ОБЗОРЫ REVIEWS

https://doi.org/10.17816/mechnikov20191135-12

МикроРНК КАК ПЕРСПЕКТИВНЫЕ БИОМАРКЕРЫ ПРИ РАКЕ

A.A. Тармаев¹, О.А. Бейлерли²

1 Харбинский медицинский университет, Харбин, провинция Хэйлунцзян, Китай;

Для цитирования: Тармаев А.А., Бейлерли О.А. МикроРНК как перспективные биомаркеры при раке // Вестник Северо-Западного государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова. – 2019. – Т. 11. – № 3. – С. 5–12. https://doi.org/10.17816/mechnikov20191135-12

Поступила: 18.06.2019 Одобрена: 25.07.2019 Принята: 09.09.2019

- К 2004 г. в результате международного проекта по секвенированию генома человека было проанализировано около 20 000 кодирующих белок генов, что соответствует 2 % общей геномной последовательности. Подавляющее большинство транскриптов генов фактически характеризуются как некодирующие РНК (нкРНК) и представляют собой кластеры РНК, которые не кодируют функциональные белки. Они могут быть небольшими, длиной примерно 20 нуклеотидов, и известны как микроРНК (miRNAs), или транскриптами длиной более 200 нуклеотидов, определяемыми как длинные нкРНК (lncRNAs). miRNA — это короткие нкРНК, участвующие в посттранскрипционной регуляции экспрессии генов. Обнаруженные более 15 лет назад эти молекулы признаны в качестве одних из основных регуляторных молекул в геноме человека. Они играют важную роль во всех биологических процессах и модулируют экспрессию эукариотических генов. Ориентируясь на транскрипты, кодирующие белки, miRNA влияют на клеточный транскриптом, тем самым помогая определить судьбу клетки. Была замечена аберрантная экспрессия miRNA у больных раком. Оказалось, что тканевые концентрации специфических miRNA связаны с опухолевой инвазивностью, метастатическим потенциалом и другими клиническими характеристиками для многих типов рака. По сравнению с традиционными биомаркерами, такими как белки, miRNA имеют ряд преимуществ, которые позволяют использовать их в качестве новых потенциальных биомаркеров при раке. В этом обзоре рассмотрен биогенез, функции, технологии, применяемые для обнаружения miRNA, и ассоциации микроРНК с раком человека, в частности колоректальным
- Ключевые слова: микроРНК; биомаркер; рак; колоректальный рак.

MIRNAS AS PROMISING BIOMARKERS IN CANCER

A.A. Tarmaev¹, O.A. Beylerli²

¹ Harbin Medical University, Harbin, China;

For citation: Tarmaev AA, Beylerli OA. MiRNAs as promising biomarkers in cancer. Herald of North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov. 2019;11(3):5-12. https://doi.org/10.17816/mechnikov20191135-12

Received: June 18, 2019 Revised: July 25, 2019 Accepted: September 9, 2019

• By 2004 according to the resuts of the international genome sequencing, about 20,000 protein-coding genes had been analyzed which correspond to more than 2% of the total genomic sequence. The vast majority of gene transcripts are actually characterized as non-coding RNA (ncRNA) and are a cluster of RNA that do not encode functional proteins. They can be small, approximately 20 nucleotides in length, known as microRNAs (miRNAs), or transcripts longer than 200 nucleotides, defined as long non-coding RNAs (lncRNAs). miRNAs are short ncRNAs that are involved in the post-transcriptional regulation of gene expression. Discovered over 15 years ago, these molecules have been recognized as one of the main regulatory molecules in the human genome. They play an important role in all biological processes being

² ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Уфа

² Bashkir State Medical University, Ufa, Russia

important modulators of the eukaryotic genes expression. Focusing on transcripts that encode proteins, miRNAs influence the cellular transcript, thereby helping to determine the outcome of the cell. Aberrant miRNA expression was observed in cancer patients. Tissue concentrations of specific miRNAs have been shown to be associated with tumor invasiveness, metastatic potential, and other clinical characteristics for many types of cancer. Compared to traditional biomarkers like proteins, miRNA has several advantages that will allow them to be considered as new potential biomarkers in cancer. This review looks at biogenesis, functions, technologies used to detect miRNA, and the association of miRNA with human cancer, in particular, colorectal cancer.

• Keywords: miRNA; biomarker; cancer; colorectal cancer.

Введение

Если ранее рак был связан с острым процессом, приводящим к быстрой смерти, то сегодня благодаря современным представлениям о биологии опухолевых клеток рак рассматривают как хроническое заболевание, при этом разработка терапевтических мишеней, предназначенных для опухолей, регулярно повышает шансы на выживание онкологических больных. Рак человека включает в себя генетические (врожденные или приобретенные) и эпигенетические модификации. Многие супрессорные гены и онкогены были описаны, и сейчас очень активно открываются новые биомаркеры опухолевых процессов [1]. Недавно была идентифицирована новая группа биологических маркеров — микроРНК (miRNA). Эти молекулы специфичны для раковых клеток, в отличие от большинства других биомаркеров, доступных в настоящее время. miRNA, безусловно, будут занимать важное место в клинической биологии как новые диагностические и прогностические маркеры и индикаторы терапевтического ответа, а также как новые терапевтические мишени. В этом обзоре обобщены современные знания о биогенезе, функциях и методах обнаружения miRNA, а также о роли miRNA при раке, в частности колоректальном раке.

Биогенез и функция miRNA

Первым этапом биогенеза miRNA является транскрипция ДНК, которую, как правило, осуществляет РНК-полимераза II — тот же фермент, который транскрибирует «стандартные» белок-кодирующие гены. Более того, очень часто участки, кодирующие miRNA, находятся внутри белок-кодирующих генов. Таким образом, во многих случаях первичным продуктом может выступать обычная мРНК. Однако, как правило, РНК-транскрипт, служащий предше-

ственником miRNA, обозначают как примикроРНК (pri-miRNA).

МикроРНК чаще закодированы в интронах, но экзон-локализованные miRNA также широко распространены. Единственный обязательный критерий — наличие самокомплементарного участка, способного формировать шпильку на транскрибированной РНК. Такая структура pri-miRNA еще в ядре распознается и отрезается от остального транскрипта ферментным комплексом, включающим белки Drosha и Pasha. В качестве вспомогательных компонентов этого комплекса могут присутствовать хеликазы и гетерогенные ядерные рибонуклеопротеины (hnRNP). Менее распространенный путь процессинг без участия комплекса, то есть за счет механизма сплайсинга. Это происходит в тех случаях, когда область шпильки совпадает с границами вырезаемого интрона. Результатом процессинга pri-miRNA является фрагмент РНК длиной 60-70 нуклеотидов, называемый премикроРНК (pre-miRNA). Этот фрагмент содержит в своем составе двухцепочечный участок: две самокомплементарные области, соединенные петлей (terminal loop), и небольшой одноцепочечный участок на 3'-конце. Совокупность этих элементов распознает белок экспортин-5 в комплексе с малой ГТФазой Ran.

После образования комплекса Ran/ГТФ/экспортин-5/pri-miRNA происходит его перенос через поры ядерной мембраны в цитоплазму. Здесь после гидролиза ГТФ-комплекс распадается с высвобождением молекулы РНК [2]. Экспорт из ядра представляет собой важный этап биогенеза miRNA. В цитоплазме структурные элементы pri-miRNA представлены двухцепочечной шпилькой и коротким неспаренным участком на ее конце. pri-miRNA распознает фермент Dicer. Он имеет в своем составе домен РАZ (распознает неспаренный конец шпильки), двухцепочечный РНК-связывающий

домен, хеликазный домен и два домена с активностью РНКазы III. После связывания и правильного позиционирования Dicer на молекуле pri-miRNA PHКазные домены вносят два разрыва в РНК возле петли, отрезая ее от шпильки. Образованный двухцепочечный РНК-продукт длиной около 22 нуклеотидов связывается белком Ago2 из семейства Argonaute. Ago2 сам по себе также обладает эндонуклеазной активностью и в случае некоторых miRNA может осуществлять процессинг pri-miRNA без участия Dicer. Из двух цепей РНК, образовавшихся после отщепления петли, только одна, называемая ведущей, остается связанной с Ago2, в то время как другая («пассажирская») диссоциирует от комплекса и, как правило, деградирует. Выбор ведущей цепи определяется структурой самого дуплекса: большую вероятность остаться в комплексе с Ago2 имеет цепь, несущая неспаренный участок на своем 5'-конце. Комплекс Ago2 с единичной цепью РНК, а также с белком GW182 обозначают как miRISC (miRNAinduced silencing complex).

RISC-комплекс в цитоплазме обеспечивает главный эффект miRNA — подавление экспрессии генов, мРНК которых имеет участок, комплементарный последовательности miRNA. Такие гены называются мишенями для данной miRNA. Важнейшим этапом в выборе мишени является распознавание в мРНК последовательности, которая была бы комплементарна со 2-го по 8-й нуклеотиды miRNA. Последние образуют так называемую ключевую последовательность miRNA. Комплементарность между ключевой последовательностью miRNA и последовательностью мРНК обеспечивает посадку RISC-комплекса на мРНК-мишень. Чаще всего такие участки комплементарности в мРНК (сайты связывания miRNA) находятся в 3'-нетранслируемой области, то есть после белоккодирующей части. Посадка RISC-комплекса на мРНК-мишень может иметь разные последствия, которые зависят в том числе и от степени комплементарности между miRNA и мРНК. В случае полной комплементарности включается РНКазная активность Ago2, который разрезает мРНК в месте посадки. Такая мРНК быстро расщепляется клеточными рибонуклеазами. Прочие механизмы подавления трансляции не требуют полной комплементарности. В частности, рекрутирование белков GW182, CCR4-NOT

и PAN2-PAN3 обеспечивает отщепление от мРНК поли-А-сигнала, а привлечение белков DCP1/2 ведет к удалению кэпа [3, 4]. В обоих случаях мРНК становится нефункциональной и в дальнейшем деградирует. Наконец, само по себе нахождение RISC-комплекса на мРНК препятствует посадке и продвижению рибосомы. Следует отметить, что в отдельных случаях miRNA могут быть не репрессорами, а прямыми активаторами трансляции, однако, насколько часто встречается такое «исключение», пока не совсем ясно [5]. Таким образом, miRNA в составе RISC-комплекса «выключают» экспрессию своих генов-мишеней, причем выбор мишеней определяется последовательностью miRNA, точнее наличием комплементарной ей последовательности в мРНК. Одна и та же miRNA может воздействовать на все мРНК, имеющие в своей последовательности соответствующие сайты связывания. Более того, поскольку для посадки RISC-комплекса не требуется полной комплементарности, эти сайты могут иметь слегка различающиеся последовательности. Фактически miRNA являются исключительно универсальным механизмом подавления экспрессии и поэтому задействованы в регуляции широкого спектра клеточных процессов (по разным оценкам, от 30 до 60 % генов человека служат мишенями miRNA) [6, 7].

Методы обнаружения miRNA

Описаны различные методы обнаружения профилей miRNAs в клетках разных типов: микрочипы ДНК, массивы на гранулах, количественная ПЦР в реальном времени. Принцип чипов основан на спаривании основ Ватсона и Крика. Чипы позволяют одновременно обнаруживать несколько сотен miRNA. Панель зондов захвата олигонуклеотидов прикреплена к предметным стеклам, и образец экстракта РНК, обогащенный малыми молекулами РНК, гибридизуется с этими зондами захвата. Поскольку miRNA короткие, может быть трудно нормализовать температуры плавления (ТП) зондов для того же эксперимента, сохраняя при этом достаточные чувствительность и специфичность. Эта проблема была решена за счет использования locked nucleic acids (заблокированных нуклеиновых кислот — LNAs). LNA coдержат по меньшей мере один мономер LNA,

то есть аналог нуклеиновой кислоты, в котором 2'-атом кислорода и 4'-атом углерода рибозы «заблокированы» [8]. Каждый включенный мономер LNA увеличивает ТП дуплекса нуклеиновой кислоты на 2–10 °С [9]. Таким образом, все зонды одного и того же эксперимента, регулируя количество мономеров LNA, включенных в зонд захвата, можно нормализовать на уровне значения их ТП, несмотря на короткую miRNAs. Таким образом, были обнаружены многочисленные ассоциации с патологиями.

Массивы с использованием шариков, такие как матрицы Luminex® Flex-miR, также позволяют одновременно определять несколько сотен miRNA [10]. Зонды Exiquon с LNA связаны карбоксилированными полистирольными микросферами, которые содержат различные смеси двух флуоресцентных красителей, что дает возможность идентифицировать каждую микросферу (до 100) с помощью проточного цитометра, потому что каждая микросфера имеет уникальный цвет. Каждая микросфера связана с молекулой LNA, которая специфична для miRNA. С помощью зонда можно дифференцировать miRNA одного и того же семейства. Общую РНК извлекают из образца, биотинилируют, а затем гибридизуют с микросферами. Микросферы промывают, инкубируют с фикоэритрином - стрептавидином и анализируют с применением Luminex®. Анализатор может определять специфическую флуоресценцию микросферы и измерять интенсивность флуоресценции фикоэритрина - стрептавидина, благодаря чему удается выделить miRNA, присутствующую в образце. Этот тест позволяет также получить количественные результаты, если калибровочная кривая проводится с использованием соответствующих калибровочных материалов, таких как синтетические олигонуклеотиды.

Для обнаружения miRNA можно также использовать количественную ПЦР в реальном времени (RT-qPCR). Количественная оценка зрелых miRNA обычно требует обратной транскрипции miRNA с помощью праймера со стволовой петлей [11]. Затем кДНК используют в реакции RT-qPCR. Смесь праймеров и дважды меченного зонда (ТаqMan®) применяют для амплификации и обнаружения желаемой кДНК. Зонд имеет 5'-краситель и 3'-гаситель. Во время ПЦР зонд связывается с этой целе-

вой последовательностью. На стадии удлинения цикла ПЦР краситель высвобождается в силу экзонуклеазной активности Таq-полимеразы; поскольку краситель и гаситель были разделены, происходит флуоресценция красителя. Первичные РНК и/или pre-miRNA могут быть количественно определены теми же методами, но такие анализы требуют точного выбора как праймеров, так и зондов [11].

MiRNA и колоректальный рак

Во всем мире колоректальный рак занимает третье место по распространенности среди всех видов рака у мужчин и второе место у женщин, а также второе место в качестве причины смертности среди онкологических больных. Раннее выявление колоректального рака может привести к снижению показателей заболеваемости и смертности, поскольку используемые в настоящее время методы скрининга позволяют выявить симптомы и признаки, связанные с поздними стадиями заболевания. К сожалению, вероятность благоприятного исхода после появления клинической симптоматики составляет 50 %, в то время как при раннем диагнозе могут быть достигнуты значения, превышающие 80 %. Общепринятыми методами скрининга колоректального рака являются обнаружение скрытой крови в кале, пальцевое исследование прямой кишки, ирригоскопия и колоноскопия. Все перечисленные методы, несмотря на их широкую доступность, не позволяют выявить неопластические изменения в стенках кишечника на ранних этапах развития рака, поэтому поиски более чувствительных методов выявления рака приоритетны для многих исследователей.

Маркеры в кале

В различных исследованиях выявляли ДНК в фекалиях для количественного определения значений различных miRNA. Link et al. обнаружили избыточную экспрессию miRNA-21 и miRNA-106а при колоректальном раке и аденоме толстой кишки по сравнению со здоровыми лицами [12]. Kalimutho et al. выполняли гиперметилирование промотора miRNA-34b/с в кале и показали, что до 75 % пациентов с колоректальным раком имели гиперметилирование их промотора, которое коррелировало со стадией опухоли. Исследователи предложили

определять аберрантное метилирование в кале miRNA-34b/с в качестве диагностического маркера. В нормальных условиях miRNA-34b/c подавляет рост опухоли, вызывая апоптоз и останавливая клеточный цикл. Следовательно, аберрантное метилирование miR-34b/c, присутствующего в 97,5 % колоректальных новообразований, позволило бы останавливать пролиферацию клеток [13]. Аналогично была обнаружена избыточная экспрессия miR-20a, miR-21, miR-92, miR-96, miR-106a, miR-203 и miR-326 в кале у пациентов с колоректальным раком, тогда как на поздних стадиях заболевания уровни miR-16, miR-125b, miR-126, miR-143, miR-144, miR-145, miR-320 и miR-484-5р были низкими [14]. Koga et al. установили значения чувствительности (70 и 46 %) и специфичности (81 и 95 %) miRNA-17-92 и miRNA-135 [15]. Хотя различные авторы показывают, что определение miRNA в кале может служить диагностическим маркером при колоректальном раке, необходимы дальнейшие исследования для подтверждения этих новых маркеров. Необходимо также стандартизировать сбор образцов и их обработку [16].

Тканевые маркеры

Было замечено, что почти 300 miRNA изменены в образцах опухолей толстой кишки по сравнению с нормальной слизистой оболочкой [17]. Приблизительно 50 различных miRNA были описаны в клетках колоректального рака. Сверхэкспрессированные miRNA связаны с хромосомными областями, амплифицированными в новообразованиях этого типа, тогда как miRNA, которые экспрессируются в физиологических условиях, связаны с хромосомными областями, которые часто удаляются [16]. В медицинской литературе представлены различные сверхэкспрессированные miRNA в колоректальных новообразованиях: miR-15b, miR-17-5p, miR-19a, miR-20, miR-21, miR-29a, miR- 31, miR-92, miR-96, miR-135b, miR-148a, miR-181b, miR-182, miR-183, miR-191, miR-200b, miR-200c и miR-212. С другой стороны, определены miRNA с пониженной экспрессией: miR-1, miR-9-1, miR-30a-3p, miR-30a-5p, miR-30c, miR-34a, miR-34b, miR-34c, miR-126, miR-129, miR-133a, miR-133b, miR-137, miR-139, miR-143, miR-145, miR-195, miR-342, miR-422a, miR-422b и let-7a-1 [18-20].

Маркеры в периферической крови

В периферической крови miRNA расположены в структурах, называемых экзосомами или микровезикулами. Аберрантную экспрессию miRNA в крови можно использовать в качестве маркера при колоректальном раке [21]. Chen et al. обнаружили существование нескольких miRNA в сыворотке пациентов с колоректальным раком, которых не было у здоровых людей [22]. Ng et al. идентифицировали пять miRNA (miR-17-3p, -92, -95, -135b, -222), которые были сверхэкспрессированы как в сыворотке, так и в опухолевой ткани пациентов с колоректальным раком, и, кроме того, подтвердили, что уровень miR-17-3p и miR-92a в плазме снижался в послеоперационном периоде. Они пришли к выводу, что miR-92 обладает хорошей чувствительностью (89 %) и специфичностью (70 %) при колоректальном раке, поэтому его можно использовать при скрининге этого заболевания [23]. В исследовании, которое включало 100 случаев колоректального рака, 37 аденом толстой кишки и 59 здоровых пациентов, были получены статистически значимые значения для miR-92a и miR-29a с чувствительностью 84 % и специфичностью 71 %. Площадь под кривой для miRNA-92a составила 0,838 (95 % доверительный интервал — 0,775-0,900) при сравнении между здоровыми людьми и пациентами с колоректальным раком. Кроме того, ученые нашли связь между стадией колоректального рака по TNM и уровнем miR-29a [24]. Pu et al. оценивали экспрессию miR-21, miR-221 и miR-222 с помощью qRT-PCR в 103 случаях колоректального рака и у 37 здоровых добровольцев [25]. miRNA оказалась полезной и в отношении распознавания прогрессирующей колоректальной аденомы, что позволяет проводить диагностику заболевания на ранних стадиях: увеличение miR-29a и miR-92a было значительным по сравнению с контролем. В той же линии исследований Kanaan et al., изучая 380 miRNA, обнаружили, что восемь miRNA (miR-532-3p, miR-331, miR-195, miR-17, miR-142-3p, miR-15b, miR-532 и miR-652) были сверхэкспрессированы у пациентов с колоректальными полипами по сравнению со здоровыми людьми [26]. Было подтверждено, что определение miR-141, связанное с выявлением раково-эмбрионального антигена, способствовало бы обнаружению метастазов в печени [27].

Недавно было высказано предположение, что miR-29а можно использовать в качестве маркера для дифференцировки колоректального рака с метастазами в печени [28]. Эти технологические достижения позволили ученым провести разнообразные исследования, направленные на определение различных miRNA. Применение микрочипов показало, что различные miRNA, присутствующие в опухолевых клетках при колоректальном раке, могут служить индикаторами при прогнозировании развития заболевания, улучшения выживаемости после химио- и лучевой терапии [29]. Благодаря ранней диагностике рака ободочной и прямой кишки удается лечить заболевание на начальных стадиях, что делает это новообразование потенциально излечимым, поэтому независимо от метода любая процедура ранней диагностики лучше, чем отсутствие какого-либо скрининга.

Использование miRNA в клинике

Количество доклинических исследований, основанных на определении miRNA, которые показали улучшенный или сходный эффект по сравнению с традиционными методами лечения, все время увеличивается. Использование miRNA может иметь различные технические преимущества.

- 1. miRNA представляют собой регуляторные элементы, которые могут воздействовать одновременно на несколько мРНК и, следовательно, влиять на разные компоненты одного и того же молекулярного сигнального пути или даже на разные пути. Это сводит к минимуму возможность компенсации другими избыточными путями или другими белками из того же семейства.
- 2. В отличие от мРНК, зрелые miRNA уже являются непосредственно функциональным продуктом гена и не требуют какого-либо другого типа регуляции транскрипции для осуществления своей функции.
- 3. Наконец, miRNAs стабильны в замороженной ткани, а также в образцах тканей, фиксированных в формалине и парафине. Это позволяет извлекать их с помощью стандартизированных методов оценки, таких как количественная ПЦР, в любое время во время лечения пациента.

Применение miRNA в клинической практике уже стало реальностью. В области онкологии

первой молекулой, вступившей в клиническую фазу, был MIRX34. Это соединение имитирует miR-34, miRNA с функцией подавления опухоли, экспрессия которой снижается во множестве опухолей. Одно из ограничений этих соединений заключается в том, что при введении венозным путем и без какого-либо типа инкапсуляции их распределение сосредоточено в основном в печени, где они очень эффективны, но быстро метаболизируются и выводятся из организма, что ограничивает их терапевтический потенциал в других тканях. Следовательно, для улучшения биораспределения miRNA необходимо расширять исследования: возможно их инкапсулирование в везикулярные наночастицы, изготовленные из биосовместимых материалов, что обеспечит большую стабильность и постоянство в кровотоке.

Заключение

miRNA являются опухолевыми маркерами, вызывающими большой интерес для использования в клинической практике. Биологические роли miRNA обеспечивают реальную физиопатологическую основу для их связи с прогнозом или терапевтического мониторинга опухоли. В этом смысле ингибирование miRNA с помощью «антагомиров» открывает привлекательную терапевтическую перспективу. Однако многие вопросы о применении этих биомаркеров в патологии остаются без ответа. Например, каков уровень экспрессии miRNA в первичных опухолях, вторичных опухолях или метастазах для данного пациента? Исследования в этом направлении могут помочь в будущем в классификации, диагностике и лечении опухолевых патологий.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Литература

- Kulasingam V, Diamandis EP. Strategies for discovering novel cancer biomarkers through utilization of emerging technologies. *Nat Clin Pract Oncol*. 2008;5(10):588-599. https://doi.org/10.1038/ncponc1187.
- Lei EP, Silver PA. Protein and RNA export from the nucleus. Dev Cell. 2002;2(3):261-272. https://doi.org/10.1016/s1534-5807(02)00134-x.

ОБЗОРЫ

- Behm-Ansmant I, Rehwinke J, Doerks T, et al. MRNA degradation by miRNAs and GW182 requires both CCR4: NOT deadenylase and DCP1:DCP2 decapping complexes. Genes Dev. 2006;20(14):1885-1898. https://doi.org/10.1101/gad.1424106.
- Nishihara T, Zekri L, Braun JE, Izaurralde E. miRISC recruits decapping factors to miRNA targets to enhance their degradation. *Nucleic Acids Res.* 2013;41(18):8692-8705. https://doi.org/10.1093/nar/gkt619.
- 5. Vasudevan S, Tong Y, Steitz JA. Switching from repression to activation: microRNAs can up-regulate translation. *Science*. 2007;318(5858):1931-1934. https://doi.org/10.1126/science.1149460.
- Wilson RC, Doudna JA. Molecular mechanisms of RNA interference. *Annu Rev Biophys*. 2013;42:217-239. https://doi.org/10.1146/annurev-biophys-083012-130404.
- Friedman RC, Farh KK, Burge CB, Bartel DP. Most mammalian mRNAs are conserved targets of microRNAs. Genome Res. 2009;19(1):92-105. https://doi.org/10.1101/gr.082701.108.
- Gregory RI, Yan KP, Amuthan G, et al. The microprocessor complex mediates the genesis of microRNAs. *Nature*. 2004;432(7014):235-240. https://doi.org/10.1038/nature03120.
- 9. Lund E, Guttinger S, Calado A, et al. Nuclear export of microRNA precursors. *Science*. 2004;303(5654):95-98. https://doi.org/10.1126/science.1090599.
- 10. Lee Y, Ahn C, Han J, et al. The nuclear RNase III Drosha initiates microRNA processing. *Nature*. 2003;425(6956):415-419. https://doi.org/10.1038/nature01957.
- 11. Lee Y, Jeon K, Lee JT, et al. MicroRNA maturation: stepwise processing and subcellular localization. *EMBO J.* 2002;21(17):4663-7460. https://doi.org/10.1093/emboj/cdf476.
- 12. Link A, Balaguer F, Shen Y, et al. Fecal micro-RNA as novel biomarkers for colon cancer screening. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2010;19(7):1766-1774. https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-10-0027.
- 13. Kalimutho M, Di Cecilia S, Del Vecchio Blanco G, et al. Epigenetically silenced miR-34bc as a novel faecal-based screening marker for colorectal cancer. *Br J Cancer*. 2011;104(11):1770-1778. https://doi.org/10.1038/bjc.2011.82.
- 14. Dong Y, Wu WK, Wu CW, et al. MicroRNA dysregulation in colorectal cancer: a clinical perspective. *Br J Cancer*. 2011;104(6):893-898. https://doi.org/10.1038/bjc.2011.57.
- 15. Koga Y, Yasunaga M, Takahashi A, et al. MicroRNA expression profiling of exfoliated colonocytes isolated from feces for colorectal cancer screening. *Cancer Prev Res (Phila)*. 2010;3(11):1435-1442. https://doi.org/10.1158/1940-6207.CAPR-10-0036.

- 16. Wang X, Kuang YY, Hu XT. Advances in epigenetic biomarker research in colorectal cancer. *World J Gastroenterol*. 2014;20(15):4276-4287. https://doi.org/10.3748/wjg.v20.i15.4276.
- 17. Mazeh H, Mizrahi I, Ilyayev N, et al. The diagnostic and prognostic role of microRNA in colorectal cancer: a comprehensive review. *J Cancer*. 2013;4(3):281-295. https://doi.org/10.7150/jca.5836.
- 18. Nugent M, Miller N, Kerin MJ. MicroRNAs in colorectal cancer: function, dysregulation and potential as novel biomarkers. *Eur J Surg Oncol*. 2011;37(8):649-654. https://doi.org/10.1016/j.ejso.2011.05.005.
- 19. Ferracin M, Veronese A, Negrini M. Micromarkers: miRNAs in cancer diagnosis and prognosis. *Expert Rev Mol Diagn*. 2010;10(3):297-308. https://doi.org/10.1586/erm.10.11.
- 20. Menendez P, Villarejo P, Padilla D, et al. Implications of the histological determination of microRNA in the screening, diagnosis and prognosis of colorectal cancer. *J Surg Oncol*. 2013;108(1):70-73. https://doi.org/10.1002/jso.23344.
- 21. Menendez P, Padilla D, Villarejo P, et al. Prognostic implications of serum microRNA-21 in colorectal cancer. *J Surg Oncol*. 2013;108(6):369-373. https://doi.org/10.1002/jso.23415.
- 22. Chen X, Ba Y, Ma L, et al. Characterization of micro-RNA in serum: a novel class of biomarkers for diagnosis of cancer and other diseases. *Cell Res.* 2008;18(10):997-1006. https://doi.org/10.1038/cr.2008.282.
- 23. Ng EK, Chong WW, Jin H, et al. Differential expression of micro-RNA in plasma of patients with colorectal cancer a potential marker for colorectal cancer screening. *Gut.* 2009;58(10):1375-1381. https://doi.org/10.1136/gut.2008.167817.
- 24. Huang Z, Huang D, Ni S, et al. Plasma micro-RNA are promising novel biomarkers for early detection of colorectal cancer. *Int J Cancer*. 2010;127(1):118-126. https://doi.org/10.1002/ijc.25007.
- 25. Pu XX, Huang GL, Guo HQ, et al. Circulating miR-221 directly amplified from plasma is a potential diagnostic and prognostic marker of colorectal cancer and is correlated with p53 expression. *J Gastroenterol Hepatol*. 2010;25(10):1674-1680. https://doi.org/10.1111/j.1440-1746.2010.06417.x.
- Kanaan Z, Roberts H, Eichenberger MR, et al. A plasma microRNA panel for detection of colorectal adenomas: a step toward more precise screening for colorectal cancer. *Ann Surg.* 2013;258(3):400-408. https://doi.org/10.1097/ SLA.0b013e3182a15bcc.
- 27. Cheng H, Zhang L, Cogdell DE, et al. Circulating plasma MiR-141 is a novel biomarker for metastatic colon cancer and predicts poor prognosis. *PLoS One*. 2011;6(3):e17745. https://doi.org/10.1371/journal.pone. 0017745.

REVIEWS

- 28. Wang LG, Gu J. Serum microRNA-29a is a promising novel marker for early detection of colorectal liver metastasis. *Cancer Epidemiol*. 2012;36(1):e61-67. https://doi.org/10.1016/j.canep.2011.05.002.
- 29. Menendez P, Villarejo P, Padilla D, et al. Diagnostic and prognostic significance of serum micro-RNA in colorectal cancer. *J Surg Oncol*. 2013;107(2):217-220. https://doi.org/10.1002/jso.23245.
- Адрес автора для переписки (Information about the author)

Озал Арзуман оглы Бейлерли / Ozal Beylerli E-mail: obeylerli@mail.ru https://orcid.org/0000-0002-6149-5460