

## References (Литература)

1. Alekseev AA, Tyurnikov Yul. The main statistical indicators of work of burn hospitals of the Russian Federation for 2009. In: III congress of combustiologists of Russia. Moscow, 2010; p. 4–6. Russian (Алексеев А.А., Тюрников Ю.И. Основные статистические показатели работы ожоговых стационаров Российской Федерации за 2009 год. В кн.: III съезд комбустиологов России: сб. тез. М., 2010; с. 4–6).
2. Alekseev AA, Bobrovnikov AE, Krutikov MG, et al. Local conservative treatment of wounds at the stages of assistance to victims of burns: Clinical recommendations. Moscow, 2014; 22 p. Russian (Алексеев А.А., Бобровников А.Э., Крутиков М.Г. и др. Местное консервативное лечение ран на этапах оказания помощи пострадавшим от ожогов: клинические рекомендации/Общероссийская общественная организация «Объединение комбустиологов «Мир без ожогов». М., 2014; 22 с.).
3. Bobrovnikov AE. Technology of local conservative treatment of burned: DSc diss. Moscow, 2012; 312 p. Russian (Бобровников А.Э. Технологии местного консервативного лечения обожженных: дис. ... д-ра мед. наук. М., 2012; 312 с.).
4. Hoogewerf CJ, Van Baar ME, Hop MJ, et al. Topical treatment for facial burns. In: Cochrane Database of Systematic Reviews. New Jersey: Copyright © 2013, Published by John Wiley & Sons, Ltd, 2013; 48 p. DOI: 10.1002/14651858.cd008058.pub2.
5. European Practice Guidelines for Burn Care (Minimum Level of Burn Care Provision in Europe). Edited Brychta P, Magnette A. with contribution of other members of the Executive Committee and PAM Committee of European Burns Association (EBA), Netherlands, 2011.
6. Evteev AA, Tyurnikov Yul, Maluyutina NB, et al. Traditions and new in the use of local treatment in patients with deep burns. Electronic scientific and practical journal Combustiology. URL: <http://combustiology.ru/journal/traditsii-i-novoe-v-ispol-zovaniisredstv-mestnogo-lecheniya-u-bol-ny-h-s-glubokimi-ozhogami/>. (2006; 26) Russian (Евтеев А.А., Тюрников Ю.И., Малюти-
- на Н.Б. и др. Традиции и новое в использовании средств местного лечения у больных с глубокими ожогами. Электронный научно-практический журнал Комбустиология. URL: <http://combustiology.ru/journal/traditsii-i-novoe-v-ispol-zovaniisredstv-mestnogo-lecheniya-u-bol-ny-h-s-glubokimi-ozhogami/>. (2006; 26).
7. Liu L, Yu Y, Hou Y, et al. Human umbilical cord mesenchymal stem cells transplantation promotes cutaneous wound healing of severe burned rats. PLoS One 2014; 20 (2): e88348.
8. Liu X, Zhang G, Hou C, et al. Vascularized bone tissue formation induced by fiber-reinforced scaffolds cultured with osteoblasts and endothelial cells. Biomed Res Int 2013; 2013: 854917.
9. Venugopal SS, Yan W, Frew JW, et al. A phase II randomized vehicle-controlled trial of intradermal allogeneic fibroblasts for recessive dystrophic epidermolysisbullosa. J Am Acad Dermatol 2013; 69 (6): 898–908.
10. Shved luA, Kukhareva LV, et al. Cultured skin cells interaction with polylactide surface coated by different collagen structures. Tsitologiya 2007; 49 (1): 32–9.
11. Wille JJ, Burdige JJ, Pittelkow MR. Rapid healing of chronic venous stasis leg ulcers treated by the application of a novel serum-free cultured autologous epidermis. Wound Repair Regen 2011 Jul-Aug; 19 (4): 464–74.
12. Feisst V, Meidinger S, Locke MB. From bench to bedside: use of human adipose-derived stem cells. Stem Cells Cloning 2015; 2 (8): 149–62.
13. Atalay S, Coruh A, Deniz K. Stromal vascular fraction improves deep partial thickness burn wound healing. Burns 2014; 40 (7): 1375–83. DOI: 10.1016/j.burns.2014.01.023.
14. Guo J, Nguyen A, Banyard DA, et al. Stromal vascular fraction: A regenerative reality? Part 2: Mechanisms of regenerative action. Journal of Plastic, Reconstructive & Aesthetic Surgery 2016; 69 (2): 180–8. DOI: 10.1016/j.bjps.2015.10.014.

УДК 577.218

Оригинальная статья

## СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ДЛИННЫХ НЕКОДИРУЮЩИХ РНК NEAT1, MALAT1, GAS5, ROR, HOTAIR В КРОВИ БОЛЬНЫХ РАКОМ ПРОСТАТЫ ДО И ПОСЛЕ ЛУЧЕВОЙ ТЕРАПИИ

**Л. В. Шуленина** — ФГБУ «Государственный научный центр Российской Федерации — Федеральный медицинский биофизический центр им. А. И. Бурназяна» ФМБА России, старший научный сотрудник лаборатории молекулярной биологии и генетики радиационных эффектов, кандидат биологических наук; **В. Ф. Михайлов** — ФГБУ «Государственный научный центр Российской Федерации — Федеральный медицинский биофизический центр им. А. И. Бурназяна» ФМБА России, заведующий лабораторией, кандидат биологических наук; **М. В. Незнанова** — ФГБУ «Государственный научный центр Российской Федерации — Федеральный медицинский биофизический центр им. А. И. Бурназяна» ФМБА России, младший научный сотрудник лаборатории молекулярной биологии и генетики радиационных эффектов; **Д. В. Салеева** — ФГБУ «Государственный научный центр Российской Федерации — Федеральный медицинский биофизический центр им. А. И. Бурназяна» ФМБА России, младший научный сотрудник лаборатории молекулярной биологии и генетики радиационных эффектов; **Г. Д. Засухина** — ФГБУН «Институт общей генетики им. Н. И. Вавилова» РАН, главный научный сотрудник отдела экологической генетики, доктор медицинских наук.

## COMPARATIVE ANALYSIS OF LONG NONCODING RNA NEAT1, MALAT1, GAS5, ROR, HOTAIR IN THE BLOOD OF PROSTATE CANCER PATIENTS BEFORE AND AFTER RADIOTHERAPY

**L. V. Shulenina** — State Research Center — Burnasyan Federal Medical Biophysical Center of Federal Medical Biological Agency, Senior Researcher of Laboratory of Molecular Biology and Genetics of Radiation Effects, PhD; **V. F. Mikhailov** — State Research Center — Burnasyan Federal Medical Biophysical Center of Federal Medical Biological Agency, Head of the laboratory, PhD; **M. V. Neznanova** — State Research Center — Burnasyan Federal Medical Biophysical Center of Federal Medical Biological Agency, Junior Scientist of Laboratory of Molecular Biology and Genetics of Radiation Effects; **D. V. Saleeva** — State Research Center — Burnasyan Federal Medical Biophysical Center of Federal Medical Biological Agency, Junior Scientist of Laboratory of Molecular Biology and Genetics of Radiation Effects; **G. D. Zasukhina** — The Vavilov Institute of General Genetics of Russian Academy of Sciences, Chief Researcher of Department of Environmental Genetics, DSc.

Дата поступления — 25.07.19 г.

Дата принятия в печать — 05.12.2019 г.

**Шуленина Л. В., Михайлов В. Ф., Незнанова М. В., Салеева Д. В., Засухина Г. Д.** Сравнительный анализ длинных некодирующих РНК NEAT1, MALAT1, GAS5, ROR, HOTAIR в крови больных раком простаты до и после лучевой терапии. Саратовский научно-медицинский журнал 2019; 15 (4): 1004–1008.

**Цель:** исследовать содержание в периферической крови пациентов с раком простаты длинных некодирующих РНК, отрицательно регулирующих активность онкосупрессора P53. **Материал и методы.** Объектом исследования явилась венозная кровь пациентов с диагнозом «рак простаты» (от T1N0M0 до T3N0M0), собранная

до и после проведения полного курса лучевой терапии. С помощью метода ПЦР в реальном времени, совмещенной с обратной транскрипцией и специфическими праймерами, определялось содержание длинных некодирующих РНК NEAT1, MALAT1, GAS5, RoR, HOTAIR в крови онкобольных. Данные представлены как медиана и квартили относительно медианы показателей контрольной группы здоровых доноров, условно принятой за 1. Статистическая обработка результатов проводилась с использованием непараметрического критерия Манна — Уитни. **Результаты.** Обнаружено увеличение содержания NEAT1, MALAT1, GAS5, HOTAIR в крови у больных раком простаты по сравнению с группой «Доноры». Выявлено, что проведение курса лучевой терапии не влияло на величину исследуемых показателей. **Заключение.** Анализ полученных данных и литературного материала позволяет полагать, что в крови у больных раком простаты уровни NEAT1, MALAT1 и HOTAIR отражают их количество в клетках опухоли. NEAT1, MALAT1, GAS5 и HOTAIR могут быть потенциальными маркерами для диагностики и лечения рака.

**Ключевые слова:** рак простаты, кровь, днРНК.

**Shulenina LV, Mikhailov VF, Neznanova MV, Saleeva DV, Zasukhina GD. Comparative analysis of long noncoding RNA NEAT1, MALAT1, GAS5, RoR, HOTAIR in the blood of prostate cancer patients before and after radiotherapy. Saratov Journal of Medical Scientific Research 2019; 15 (4): 1004–1008.**

**Purpose:** to study the content of long non-coding RNA regulating the activity of the tumor suppressor P53 in the peripheral blood of prostate cancer patients negatively. **Material and Methods.** The object of study was venous blood of patients diagnosed with prostate cancer (from T1N0M0 to T3N0M0 stages), collected before and after the full course of radiotherapy. The content of long noncoding RNA NEAT1, MALAT1, GAS5, RoR, HOTAIR in the blood of cancer patients was determined using the real-time PCR method combined with reverse transcription and specific primers. The data are presented as the median and quartiles relative to the median of indicators of the control group healthy donors, conditionally taken as 1. Statistical processing of the results was carried out using the non-parametric Mann — Whitney test. **Results.** An increase of the content of NEAT1, MALAT1, GAS5, HOTAIR in the blood of prostate cancer patients in comparison with the group donors was found. It was revealed that the course of radiotherapy did not affect the magnitude of the indicators we studied. **Conclusion.** Analysis of data and reference literature suggests that NEAT1, MALAT1 and HOTAIR levels in the blood of prostate cancer patients reflect their levels in tumor cells. NEAT1, MALAT1, GAS5 and HOTAIR can be potential markers for cancer diagnosis and treatment.

**Key words:** prostate cancer, blood, long non-coding RNA.

**Введение.** Рак простаты (рак предстательной железы — РПЖ) является гетерогенным злокачественным новообразованием, которое может протекать как безболезненно, так и агрессивно, приводя к летальному исходу. По статистическим данным, в США в 2018 г. из-за агрессивных форм РПЖ погибло 29 тыс. мужчин [1]. Такие сведения требуют персонализированного подхода к диагностике, прогнозированию и лечению пациентов. В настоящее время ведется активный поиск опухолевых маркеров для оказания своевременной медицинской помощи. Длинные некодирующие РНК (днРНК) представляют собой молекулы РНК, транскрибируемые РНК-полимеразой II, которые не кодируют белки и имеют длину более 200 нуклеотидов [2]. Они играют важную роль во многих связанных с раком биологических процессах, начиная от регуляции клеточной пролиферации и заканчивая метастазированием [3], и являются специфичными для определенных видов тканей [4]. Функции днРНК определяются их субклеточной локализацией, многие из них могут модулировать экспрессию генов, привлекая хроматин-модифицирующие белки к специфическим сайтам в геноме [5], некоторые опосредуют свое действие через взаимодействия днРНК-микроРНК/ДНК либо через белок-днРНК [6]. Например, днРНК NEAT1 формирует ядерные параспеклы (paraspeckles), осуществляющие секвестрацию гиперредуцированных РНК и удержания их в ядре, тем самым предотвращая экспорт беспорядочно отредактированной мРНК в цитоплазму и ее дальнейшую трансляцию. GAS5 представляет собой днРНК, которая сплайсируется, полиаденилируется и проявляет свою биологическую активность через интроны, кодирующие 10 малых ядрышковых РНК, участвующих в биосинтезе рибосомальной РНК. Местоположение днРНК RoR в геноме является сайтом связывания для транскрипционных факторов плюрипотентности (TFs), таких как Oct4, Sox2 и Nanog,

отвечающих за самообновление и дифференцировку эмбриональных стволовых клеток. HOTAIR, связываясь своим 5' — концом с PRC2 и 3' — концом с LSD1 и образуя мостик, координирует их работу и направляет к генам-мишеням для последующего метилирования гистона H3 по остатку лизина в 27-м положении и деметилирования гистона H3 по остатку лизина в 4-м положении соответственно. Показано, что днРНК MALAT1 косвенно контролирует альтернативный сплайсинг, изменяя распределение регуляторов сплайсинга в ядерных спеклах, может функционировать как молекулярный каркас для взаимодействия между метилированным Pс<sup>2</sup>, фактором транскрипции E2F, гистонами и комплексом транскрипционных коактиваторов [7], а кроме этого, может снимать ингибирующее действие микроРНК на мРНК, вступая с микроРНК в реципрокные взаимодействия. Гиперэкспрессия перечисленных днРНК приводит к ингибированию активности онкосупрессора P53, инактивация которого является важной для сохранения жизнедеятельности раковых клеток.

В настоящее время интенсивно исследуются длинные некодирующие РНК в образцах тканей больных РПЖ, играющие существенную роль в прогрессии и метастазировании рака, с целью выявления новых терапевтических мишеней, а также изучается содержание днРНК в биологических жидкостях больного (крови, слюне и моче). Однако пока остается непонятным, на каком аналитическом и клиническом уровне находятся биомаркеры днРНК при РПЖ. В связи с этим целью нашей работы было исследование методом ПЦР в реальном времени содержания в периферической крови пациентов с РПЖ днРНК, отрицательно регулирующих активность онкосупрессора P53.

**Цель:** исследовать содержание в периферической крови пациентов с раком простаты длинных некодирующих РНК, отрицательно регулирующих активность онкосупрессора P53.

**Материал и методы.** Объектом исследования явились образцы венозной крови 32 мужчин, имею-

**Ответственный автор** — Шуленина Лилия Викторовна  
Тел.: +7 (916) 4359320  
E-mail: shulenina2010@mail.ru

щих в анамнезе РПЖ с классификацией от T1N0M0 до T3N0M0, которым была оказана дистанционная  $\gamma$ -терапия (источник радионуклид  $^{60}\text{Co}$ , аппарат «РОКУС»).

В группы сравнения включены образцы крови пациентов с диагнозом РПЖ до и после курса лучевой терапии (ЛТ), а также крови здоровых доноров (группа «Доноры», согласно данным медицинского обследования рассматриваемая нами как контрольная), в количестве 19 человек.

Исследование выполнено в соответствии со стандартами надлежущей клинической практики (Good Clinical Practice) и принципами Хельсинкской Декларации.

Выделение общей РНК, включая длинные некодирующие РНК, проводили с использованием набора Trizol RNA Prep 100 (ООО «Лаборатория Изоген», Россия) по протоколу фирмы-производителя. Полученный осадок РНК был растворен в 50 мкл Экстрагена Е и заморожен при  $-70^\circ\text{C}$  до последующего использования. Для выражения количества выделенной РНК использованы единицы массовой концентрации.

Обратную транскрипцию проводили на матрице РНК в объеме 20 мкл с использованием набора GenePak RT Core (ООО «Лаборатория Изоген», Россия) по протоколу фирмы-производителя со случайными гекса- и нанонуклеотидными праймерами, позволяющими синтезировать большие количества одноцепочечной кДНК, в том числе и на матрице неполиаденилированной РНК. Полученную кДНК хранили при  $-70^\circ\text{C}$  до последующего использования.

ПЦР в реальном времени кДНК проводили на приборе DT prime 5M3 (НПО «ДНК-Технология», Россия) в присутствии интеркалирующего красителя SYBR Green I (Thermo Scientific Maxima SYBR Green/ROX qPCR Master Mix (2X) (ООО «ДНК-синтез», Россия) или TaqMan-зонда (ООО «ДНК-синтез») со специфическими праймерами для днРНК NEAT1, MALAT1,

GAS5, RoR, HOTAIR (ООО «ДНК-Синтез»), олигонуклеотидная последовательность которых была заимствована из оригинальных работ и представлена в таблице. Данные праймеры имеют все необходимые характеристики для эффективной ПЦР, в том числе и длину 20–25 пар нуклеотидов, за исключением праймеров к днРНК NEAT1 (длина прямого F- и обратного R-праймеров составляет 27 пар нуклеотидов). Эта особенность в дальнейшем учтена при отработке концентрационных и температурных условий амплификации днРНК NEAT1 (таблица).

Отсутствие ингибирования ПЦР продуктами выделения РНК, а также выбор вносимого в пробирку объема матрицы для ПЦР контролировались методом последовательных разведений матриц (неразведенная, разведенная в 5 раз, в 25 раз, в 125 раз, в 625 раз).

Для оценки контаминации исследуемых проб, а также наличия димеров праймеров с помощью программного обеспечения DT prime 5M3 построены кривые плавления кДНК с инкорпорированным красителем SYBR Green I после окончания ПЦР.

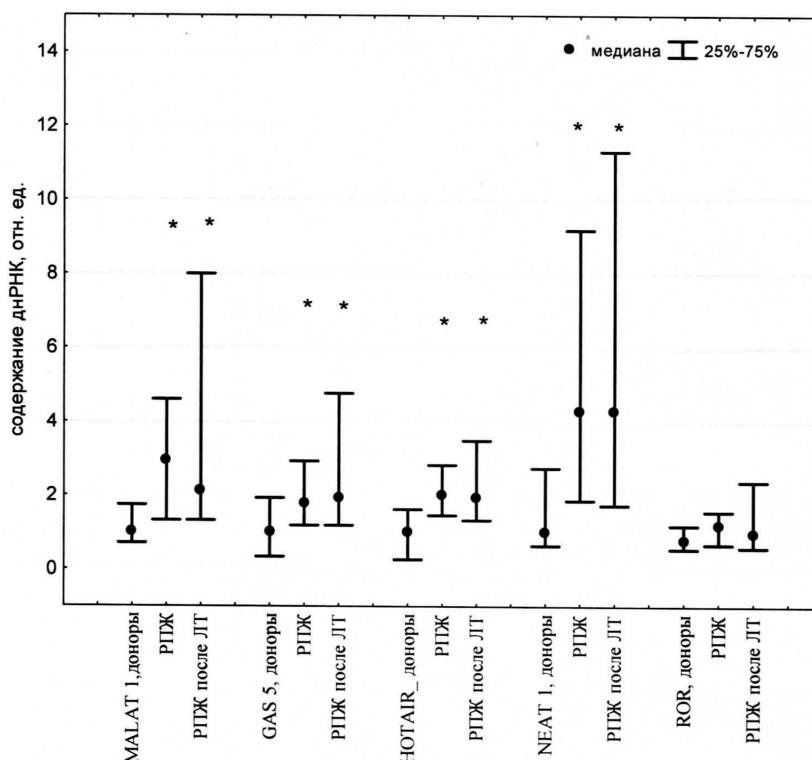
Полученные данные ПЦР анализировали с использованием метода определения порогового цикла амплификации  $\Delta\Delta C_t$ , где  $C_t$  — пороговый цикл флуоресценции. В качестве нормировочного гена использован ген ghr (ген рецептора гормона роста человека для нормировки по ДНК). Каждая ПЦР проводилась не менее двух раз.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием программы Statistica 7.0 методом непараметрической статистики (критерий Манна-Уитни), где количественные показатели в исследуемых группах выражались в виде медианы и квартилей (25%–75%). Значения медианы в контрольной группе «Доноры» условно приняты за 1.

**Результаты.** Методом ПЦР в реальном времени в крови больных РПЖ до и после лучевой терапии (ЛТ) обнаружены изменения содержания днРНК MALAT1, GAS5, HOTAIR, RoR и NEAT1 (рисунок).

#### Олигонуклеотидная последовательность праймеров и зондов, а также условия ПЦР в реальном времени

Название	Праймеры (прямой F и обратный R) и зонды для ПЦР и их конечная концентрация (нМ)	Условия ПЦР в реальном времени
кДНК NEAT1	F-5'-CTTCCTCCCTTAACTTATCCATTCAC-3/(100) R-5'-CTCTTCCTCCACCATTACCAACAATAC-3/(100)	Активация UDG (0,02 ед/мкл): 50°C/2мин; предварительная денатурация: 95°C/10 мин; далее 40 циклов: 95°C/15 с, 60°C/20 с
кДНК MALAT1	F-5'-GCAGTATTGCATGTTAGG-3/(500) R-5'-CCTCTGAGTGAAGTGTACTATC-3/(500)	Предварительная денатурация: 95°C/10 мин; далее 45 циклов: 94°C/10 с, 65°C/20 с (с температурным инкрементом до 55°C) и 72°C/30 с
кДНК RoR	F-5'-CTCAGTGGGGAAGACTCCAG-3/(200) R-5'-AGGAAGCCTGAGAGTTGGC-3/(200)	Предварительная денатурация: 94°C/10 мин; далее 45 циклов: 95°C/15 с, 60°C/15 с
кДНК GAS5	F-5'-TGAAGTCCTAAAGAGCAAGCC-3/(200) R-5'-ACCAGGAGCAGAACCATTAAG-3/(200)	Предварительная денатурация: 94°C/10 мин; далее 45 циклов: 95°C/15 с, 60°C/15 с
кДНК HOTAIR	F-5'-GGCGGATGCAAGTTAATAAAAC-3/(500) R-5'-TACGCCTGAGTGTTCACGGAG-3/(500)	Предварительная денатурация: 95°C/10 мин; далее 45 циклов: 94°C/10 с, 65°C/20 с (с температурным инкрементом до 55°C) и 72°C/30 с
ДНК ghr	F-5'-CATCCCATCATTGAGTGTGGAGTGGAG-3/(350) R-5'-CTGGGGATCAGGTGTTTATGGACCA-3/(350) Зонд TaqMan- (BHQ1) — 5' — CCTTCTGCCTGGCTTGTCTTTCCC-3' — (FAM) (100)	Предварительная денатурация: 80°C/30 с, 94°C/1 мин; далее 50 циклов: 94°C/10 с, 64°C/20 с



Содержание днРНК NEAT1, MALAT1, GAS5, RoR, HOTAIR в периферической крови пациентов с РПЖ до и после проведения курса лучевой терапии:

\* — отличия статистически значимы по сравнению с группой «Доноры» ( $p < 0,05$ )

У пациентов с РПЖ наблюдается статистически значимое увеличение содержания днРНК MALAT1, GAS5, HOTAIR и NEAT1 по сравнению с контрольной группой «Доноры», условно принятой за 1 ( $p < 0,05$ ). Медиана содержания днРНК MALAT1 до ЛТ составляет 2,93 (1,32–4,59) отн. ед., GAS5–1,8 (1,19–2,83) отн. ед., HOTAIR — 2,0 (1,46–2,83) отн. ед., NEAT1–4,29 (1,87–9,19) отн. ед. После проведения курса ЛТ значение этих показателей остается на более высоком уровне, чем в группе «Доноры», однако статистически значимых отличий как между группой «РПЖ» и «Доноры», так и между «РПЖ» и «РПЖ после ЛТ» не наблюдается.

Медиана содержания днРНК RoR в группе «РПЖ» и «РПЖ после ЛТ» не отличается от группы «Доноры» и составляет 1,19 (0,68–1,57) и 0,97 (0,59–2,38) отн. ед. соответственно.

**Обсуждение.** Для успешного лечения онкологических заболеваний важны профилактические мероприятия и как можно более ранняя диагностика опухолей. В связи с этим поиск биомаркеров рака в биологических жидкостях организма привлекает внимание, поскольку он является минимально инвазивным, а кроме того, отражает системный ответ организма на развитие опухоли. В последние годы пристальное внимание уделяется РНК-соединениям. Этот интерес обусловлен открытием регуляторных РНК, которые модифицируют экспрессию белоккодирующих генов, как на транскрипционном, так и посттранскрипционном уровне. Интенсивно изучались микроРНК, которые, включаясь в РНК-индуцируемый комплекс, взаимодействуют с микроРНК-рецептивным элементом, находящимся на мРНК в области 3'UTR-региона, предотвращают рибосомальный синтез и таким образом модулируют экспрессию генов-мишеней. Серьезным препятствием для применения

этих соединений в медицинской практике явилось, как показывает биоинформационный анализ, наличие многочисленных потенциальных генов-мишеней практически для большинства микроРНК. При этом выбор активных для каждой микроРНК генов-мишеней зависит от типа клеток, их функционального состояния и т.д., что затрудняло оценку очагов поражения в организме по изучению содержания этих веществ в биологических жидкостях.

Установлено, что изучение днРНК имеет большие перспективы их использования в качестве маркеров онкологических заболеваний. Эти РНК-соединения привлекли значительное внимание исследователей из-за их роли в генетической регуляции (включая эпигенетическую, транскрипционную и посттранскрипционную регуляцию) участия в онкогенезе [8].

Обнаруживаемые в периферической крови днРНК могут находиться как в циркулирующих клетках крови, так и в экзосомах — наноразмерных мембранных везикулах, секретлируемых различными клетками, включая опухолевые. Таким образом, изменения содержания днРНК в крови могут быть не только связаны с изменением их экспрессии в клетках крови, но и иметь экзосомальное происхождение. В настоящее время формируется база данных по содержанию РНК-продуктов в этих экзосомах [9]. В ней собраны сведения по 15501 днРНК. Из обследованных нами днРНК в базу данных входит лишь днРНК RoR. По данным базы установлено, что содержание днРНК RoR в экзосомах здоровых доноров колеблется от 0 до 8,4 отн. ед., а у больных раком поджелудочной железы от 0 до 19,3 отн. ед., причем частота обнаружения этой днРНК составляет 0,47. Таким образом, примерно у каждого второго обследованного в крови не обнаруживается экзосом, содержащих днРНК RoR. В нашем эксперименте данные по содержанию

RoR в крови у больных РПЖ не отличались от величин, наблюдаемых в группе «Доноры». Лучевая терапия также не оказывала эффект на величины этой днРНК.

Известно, что одним из мишеней транскрипционного фактора P53 является ген для днРНК RoR, однако увеличение содержания RoR, вызываемое действием P53 на промотор гена, синтезирующего эту днРНК, ингибирует экспрессию P53. Таким образом, P53 и днРНК RoR образуют между собой отрицательную обратную петлю, подобную петле между белком Mdm2 и P53, днРНК NEAT1 и P53, днРНК MALAT1 и P53, когда увеличение содержания транскрипционного фактора P53 приводит к усилению экспрессии его ингибиторов, что снижает активность P53. Представленные нами данные показывают, что изменений функционирования отрицательной обратной петли между P53 и днРНК RoR в крови у пациентов с РПЖ не выявлено. В то же время содержание днРНК MALAT1 и днРНК NEAT1 увеличивается. Высокий уровень содержания онкогенных днРНК MALAT1 и NEAT1 может быть связан как с усилением их экспрессии в клетках крови, так и с выбросом опухолевыми клетками экзосом, содержащих эти днРНК, поскольку установлено, что в трансформированных клетках простаты наблюдается высокий уровень этих регуляторных РНК. Так, у 82,5% пациентов с РПЖ обнаруживается гиперэкспрессия днРНК MALAT1 в опухолевой ткани [10]. Такой же высокий уровень этой днРНК отмечен в плазме крови и моче пациентов с РПЖ. Курс ЛТ также не снижал уровень днРНК MALAT1 и NEAT1 в периферической крови.

В настоящее время показано участие днРНК GAS5 в регуляции программ пролиферации и остановки клеточного цикла. Во многих злокачественных опухолях наблюдается снижение уровня днРНК GAS5, который проявляет функции онкосупрессора [11]. Для раскрытия механизмов выявленного нами увеличения содержания днРНК GAS5 в периферической крови пациентов с РПЖ необходимо проведение дальнейших исследований. Наконец, обнаруженный нами высокий уровень содержания днРНК HOTAIR в крови у пациентов с РПЖ был ожидаем, поскольку высокий уровень этого показателя в сыворотке крови больных плоскоклеточным раком гортани уже предлагался другими авторами в качестве прогностического маркера [12]. Установлено, что во многих опухолях наблюдается увеличение экспрессии днРНК HOTAIR. Показано, что возрастание содержания этой днРНК приводит к ингибированию P53, а высокая активность P53 снижает уровень HOTAIR [13].

В работах, посвященных исследованиям экзосом, сообщается, что выбрасываемые в биологические жидкости раковыми клетками экзосомы содержат днРНК. В связи с этим мы оценили содержание днРНК, ингибирующих активность P53 в периферической крови пациентов с РПЖ. Установлено увеличение днРНК, подавляющих функциональную активность P53, в периферической крови пациентов с РПЖ, что свидетельствует о необходимости дальнейших исследований в этом направлении.

С нашей точки зрения, необходимо выяснить: каков точный источник появления в периферической крови высоких значений содержания днРНК у пациентов с РПЖ; каков вклад экзосом, выделяемых опу-

холями в этот эффект; какова роль системы крови, отвечающей за иммунный ответ?

**Заключение.** Выявлено увеличение содержания днРНК NEAT1, MALAT1 и HOTAIR в периферической крови пациентов с РПЖ. Анализ полученных данных и литературного материала позволяет заключить следующее:

1. У больных РПЖ уровень днРНК NEAT1, MALAT1 и HOTAIR в периферической крови отражает их количество в клетках опухоли.

2. В клетках опухоли высокое содержание этих днРНК может вызывать снижение уровня P53 с помощью петли обратной связи между днРНК NEAT1, MALAT1 и HOTAIR и онкосупрессором P53, что приводит к защите онкотрансформированных клеток с поврежденным геномом от гибели и сохранению высокого пролиферативного потенциала.

3. Длинные некодирующие РНК NEAT1, MALAT1, GAS5 и HOTAIR могут быть потенциальными мишенями для диагностики и лечения рака.

**Конфликт интересов** не заявляется.

**Авторский вклад:** концепция и дизайн исследования, анализи и интерпретация результатов — Л.В. Шульгина, В.Ф. Михайлов, Г.Д. Засухина; получение и обработка данных — Л.В. Шульгина, М.В. Незнанова, Д.В. Салеева, В.Ф. Михайлов; написание статьи — Л.В. Шульгина, В.Ф. Михайлов; утверждение рукописи для публикации — В.Ф. Михайлов.

## References (Литература)

1. Cancer Stat Facts: Prostate Cancer. URL: <https://seer.cancer.gov/statfacts/html/prost.html>, 2017.
2. Volders P-J, Helsens K, Wang X, et al. LNCipedia: a database for annotated human lncRNA transcript sequences and structures. *Nucleic Acids Res* 2013; 41: D246–51.
3. Schmitt AM, Chang HY. Long noncoding RNAs in cancer pathways. *Canc Cell* 2016; 29: 452–63.
4. Iyer MK, Niknafs YS, Malik R, et al. The landscape of long noncoding RNAs in the human transcriptome. *Nat. Genet* 2015; 47: 199–208.
5. Mercer TR, Mattick JS. Structure and function of long noncoding RNAs in epigenetic regulation. *Nat Struct Mol Biol* 2013; 20: 300–7.
6. Jalali S, Bhartiya D, Lalwani MK, et al. Systematic transcriptome wide analysis of lncRNA-miRNA interactions. *PLoS One* 2013; 8: e53823.
7. Yang L, Lin C, Liu W, et al. ncRNA- and Pc<sup>2</sup> methylation-dependent gene relocation between nuclear structures mediates gene activation programs. *Cell* 2011; 147 (4): 773–88.
8. Oliveira JC de, Oliveira LC, Mathias C, et al. LncRNAs in Cancer: another layer of complexity. *J Gene Med* 2018; 14: e3065.
9. Shengli Li, Yuchen Li, Bing Chen, et al. ExoRBase: a database of circRNA, lncRNA and mRNA in human blood exosomes. *Nucleic Acids Research* 2018; 46: D106–12.
10. Ren S, Peng Z, Mao J-H, et al. RNA-seq analysis of prostate cancer in the Chinese population identifies recurrent gene fusions, cancer-associated long noncoding RNAs and aberrant alternative splicings. *Cell Res* 2012; 22: 806–21.
11. Liu Y, Zhao J, Zhang W, Gan J, et al. lncRNA GAS5 enhances G1 cell cycle arrest via binding to YBX1 to regulate p21 expression in stomach cancer. *Sci Rep* 2015; 5: 10159.
12. Wang J, Zhou Y, Lu J, et al. Combined detection of serum exosomal miR-21 and HOTAIR as diagnostic and prognostic biomarkers for laryngeal squamous cell carcinoma. *Med Oncol* 2014; 31 (9):148.
13. Zhai N, Xia Y, Yin R. et al. A negative regulation loop of long noncoding RNA HOTAIR and p53 in non-small-cell lung cancer. *Onco Targets Ther* 2016; 16; 9: 5713–20.