

Метилирование может снижать способность микроРНК к ингибированию генов-мишеней за счет снижения экспрессии самих микроРНК, что может влиять на регуляцию сигнальных путей и процессов в опухолях. Нарушение регуляции онкосупрессорных микроРНК, опосредованное через гиперметилирование ДНК промоторных областей, вовлечено в развитие ряда гематологических и солидных злокачественных опухолей человека, включая меланому, острый миелоидный лейкоз, хронический лимфолейкоз, рак желудка, легкого, молочной железы, мочевого пузыря, колоректальный рак и др. опухоли [24, 30]. Метилированные гены микроРНК рассматриваются как потенциальные диагностические маркеры и терапевтические мишени для разных видов рака [31].

В этой работе мы провели поиск новых генов микроРНК, aberrантно метилированных при РЯ, исследовали роль метилирования промоторных CpG-островков 8 генов, кодирующих опухоль-ассоциированные микроРНК, в развитии и прогрессии РЯ и определили гены микроРНК, метилирование которых ассоциировано с метастазированием РЯ. Мы оценили

статус метилирования 8 генов микроРНК (*MIR-107*, *-124-3*, *-1258*, *-127*, *-129-2*, *-137*, *-193a*, *-203a*) в репрезентативной выборке из 54 первичных опухолей яичников и парных условно-нормальных тканей и в 18 образцах нормальных тканей яичников «доноров».

Обнаруженное нами гиперметилирование 8 генов микроРНК (*MIR-107*, *-124-3*, *-1258*, *-127*, *-129-2*, *-137*, *-193a*, *-203a*) может указывать на их онко-супрессорные свойства. Эти результаты, полученные на клинических образцах, согласуются с данными функциональных исследований других авторов на клеточных линиях, указывающих также на супрессорные свойства данных микроРНК. Так, в недавней работе показано, что *miR-107* может индуцировать арест клеточного цикла, связываясь с циклином E1 [32]. На клеточных линиях SKOV3 и OCVAR3 показана проапоптотная функция *miR-124* и ее способность ингибировать экспрессию гена программируемой клеточной смерти *PDCD6* [33], а также показана роль *miR-124* в ингибировании роста ксенографтов опухолей РЯ в голых мышцах [34]. МикроРНК *miR-127* проявляет себя также как онкосупрессор, подавляя мРНК гена *BAG5* (Bcl-2-associated athanogene 5) и гена субъединицы альфа 6 интегрина (*ITGA6*) [17, 35]. В клетках SKOV3 *miR-129* подавляет

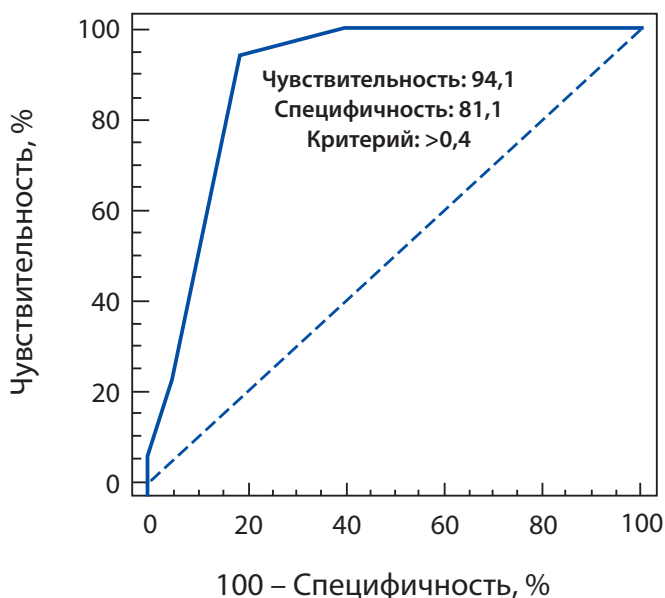


Рис. 2. ROC-анализ набора маркеров (*MIR-1258*, *-129-2*, *-137*, *-193a*, *-203a*) для прогноза метастазирования рака яичников ($AUC = 0.892$)

пролиферацию, миграцию и инвазию, воздействуя на регулятор клеточного цикла *BZWI* (basic leucine zipper and W2 domains 1) [36], что указывает и на онко-супрессорные, и анти-метастатические свойства этой микроРНК при РЯ, что находится в полном соответствии с нашими данными, полученными на клинических образцах РЯ. В клетках OCVAR3 miR-137 подавляет про-апоптозный ген *MCL1* (myeloid cell leukemia 1) и стимулирует апоптоз, индуцированный цисплатином [37]. Кроме того, показана его способность стимулировать эпителиально-мезенхимальный переход (ЭМП), ингибируя мРНК *SNAIL* как прямую мишень [38]. Наши результаты о строго значимой ассоциации метилирования гена *MIR-137* как с патогенезом РЯ, так и с метастазированием РЯ также подтверждают онко-супрессорные и анти-метастатические свойства этой микроРНК.

Несколько работ сообщают о роли miR-203a в патогенезе РЯ, однако имеющиеся данные литературы достаточно противоречивы. В одной работе показано, что miR-203a усиливает рост и миграцию клеток РЯ, стимулируя гликолитический путь [39]. В то же время в других работах для miR-203a продемонстрированы онко-супрессорная функция и подавление ЭМП, а также метастазирования посредством ингибирования *BIRC5/survivin* как прямой мишени и за счет подавления TGF β -пути [40, 41]. Противоречивые результаты сообщены также авторами недавней работы [42]. По их наблюдениям, с одной стороны, miR-203a снижает пролиферацию и усиливает апоптоз, а с другой стороны, miR-203a подавляет как прямую мишень *SOCS3* (Cytokine signal transduction inhibitor 3), который ингибирует *JAK* (Janus kinases) — активатор транскрипции *STAT* (signal transducer and activator of transcription).

Нами выявлено гиперметилирование гена *MIR-203a* в 28% образцов злокачественных опухолей яичников ($p = 0.004$) и показана ассоциация гиперметилирования *MIR-203a* с метастазированием РЯ ($p = 0.05$), что усиливает данные об онко-супрессорных свойствах этой микроРНК и выявляет ее анти-метастатические свойства, однако возмож-

ность двойственного поведения miR-203a не исключена и требует дальнейшего исследования.

В этой работе получены данные о связи метилирования 5 генов микроРНК (*MIR-1258*, *-129-2*, *-137*, *-193a*, *-203a*) с метастазированием РЯ. Роль метилирования данных 5 генов микроРНК, по-видимому, заключается в накоплении клетками метастатической активности и стимулировании метастатического процесса. Более того, для этих 5 микроРНК анти-метастатическая функция показана нами впервые на клинических образцах РЯ. Причем о роли двух микроРНК (*MIR-1258* и *MIR-193a*) в метастазировании РЯ другими научными группами сообщений нет, хотя показана ассоциация метилирования *MIR-193a* с наиболее агрессивной формой серозной аденокарциномы яичников и обсуждается целесообразность использования аналогов miR-193a в заместительной терапии РЯ [43].

В данной работе составлен набор из 4 маркеров (*MIR-107*, *-124-3*, *-129-2*, *-193a*), основанный на метилировании ДНК, и, согласно ROC-анализу, позволяющий диагностировать РЯ в образцах биопсии пациенток с высокой клинической чувствительностью 87% и специфичностью 100%, AUC = 0.936. Метилирование 5 генов (*MIR-1258*, *-129-2*, *-137*, *-193a*, *-203a*), ассоциированное с метастазированием, позволило составить набор маркеров для прогноза метастазирования. Согласно ROC-анализу, этот набор маркеров также характеризуется высокой клинической чувствительностью 94% и специфичностью 81%, AUC = 0.892. В соответствии с характеристиками данной системы для прогноза метастазирования РЯ необходимо установление метилирования не менее трех из пяти маркеров данного набора.

К настоящему времени для ряда наиболее распространенных видов рака уже предложены наборы маркеров для диагностики и/или прогноза, например, рака простаты и колоректального рака (AUC = 0.8–0.9) [44, 45]. Для РЯ таких наборов маркеров другими авторами не предложено и пока рассматривается только возможность использования уровня экспрессии микроРНК [11, 46]. Однако анализ метилирования ДНК

легче выполним в условиях лабораторий в клиниках, чем анализ уровня экспрессии микроРНК. Хотя следующий шаг должен включить изучение возможности использования метилирования генов микроРНК в плазме крови больных, чтобы метод диагностики и прогноза стал менее инвазивным.

В заключение отметим, что наши результаты расширяют фундаментальные знания в области

эпигенетической регуляции генов микроРНК, показывают важную роль метилирования генов микроРНК в развитии и прогрессии рака яичников, включая метастазирование, и предлагают новые потенциальные биомаркеры.

Работа выполнена в рамках фундаментальных исследований для государственных академий на 2020 г. (государственного задания № 0520-2020-0030).

ЛИТЕРАТУРА

1. Engelberth S.A., Hempel N., Bergkvist. M. Development of nanoscale approaches for ovarian cancer therapeutics and diagnostics // *Crit Rev Oncog.* 2014; 19(3–4): 281–315. DOI: 10.1615/critrevoncog.2014011455
2. Koshiyama M, Matsumura N, Konishi I. Subtypes of Ovarian Cancer and Ovarian Cancer Screening // *Diagnostics (Basel).* 2017; 7(1): pii: E12. doi: 10.3390/diagnostics7010012.
3. Coward J.I., Middleton K., Murphy F. New perspectives on targeted therapy in ovarian cancer // *Int J Womens Health.* 2015; 7: 189–203. doi: 10.2147/IJWH.S52379.
4. Jones P.A. Functions of DNA methylation: islands, start sites, gene bodies and beyond. // *Nat Rev Genet* 2012; 13: 484–92. doi: 10.1038/nrg3230.
5. Kunej T., Godnic I., Ferdin J., Horvat S., Dove P., Calin G.A. Epigenetic regulation of microRNAs in cancer: an integrated review of literature // *Mutat Res* 2011; 717: 77–84. doi: 10.1016/j.mrfmmm.2011.03.008.
6. Piletic K., Kunej T. MicroRNA epigenetic signatures in human disease // *Arch Toxicol.* 2016. 90, 2405–19. doi: 10.1007/s00204-016-1815-7.
7. Kinose Y., Sawada K., Nakamura K., Kimura T. The role of microRNAs in ovarian cancer // *Biomed Res Int.* 2014; e249393. doi: 10.1155/2014/249393.
8. Chan S.H., Wang L.H. Regulation of cancer metastasis by microRNAs. // *J Biomed Sci.* 2015; 22: e9. doi: 10.1186/s12929-015-0113-7.
9. Брага Э.А., Фридман М.В., Кушлинский Н.Е. Молекулярные механизмы в метастазировании рака яичников: ключевые гены и регуляторные микроРНК // *Биохимия.* — 2017. — 82(5): С. 717–31.
10. Deb B., Uddin A., Chakraborty S. miRNAs and ovarian cancer: An overview // *J Cell Physiol.* 2018; 233(5): 3846–3854. doi: 10.1002/jcp.26095.
11. Staicu C.E., Predescu D.V., Rusu C.M., Radu B.M., Cretoiu D., Suciu N., et al. Role of microRNAs as Clinical Cancer Biomarkers for Ovarian Cancer: A Short Overview // *Cells.* 2020; 9(1). pii: E169. doi: 10.3390/cells9010169.
12. Agustriawan D., Huang C.H., Sheu J.J., Lee S.C., Tsai J.J.P., Kurubanjerdjit N., Ng K.L. DNA methylation-regulated microRNA pathways in ovarian serous cystadenocarcinoma: A meta-analysis // *Comput Biol Chem.* 2016; 65: 154–164. doi: 10.1016/j.compbiolchem.2016.09.016.
13. Schmid G., Notaro S., Reimer D., Abdel-Azim S., Duggan-Peer M., Holly J., et al. Expression and promotor hypermethylation of miR-34a in the various histological subtypes of ovarian cancer // *BMC Cancer.* 2016; 16, e102. doi: 10.1186/s12885-016-2135-2.
14. Deng Y., Zhao F., Hui L., Li X., Zhang D., Lin W., et al. Suppressing miR-199a-3p by promoter methylation contributes to tumor aggressiveness and cisplatin resistance of ovarian cancer through promoting DDR1 expression // *J Ovarian Res.* 2017; 10 (1): e50. doi: 10.1186/s13048-017-0333-4.
15. Kim Y.W., Kim E.Y., Jeon D., Liu J.L., Kim H.S., Choi J.W., Ahn W.S. Differential microRNA expression signatures and cell type-specific association with Taxol resistance in ovarian cancer cells // *Drug Des Devel Ther.* 2014; 8: 293–314. doi: 10.2147/DDDT.S51969.
16. Yuan L., Li S., Zhou Q., Wang D., Zou D., Shu J., Huang Y. MiR-124 inhibits invasion and induces apoptosis of ovarian cancer cells by targeting programmed cell death 6 // *Oncol Lett.* 2017; 14(6): 7311–7317. doi: 10.3892/ol.2017.7157.
17. Bi L., Yang Q., Yuan J., Miao Q., Duan L., Li F., Wang S. MicroRNA-127-3p acts as a tumor suppressor in epithelial ovarian cancer by regulating the BAG5 gene // *Oncol Rep.* 2016; 36(5): 2563–2570. doi: 10.3892/or.2016.5055.

18. Wang J., Ye C., Liu J., Hu Y. UCA1 confers paclitaxel resistance to ovarian cancer through miR-129/ABCB1 axis // *Biochem Biophys Res Commun.* 2018; v501(4): 1034–1040. doi: 10.1016/j.bbrc.2018.05.104.
19. Sun J., Cai X., Yung M.M., Zhou W, Li J., Zhang Y., et al. miR-137 mediates the functional link between c-Myc and EZH2 that regulates cisplatin resistance in ovarian cancer // *Oncogene.* 2019; 38(4): 564–580. doi: 10.1038/s41388-018-0459-x.
20. Nakano H., Yamada Y., Miyazawa T., Yoshida T. Gain-of-function microRNA screens identify miR-193a regulating proliferation and apoptosis in epithelial ovarian cancer cells // *Int J Oncol.* 2013; 42(6): 1875–82. doi: 10.3892/ijo.2013.1896.
21. Liu H.Y., Zhang Y.Y., Zhu B.L., Feng F.Z., Zhang H.T., Yan H., Zhou B. MiR-203a-3p regulates the biological behaviors of ovarian cancer cells through mediating the Akt/GSK-3 β /Snail signaling pathway by targeting ATM // *J Ovarian Res.* 2019; 12(1): e60. doi: 10.1186/s13048-019-0532-2.
22. Kurman R.J., Carcangiu M.L., Herrington C.S., Young R.H. (Eds.): WHO Classification of Tumours of Female Reproductive Organs. 4th edition. Lyon: IARC, 2014. pp. 307.
23. Брага Э.А., Логинов В.И., Пронина И.В., Ходырев Д.С., Рыков С.В., Бурденный А.М., и др. Активация генов *RHOA* и *NKIRAS1* в опухолях легкого ассоциирована с потерей метилирования этих генов и с метилированием генов регуляторных микроРНК // *Биохимия.* — 2015. — 80(4). — С. 568–581.
24. Логинов В.И., Рыков С.В., Фридман М.В., Брага Э.А. Метилирование генов микроРНК и онкогенез // *Биохимия.* — 2015. — 80(2). С. 184–203.
25. Moutinho C., Esteller M. MicroRNAs and Epigenetics // *Adv Cancer Res.* 2017; 135: 189–220. doi: 10.1016/bs.acr.2017.06.003.
26. Береснева Е.В., Рыков С.В., Ходырев Д.С., Пронина И.В., Ермилова В.Д., Казубская Т.П., и др. Профиль метилирования группы генов микроРНК при светлоклеточном почечноклеточном раке; связь с прогрессией рака // *Генетика.* — 2013. — 49(3). — С. 366–375.
27. Рыков С.В., Ходырев Д.С., Пронина И.В., Казубская Т.П., Логинов В.И., Брага Э.А. новые гены микроРНК, подверженные метилированию в опухолях легкого // *Генетика.* — 2013. — 49(7). — С. 896–901.
28. Pronina I.V., Loginov V.I., Burdennyy A.M., Fridman M.V., Senchenko V.N., Kazubskaya T.P., Kushlinskii N.E., et al. 2017. DNA methylation contributes to deregulation of 12 cancer-associated microRNAs and breast cancer progression // *Gene.* 604, 1–8. doi: 10.1016/j.gene.2016.12.018.
29. Cancer Genome Atlas Research. Integrated genomic analyses of ovarian carcinoma // *Nature.* 2011. 474, 609–15. doi: 10.1038/nature10166.
30. Vrba L., Munoz-Rodriguez J.L., Stampfer M.R., Futscher B.W. miRNA gene promoters are frequent targets of aberrant DNA methylation in human breast cancer // *PLoS One.* 2013. 8, e54398. doi: 10.1371/journal.pone.0054398.
31. Baylin S.B., Jones P.A. Epigenetic Determinants of Cancer // *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2016. 8. doi: 10.1101/cshperspect.a019505.
32. Tang Z., Fang Y., Du R. MicroRNA-107 induces cell cycle arrests by directly targeting cyclin E1 in ovarian cancer // *Biochem Biophys Res Commun.* 2019; 512(2): 331–337. doi: 10.1016/j.bbrc.2019.03.009.
33. Yuan L., Li S., Zhou Q., Wang D., Zou D., Shu J., Huang Y. MiR-124 inhibits invasion and induces apoptosis of ovarian cancer cells by targeting programmed cell death 6 // *Oncol Lett.* 2017; 14(6): 7311–7317. doi: 10.3892/ol.2017.7157.
34. Liu W., Zhang L., Wang J., Wang X., Sun H. Analysis of the inhibitory effects of miR-124 and miR-152 on human epithelial ovarian cancer xenografts in a nude mouse model // *Oncol Lett.* 2019; 17(1): 348–354. doi: 10.3892/ol.2018.9612.
35. Liu X., Meng Z., Xing Y., Zhong Q., Zhang X., Qu J. MiR-127 inhibits ovarian cancer migration and invasion by up-regulating ITGA6 // *Minerva Med.* 2019. doi: 10.23736/S0026-4806.19.06237-2.
36. Liu F., Zhao H., Gong L., Yao L., Li Y., Zhang W. MicroRNA-129-3p functions as a tumor suppressor in serous ovarian cancer by targeting BZW1 // *Int J Clin Exp Pathol.* 2018; 11(12): 5901–5908.
37. Chen W., Du J., Li X., Zhi Z., Jiang S. microRNA-137 downregulates MCL1 in ovarian cancer cells and mediates cisplatin-induced apoptosis // *Pharmacogenomics.* 2020; 21(3): 195–207. doi: 10.2217/pgs-2019-0122.
38. Dong P., Xiong Y., Watari H., Hanley S.J., Konno Y., Ihira K., et al. MiR-137 and miR-34a directly target Snail and inhibit EMT, invasion and sphere-forming ability of ovarian cancer cells // *J Exp Clin Cancer Res.* 2016; 35(1): e132. doi: 10.1186/s13046-016-0415-y.
39. Xiaohong Z., Lichun F., Na X., Kejian Z., Xiaolan X., Shaosheng W. MiR-203 promotes the growth and migration of ovarian cancer cells by enhancing glycolytic pathway // *Tumour Biol.* 2016; 37: 14989–14997. doi: 10.1007/s13277-016-5415-1.

40. Zhao G., Guo Y., Chen Z., Wang Y., Yang C., Dudas A., et al. miR-203 Functions as a Tumor Suppressor by Inhibiting Epithelial to Mesenchymal Transition in Ovarian Cancer // *J Cancer Sci Ther.* 2015; 7: 34–43. doi: 10.4172/1948–5956.1000322.
41. Wang B., Li X., Zhao G., Yan H., Dong P., Watari H., et al. miR-203 inhibits ovarian tumor metastasis by targeting BIRC5 and attenuating the TGF β pathway // *J Exp Clin Cancer Res.* 2018; 37(1): e235. doi: 10.1186/s13046–018–0906–0.
42. Liu H.P., Zhang Y., Liu Z.T., Qi H., Zheng X.M., Qi L.H., Wang J.Y. MiR-203 regulates proliferation and apoptosis of ovarian cancer cells by targeting SOCS3 // *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2019; 23(21): 9286–9294. doi: 10.26355/eurrev_201911_19421.
43. Chen K., Liu M.X., Mak C.S., Yung M.M., Leung T.H., Xu D., et al. Methylation-associated silencing of miR-193a-3p promotes ovarian cancer aggressiveness by targeting GRB7 and MAPK/ERK pathways // *Theranostics.* 2018; 8(2): 423–436. doi: 10.7150/thno.22377.
44. Torres-Ferreira J., Ramalho-Carvalho J., Gomez A., Menezes F.D., Freitas R., Oliveira J., et al. MiR-193b promoter methylation accurately detects prostate cancer in urine sediments and miR-34b/c or miR-129-2 promoter methylation define subsets of clinically aggressive tumors // *Mol Cancer.* 2017; 16: e26. doi: 10.1186/s12943–017–0604–0.
45. Toiyama Y., Okugawa Y., Tanaka K., Araki T., Uchida K., Hishida A., et al. A Panel of Methylated MicroRNA Biomarkers for Identifying High-Risk Patients with Ulcerative Colitis-associated Colorectal Cancer // *Gastroenterology.* 2017; 153(6): 1634–1646. e8. doi: 10.1053/j.gastro.2017.08.037.
46. Ren X., Zhang H., Cong H., Wang X., Ni H., Shen X., Ju S. Diagnostic Model of Serum miR-193a-5p, HE4 and CA125 Improves the Diagnostic Efficacy of Epithelium Ovarian Cancer // *Pathol Oncol Res.* 2018; 24(4): 739–744. doi: 10.1007/s12253–018–0392–x.

АВТОРЫ

Брага Элеонора Александровна, доктор биологических наук, профессор, главный научный сотрудник, заведующая лабораторией патогеномики и транскриптомики ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»; Россия, 125315 Москва, ул. Балтийская, д. 8; вед. науч. сотр. лаборатории молекулярной генетики сложно наследуемых заболеваний ФГБНУ «Медико-генетический научный центр им. акад. Н.П. Бочкова»; Россия, 115522 Москва, ул. Москворечье, 1; e-mail: eleonora10_45@mail.ru

Braga Eleonora A., Dr.Sc. (Biol.), professor, Head of the Laboratory of Pathogenomics and Transcriptomics of Federal State Budgetary Scientific Institution «Institute of General Pathology and Pathophysiology», Russia, Moscow, Baltiyskaya street, house 8, and Leading Researcher of molecular genetics of complex inherited diseases Federal State Budgetary Scientific Institution N.P. Bochkov, Research Center of Medical Genetics, Russia; Moscow, Moskvorechie street, house 1, e-mail: eleonora10_45@mail.ru

Логинов Виталий Игоревич, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник, лаборатории патогеномики и транскриптомики ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»; Россия, 125315 Москва, ул. Балтийская, д. 8; старший научный сотрудник лаборатории молекулярной генетики сложно наследуемых заболеваний ФГБНУ «Медико-генетический научный центр им. акад. Н.П. Бочкова»; Россия, 115522 Москва, ул. Москворечье, 1; e-mail: loginov7w@gmail.com

Loginov Vitaly I., candidate of Biol. Sciences, Leading Researcher of laboratory of Pathogenomics and Transcriptomics of Federal State Budgetary Scientific Institution «Institute of General Pathology and Pathophysiology», Russia, Moscow, Baltiyskaya street, house 8, and Senior Researcher of laboratory of molecular genetics of complex inherited diseases Federal State Budgetary Scientific Institution N.P. Bochkov, Research Center of Medical Genetics, Russia; Moscow, Moskvorechie street, house 1, e-mail: werwolf2000@mail.ru, loginov7w@gmail.com

Пронина Ирина Валерьевна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории патогеномики и транскриптомики ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»; Россия, 125315 Москва, ул. Балтийская, д. 8, e-mail: zolly_sten@mail.ru

Pronina Irina V., candidate of Biol. Sciences, Senior Researcher of laboratory of Pathogenomics and Transcriptomics of Federal State Budgetary Scientific Institution «Institute of General Pathology and Pathophysiology», Russia, Moscow, Baltiyskaya street, house 8, e-mail: zolly_sten@mail.ru

Бурдённый Алексей Михайлович, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории патогеномики и транскриптомики ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»; Россия, 125315 Москва, ул. Балтийская, д. 8; e-mail: burdennyu@gmail.com

Burdennyu Aleksey M., candidate of Biol. Sciences, Leading Researcher of laboratory of Pathogenomics and Transcriptomics of Federal State Budgetary Scientific Institution «Institute of General Pathology and Pathophysiology», Russia, Moscow, Baltiyskaya street, house 8, e-mail: burdennyu@gmail.com

Филиппова Елена Александровна, кандидат медицинских наук, младший научный сотрудник, лаборатории патогеномики и транскриптомики ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»; Россия, 125315 Москва, ул. Балтийская, д. 8; e-mail: p.lenyxa@yandex.ru

Filippova Elena A., candidate of Med. Sciences, junior Research Assistant of laboratory of Pathogenomics and Transcriptomics of Federal State Budgetary Scientific Institution «Institute of General Pathology and Pathophysiology», Russia, Moscow, Baltiyskaya street, house 8, e-mail: p.lenyxa@yandex.ru

Лукина Светлана Сергеевна, старший лаборант лаборатории патогеномики и транскриптомики ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»; Россия, 125315 Москва, ул. Балтийская, д. 8; студент 5 курса, ФГАОУ ВО, Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава РФ, 119991, Москва, ул. Трубецкая, д. 8. e-mail: sveta_sergeevna349@mail.ru

Lukina Svetlana S., senior Assistant of laboratory of Pathogenomics and Transcriptomics of Federal State Budgetary Scientific Institution «Institute of General Pathology and Pathophysiology», Russia, Moscow, Baltiyskaya street, house 8, and student of Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education I.M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow, Trubetskaya street, house 8, bldg. 2, e-mail: sveta_sergeevna349@mail.ru

Иванова Наталья Анатольевна, младший научный сотрудник лаборатории патогеномики и транскриптомики ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»; Россия, 125315 Москва, ул. Балтийская, д. 8; e-mail: nata-i@list.ru

Ivanova Natalia A., junior Research Assistant of laboratory of Pathogenomics and Transcriptomics of Federal State Budgetary Scientific Institution «Institute of General Pathology and Pathophysiology», Russia, Moscow, Baltiyskaya street, house 8, e-mail: nata-i@list.ru

Смирнова Александра Васильевна, студент 5 курса ФГАОУ ВО, Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава РФ, 119991, Москва, ул. Трубецкая, д. 8, e-mail: sasha11-14@yandex.ru

Smirnova Aleksandra V., student of Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education I.M., Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow, Trubetskaya street, house 8, bldg. 2, e-mail: sasha11-14@yandex.ru

Ходырев Дмитрий Сергеевич, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории генетики Федерального научно-клинического центра специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий ФМБА России, Москва, РФ; 115682, Москва, Ореховый бульвар д. 28; e-mail: dmkh8@mail.ru

Khodyrev Dmitry S., candidate of Biological Sciences, Senior Researcher of genetics laboratory of Federal Research Clinical Center of Specialized Types of Medical Care and Medical Technologies, Federal Medico-Biological Agency of Russia, Moscow, Orekhovy Blvd., 28, e-mail: dmkh8@mail.ru

Уткин Дмитрий Олегович, врач-хирург, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России; Россия, 115478 Москва, Каширское шоссе, 24; e-mail: kne3108@gmail.com

Utkin Dmitry O., surgery of Federal State Budgetary Institution «N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow; Kashirskoe schosse, 24, e-mail: kne3108@gmail.com

Казубская Татьяна Павловна, доктор медицинских наук, врач-онкогенетик, старший научный сотрудник лаборатории клинической онкогенетики ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России; Россия, 115478 Москва, Каширское шоссе, 24; e-mail: oncogen5@ronc.ru

Kazubskaya Tatyana P., doc. Sci., Senior Researcher of laboratory clinical Genetic of Federal State Budgetary Institution «N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow; Kashirskoe schosse, 24 e-mail: oncogen5@ronc.ru

Кушлинский Николай Евгеньевич, доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, заведующий лабораторией клинической биохимии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России; Россия, 115478 Москва, Каширское шоссе, 24; e-mail: kne3108@gmail.com

Kushlinskii Nikilay E., doc. Sci., professor, Academician of the Academy of Sciences, Head of the Laboratory of Clinical Biochemistry of Federal State Budgetary Institution «N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow; Kashirskoe schosse, 24 e-mail: kne3108@gmail.com