

ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ РАКА ЯИЧНИКОВ: ЦИРКУЛИРУЮЩИЕ МИКРОРНК

Вереникина Е.В.¹

¹ ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Минздрава России, Ростов-на-Дону, e-mail: petrusenko-natulya@mail.ru

Эпителиальный рак яичников (ЭРЯ), составляя 3% от всех злокачественных заболеваний у женщин, является ведущей причиной смерти, вызванной злокачественными новообразованиями женской репродуктивной системы. Наблюдается лишь незначительное улучшение показателей выживаемости, что связано с отсутствием ранних симптомов и эффективных скрининговых тестов для выявления рака яичников (РЯ) (например, основанных на жидкостной биопсии). Все больше исследований определяют нарушения экспрессии miRNA как важный фактор развития РЯ. Циркулирующие микроРНК сыворотки/плазмы имеют преимущества в качестве онкомаркеров, так как они участвуют на всех стадиях развития опухоли, могут сохранять стабильность в течение длительного времени, просты в обнаружении, тест-системы на базе qPCR-RT обладают низкой стоимостью. В настоящем обзоре проведен анализ данных литературы о наиболее значимых клинико-лабораторных исследованиях, отобранных по базе данных PubMed за период с 2014 по 2019 гг. Обсуждены механизмы действия miRNA, текущие исследования, касающиеся их роли в супрессии или развитии рака яичников, и обобщены данные по их использованию в качестве маркеров для диагностики, прогноза или в качестве терапевтических мишеней.

Ключевые слова: эпителиальный рак яичников, циркулирующие микроРНК, экспрессия, биомаркеры, диагностические модели.

EPIGENETIC MARKERS OF OVARIAN CANCER: CIRCULATING MICRORNAs

Verenikina E.V.¹

¹ «National Medical Research Centre for Oncology» of the Ministry of Health of Russia, Rostov-on-Don, e-mail: petrusenko-natulya@mail.ru

Epithelial ovarian cancer (EOC), accounting for 3% of all malignant diseases in women, is the leading cause of death among malignant neoplasms of the female reproductive system. There is only a slight improvement in survival rates due to the lack of early symptoms and effective screening tests for ovarian cancer (OC), for example, based on a liquid biopsy. More and more studies have revealed miRNA expression dysfunctions as an important factor in the development of OC. Circulating serum / plasma miRNAs have advantages as tumor markers, since they participate at all stages of tumor development, can remain stable for a long time, are easy to detect, and qPCR-RT based test systems are low cost. This review analyzes the literature data on the most significant clinical and laboratory studies selected using the PubMed database for the period from 2014 to 2019. The miRNA mechanisms of action, ongoing studies regarding their role in suppression or development of ovarian cancer are discussed, and data on their use as markers for diagnosis, prognosis, or as therapeutic targets are summarized.

Keywords: epithelial ovarian cancer, circulating miRNAs, expression, biomarkers, diagnostic models.

Эпителиальный рак яичников (ЭРЯ) – один из трех основных типов злокачественных опухолей женской репродуктивной системы, на долю которого приходится до 90% случаев [1]. Помимо эпителиальных клеток опухоли, в яичниках могут развиваться из зародышевых и стромальных клеток [2]. При этом ЭРЯ является ведущей причиной смерти, вызванной злокачественными новообразованиями женских половых путей, и за последние несколько десятилетий наблюдалось лишь незначительное улучшение показателей выживаемости [3, 4]. Общая частота излечения осталась около 30% при включении всех стадий заболевания. Высокий уровень смертности от рака яичников (РЯ) отчасти объясняется его

неспецифическими симптомами, которые обычно появляются при прогрессировании заболевания, а также отсутствием эффективных скрининговых стратегий для выявления его на ранних стадиях [5, 6]. На фоне 92% 5-летней выживаемости на ранних стадиях у 75–80% больных РЯ диагностируются распространенные стадии (III/IV), при которых частота излечения составляет менее 20% [7]. В то же время заболевание, диагностируемое на I или II стадии, имеет положительный исход в 70–90% случаев. Многие пациенты с прогрессирующей опухолью первоначально реагируют на комбинацию таксановой и платиновой химиотерапии, но в последующем опухоль рецидивирует вследствие сохранения пула химиорезистентных раковых клеток [4, 8].

Локализация яичников затрудняет верификацию диагноза новообразований органа с помощью хирургической биопсии, тем более что процедура биопсии, особенно на ранних стадиях ЭРЯ, нежелательна, поскольку раковые клетки могут попасть в брюшную полость, что способствует перитонеальному метастазированию [9]. Таким образом, есть необходимость в чувствительных неинвазивных скрининговых тестах для ЭРЯ, например, основанных на жидкостной биопсии. С открытием нового класса регуляторных молекул – малых некодирующих РНК, а также их возможного участия во многих патологических процессах – были расширены возможности диагностики и прогноза в том числе онкологических заболеваний.

В настоящем обзоре проведен анализ данных литературы о спектре и изменении экспрессии циркулирующих микроРНК с точки зрения возможности их использования в качестве диагностических и прогностических биомаркеров ЭРЯ. Суммированы данные наиболее значимых клиничко-лабораторных исследований, отобранных по базе данных PubMed за период с 2014 по 2019 гг.

Циркулирующие микроРНК

Менее 2% генома человека кодируют гены, которые транслируются в белки: значительная часть транскрипта дает начало некодирующим РНК [10]. В настоящее время хорошо известно, что эти молекулы играют существенную роль в различных биологических процессах, влияя на развитие клеток, дифференцировку, метаболизм, старение, воспаление и иммунитет [11, 12]. Среди этого пула некодирующих РНК были идентифицированы небольшие, известные как микроРНК (миРНК, miRNA, miR), значительная роль которых была показана в различных патологических процессах [13], в том числе в биологии рака [14, 15, 16].

miRNA – небольшие некодирующие одноцепочечные РНК длиной 20–25 нуклеотидов, кодируемые эндогенными генами. К настоящему моменту по данным базы miRBase в геноме человека идентифицировано более 2500 микроРНК [17]. Каждая

микроРНК прямо или косвенно регулирует примерно 100 мРНК-транскриптов; один белок, кодирующий ген, может регулироваться более чем одной микроРНК.

Данный тип некодирующих РНК регулируют экспрессию более 60% генов человека на посттранскрипционном и транскрипционном уровнях [18]. Такая способность позволяет с помощью микроРНК осуществлять тонкую настройку активности генов в клетке.

Значительное количество микроРНК присутствует вне клеток в крови и других жидкостях организма, это так называемые циркулирующие микроРНК (ц-микроРНК) [19]. Известно, что ц-микроРНК очень стабильны во внеклеточной среде и способны сохраняться при высоких температурах, экстремальных значениях рН и активности РНКаз. Они часто встречаются в составе мелких мембранных частиц (внеклеточных везикул) и в ассоциации с РНК-связывающими белками (Ago2, HDL и др.) [20].

Ц-микроРНК могут играть интригующую роль в межклеточной коммуникации. Например, было показано, что микроРНК, обогащенные внеклеточными везикулами, полученными из мезенхимальных стволовых клеток костного мозга, могут быть поглощены трубчатymi эпителиальными клетками, что приводит к ингибированию экспрессии известных мишеней. Кроме того, ц-микроРНК могут влиять на раковые клетки и окружающую их среду как направленно на мРНК, так и функционируя как рецепторные системы [21].

Одним из неясных моментов, который ждет своего решения, является вопрос о фактическом количестве ц-микроРНК, достаточном для изменения генной экспрессии в клетках-реципиентах *in vivo*. Некоторые исследования сообщают, что среднее количество микроРНК в экзосомах составляет около 1 молекулы на экзосому [22]. Это очень низкое количество может привести к некоторому скептицизму относительно роли ц-микроРНК в межклеточной коммуникации. Однако во внеклеточных везикулах ассоциированные микроРНК составляют небольшой процент от общего пула ц-микроРНК, и, кроме того, эта полуколичественная оценка не принимает во внимание, например, накопление микроРНК в клетках-реципиентах и не учитывает гетерогенность содержания внеклеточных везикул.

Не только микроРНК из ткани могут быть использованы для создания паттерна, способного классифицировать группу пациентов, но и ц-микроРНК из жидких биопсий становятся все более широким источником информации [19]. Ц-микроРНК как биомаркеры обладают рядом преимуществ, таких как большая стабильность, устойчивость к рибонуклеазам и физико-химическим условиям в жидкостях организма, что повышает целесообразность их клинического применения. Еще одним важным аспектом является комплаентность пациентов. Действительно, ц-микроРНК извлекаются из жидкостных биопсий, что является гораздо менее инвазивным и болезненным способом для пациентов

по сравнению со стандартными методами. Кроме того, стоимость и время на обработку жидкостной биопсии ниже, чем у нежидкостных образцов.

Диагностический и прогностический потенциал циркулирующих микроРНК

Ц-микроРНК [23], генерируемые в цитоплазме, влияют на функцию клетки, в которой они продуцируются, и могут высвободиться в кровоток и поглощаться для регуляции экспрессии генов в отдаленных клетках-мишенях [24].

Потенциально ц-микроРНК сыворотки/плазмы имеют очевидные преимущества в качестве онкомаркеров [25]. Во-первых, описано участие микроРНК на всех стадиях развития опухоли, они способны отражать состояние опухоли и прогнозировать ответ на терапию с высокой специфичностью; во-вторых, микроРНК сыворотки/плазмы могут сохранять стабильность в течение длительного времени; наконец, маркеры просты в обнаружении, тест-системы на базе qPCR-RT обладают низкой стоимостью [26-28].

Несколько циркулирующих микроРНК были обнаружены в цельной крови, плазме, сыворотке и экзосомах больных раком яичников и положительно или отрицательно коррелировали с прогрессированием или химиорезистентностью РЯ [23, 29, 30].

В одной из пионерских работ по микроРНК-профилированию РЯ Taylor и коллеги [31] сообщили, что уровень восьми экзосомальных микроРНК (miR-21, miR-141, miR-200a, miR-200b, miR-200c, miR-203, miR-205 и miR-214) был повышен в сыворотке у больных раком яичников по сравнению с доброкачественным контролем. Эти микроРНК были сверхэкспрессированы даже у пациенток с ранними стадиями РЯ. Набор микроРНК из экзосом параллельно повторял профиль из исходных опухолевых клеток, что указывает на то, что циркулирующие микроРНК точно отражают профили опухоли [23, 31]. После этого исследования в различных работах продемонстрировали диагностические возможности циркулирующих микроРНК в таких жидкостях организма, как сыворотка, плазма, цельная кровь и моча [32].

Zuberi и другие [33] показали, что экспрессия miR-200a, miR-200b и miR-200c значительно повышалась в сыворотке крови больных эпителиальным раком яичников по сравнению с нормальным контролем. Сверхэкспрессия miR-200a была связана с развитием опухоли, гистологией и стадией, а сверхэкспрессия miR-200c – с метастазированием в лимфатические узлы. Таким образом, авторы предположили, что микроРНК сыворотки miR-200a, miR-200b и miR-200c могут быть маркерами прогноза и выживаемости у больных эпителиальным раком яичников. Karpanakis и другие [34] также выявили повышение miR-200b в плазме больных раком яичников по сравнению с больными доброкачественными опухолями. Они предложили использовать miR-200b в качестве комплементарного биомаркера CA125, не связанного с ним.

В работе Meng и иных [35] исследовали 180 больных ЭРЯ и 66 здоровых женщин. В случаях онкопатологии сывороточные уровни miR-25 и miR-93 были снижены, а miR-7 и miR-429 – повышены. Сигнатура из этих четырех микроРНК дифференцировала больных раком яичников от здоровых женщин с высокой чувствительностью и специфичностью: 93% и 92% соответственно.

Одно из обобщающих исследований на базе метаанализа [36], включавшее данные 33 исследований, 1081 пациентку с раком яичников и 518 контрольных случаев, позволило установить довольно высокую чувствительность ц-микроРНК-маркеров. Результаты были следующими: чувствительность 0,89 (95% ДИ: 0,84–0,93); специфичность 0,64 (95% ДИ: 0,56–0,72); коэффициент положительной вероятности – 2,18 (95% ДИ: 1,89–2,51) и диагностический коэффициент вероятности (DOR) – 13,21 (95% ДИ: 9,00–19,38). При этом множественные панели miRNA были более точными при идентификации рака яичника с комбинированным DOR 30.06 (95% CI: 8,58–105,37), что повышает их потенциальную диагностическую ценность для клинической практики.

В скрининговом исследовании Chung et al. [37] в образцах крови 18 пациенток с диагнозом «рак яичников» и 12 женщин из группы контроля сравнили 2222 вида микроРНК, выявленных в микрочиповом анализе. Экспрессия 95 микроРНК была понижена и 88 микроРНК – повышена в сыворотке крови, тканях и асцитах онкологических больных. Пять микроРНК (miR-132, miR-26a, let-7b, miR-145 и miR-143) были определены как 5 наиболее заметно пониженных регуляторных микроРНК в сыворотке крови больных раком яичников по отношению к таковым из группы контроля. Четыре микроРНК (miR-132, miR-26a, let-7b и miR-145) из 5 выделенных микроРНК были достоверно недостаточно экспрессированы в сыворотке крови больных раком яичников по сравнению с группой контроля. Результаты показали, что эти микроРНК могут быть использованы в качестве новых биомаркеров серозного рака яичников. Кроме того, достоверное снижение уровня miR-145 в сыворотке крови у пациенток с раком яичников и здоровых лиц контрольной группы отмечали Liang и иные [38]. Авторы предположили, что miR-145 потенциально может служить биомаркером рака яичников.

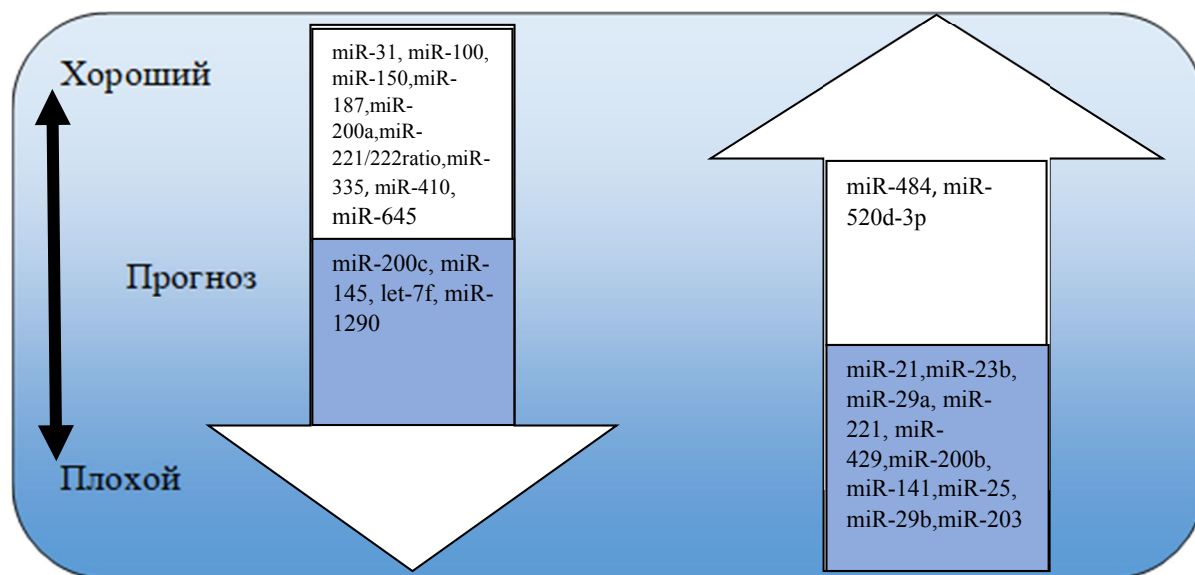
Накопленная информация свидетельствует о том, что выявление ассоциированных с раком яичников микроРНК из периферической крови может быть важным методом ранней диагностики этого заболевания. В таблице 1 приведены данные о циркулирующих микроРНК, которые были оценены в качестве маркеров ранней диагностики рака яичников по данным разных авторов [23-25].

Таблица 1

Потенциальные диагностические микроРНК для рака яичников

Источник	Повышение экспрессии микроРНК	Снижение экспрессии микроРНК
Экзосомы сыворотки крови	miR-21, miR-141, miR-200a, miR-200b, miR-200c, miR-203, miR-205, miR-214	
Плазма	miR-205, miR-16, miR-21, miR-191, miR-4284, miR-191-5p, miR-206, miR-548a-3p, miR-320a, miR-574-3p, miR-590-5p, miR-34c-5p, miR-106b-5p, miR-1274a, miR-625-3p, miR-720, miR-200b	let-7f, miR-106b, miR-126, miR-150, miR-17, miR-20a, miR-92a, miR-19a-3p, miR-30a-5p, miR-645, miR-150-5p
Цельная кровь	miR-30c-1	miR-342-3p, miR-181a, miR-450-5p
Сыворотка	miR-182, miR-200a, miR-200b, miR-200c, miR-21, miR-92, miR-93, miR-126, miR-29a, miR-221, miR-7, miR-429, miR-141, miR-200c, miR-200a, miR-200b, miR-200c	miR-155, miR-127, miR-99b, miR-132, miR-26a, let7-b, miR-145, miR-25, miR-93, miR-145, let-7i-5p, miR-122, miR-152, miR-25-3p

МикроРНК исследовали также в качестве прогностических маркеров и клинического ответа на химиотерапию. Несколько miRs, определенных как онкогенные, демонстрировали повышенные уровни в опухолях и были связаны с низкой общей выживаемостью. В отличие от этого, ряд микроРНК, действующих как супрессоры опухоли, были снижены при раке яичников (рисунок) [23, 39].



ЭКСПРЕССИЯ

Циркулирующие микроРНК как потенциальные прогностические предикторы рака яичников

Одним из первых крупномасштабных комплексных исследований циркулирующих микроРНК при раке яичников стала работа Yoko и коллег [40], которые описали

идентификацию перспективных биомаркеров в образцах сыворотки крови, полученных от 4046 женщин, в том числе 428 пациенток с опухолями яичников. В результате были получены комплексные профили 2588 микроРНК с использованием высокочувствительного микрочипового анализа микроРНК на стандартизированной платформе (3D-Gene[®], TorayIndustries, Inc., Токио, Япония). В этом исследовании авторы объединили образцы сыворотки крови 10 пациентов с ранней стадией (стадия I), 10 пациентов с поздней стадией (стадия IIIc-IV) и 10 здоровых доноров и проанализировали эти три пула образцов с использованием матрицы низкой плотности TaqMan (667 микроРНК) [41]. Затем были отобраны кандидатные микроРНК, которые валидировали методом количественной обратной транскрипционной ПЦР (qRT-PCR). Кроме того, в эксперименте на 12 клеточных линиях рака яичника были проанализированы экзосомальные микроРНК и выбраны в качестве маркерных кандидатов те, которые могут быть инкапсулированы в экзосомы и высвобождены из клеток рака яичников. Используя такие широкомасштабные данные, авторы подтвердили предположения о том, что пациенты с РЯ могут быть точно дискриминированы от неракового контроля с помощью профилей сывороточной миРНК.

Основная цель работы Уокои и иных [40] заключалась в разработке новой стратегии скрининга РЯ. Отметим комплексность подхода, позволившего сформировать несколько оптимальных диагностических моделей рака яичников (табл. 2).

Таблица 2

Диагностические модели рака яичников

Диагностическая модель	Образцы сыворотки крови	Комбинация микроРНК	Валидационное испытание –AUC: чувствительность: специфичность
Модель 1 – скрининг РЯ	3007 человек (428 – РЯ, 2759 – нераковые доноры)	miR-320a, miR-665, miR-3184-5p, miR-6717-5p, miR-4459, miR-6076, miR-3195, miR-1275, miR-3185, miR-4640-5p	1,00:0,99:1,00
Модель 2 – выявление РЯ среди других злокачественных опухолей	1402 человек (428 – РЯ, 859 – с другими видами рака (рак молочной железы (n=115), аденокарцинома протоков поджелудочной железы (n=115), колоректальная аденокарцинома (n=115), гепатоцеллюлярный рак (n=81), плоскоклеточный рак пищевода (n= 88), аденокарцинома желудка (n= 115), рак легких	miR-4687-3p, miR-939 - 5p, miR-5739, miR-211-3p, miR-1273g-3p, miR-3663-3p, miR-4726-5p, miR-4745-5p, miR-1268b, miR-658	0,87:0,84:0,90

	(n= 115), а также саркомы костей и мягких тканей (n=115)), 115 –нераковый контроль)		
Модель 3 – специфическое выявление РЯ среди новообразований яичников	543 человек (333-РЯ, 29 – доброкачественные опухоли, 115 – нераковый контроль)	miR-663b, miR-4730, miR-642a-3p, miR-658, miR-486-3p, miR-1246, miR-1207-5p, miR-4419b, miR-6124	0,86:0,82:0,91

В частности, модель 1 классифицировала 95,1% пациентов с I стадией заболевания как положительных, что указывает на высокую пригодность этой модели для раннего выявления. Таким образом, эта комбинация из 10 микроРНК представляет собой перспективный биомаркер для скрининга рака яичников. Хотя модель 2 неверно диагностировала около половины образцов саркомы и рака пищевода как рак яичников, она адекватно отличала пациентов с раком яичников от больных с другими типами рака. Модель 3 отличала больных с раком яичников от здорового контроля, но не могла эффективно отличать пациентов с доброкачественными или пограничными опухолями от пациентов с раком яичников.

Таким образом, исследование профилей сывороточных микроРНК представляет собой мощный инструмент в клинических условиях, поскольку профиль опухоли нестабилен и динамично развивается с течением времени, а биопсии тканей практически невозможно получить повторно [42]. Однако было обнаружено, что дискриминация рака яичников от пограничных или доброкачественных опухолей яичников с использованием циркулирующих профилей микроРНК или диагностика гистопатологического подтипа были более трудными, чем дискриминация между раком и условной нормой. В целом разработка менее инвазивной, быстрой и точной стратегии диагностики рака яичников даже на ранней стадии должна способствовать улучшению прогноза у пациенток.

Заключение

Рак яичников характеризуется высокой степенью злокачественности, плохим прогнозом и высокой смертностью. Профилирование микроРНК является важным инструментом для идентификации дифференциально выраженных микроРНК в нормальных и патологических процессах и может быть достигнуто различными методами. Рутинные биопсии для профилирования микроРНК не доказали своей практической возможности раннего обнаружения. Таким образом, исследователи обращаются к менее инвазивным процедурам, таким как циркулирующая микроРНК из сыворотки или плазмы крови [43]. Поскольку микроРНК тесно связана с возникновением и развитием РЯ, ее экспрессия стабильна, она может быть использована в качестве маркера для ранней диагностики РЯ. Циркулирующие микроРНК

обладают большим потенциалом в качестве перспективных новых неинвазивных биомаркеров для раннего выявления, прогноза и чувствительности к химиотерапии РЯ.

Несмотря на то что в ряде публикаций показана пригодность циркулирующих микроРНК в качестве биомаркеров рака [40], эти молекулы все еще считаются недостаточно приемлемыми для клинического применения, главным образом из-за отсутствия широкомасштабной валидации и несоответствий между устройствами обнаружения [23, 44]. Имеются противоречивые данные о циркулирующих микроРНК из одной и той же опухоли, полученные в различных исследованиях. Тем не менее циркулирующие микроРНК могут быть высокоэффективными биомаркерами РЯ, что показано при других заболеваниях, таких как сердечно-сосудистые заболевания, сахарный диабет и рак других органов [45]. Необходимы дальнейшие исследования с использованием стандартизованных процедур и в более крупных масштабах для рассмотрения клинической значимости циркулирующих микроРНК при РЯ.

В последнее время было запущено несколько крупных проектов, посвященных изучению циркуляции микроРНК в качестве биомаркера. Эти проекты могут стать важными вехами на пути выявления РЯ на основе микроРНК. Кроме того, ряд фундаментальных работ показал, что циркулирующие микроРНК могут быть медиаторами межклеточной коммуникации при прогрессировании рака [46, 47]. Полученные данные позволяют использовать циркулирующие микроРНК не только в качестве биомаркеров, но и в качестве потенциальных терапевтических мишеней в будущем.

Недавние наблюдения [40] подтверждают, что микроРНК могут быть полезными диагностическими и прогностическими биомаркерами. Таким образом, в ближайшем будущем применение микроРНК может стать мощным инструментом лечения РЯ и профилактики его рецидивирования и метастазирования. Стоит отметить, что при углубленном исследовании микроРНК установлено, что их экспрессия различна в сыворотке и плазме крови, а также в жидкостях организма больных, включая асцитический и плевральный выпоты, мочу и слюну и иные, что также может иметь в дальнейшем диагностическое и прогностическое значение.

Список литературы

1. Wang X., Ivan M., Hawkins S.M. The role of MicroRNA molecules and MicroRNA-regulating machinery in the pathogenesis and progression of epithelial ovarian cancer. *Gynecol Oncol.* 2017. V. 147(2). P. 481–487. DOI: 10.1016/j.ygyno.2017.08.027.
2. Garbi A., Achilarré M.T., Colombo N. Ovarian Sex Cord Tumors. In: Pujade-Lauraine E.,

Ray-Coquard I., Lécuru F. (eds) *Ovarian Cancers*. Springer, Cham, Switzerland: 2016. P. 261–279. DOI: 10.1007/978-3-319-32110-3_19.

3. Motohara T., Masuda K., Morotti M., Zheng Y., El-Sahhar S., Chong K., Wietek N., Alsaadi A., Karaminejadranjbar M., Hu Z., Artibani M., Santana Gonzalez L.S., Katabuchi H., Hideyuki Saya H., Ahmed A.A. An evolving story of the metastatic voyage of ovarian cancer cells: cellular and molecular orchestration of the adipose-rich metastatic microenvironment. *Oncogene* 2019. V. 38(16). P. 2885-2898. DOI: 10.1038/s41388-018-0637-x.

4. Цандекова М.Р., Порханова Н.В., Кутилин Д.С. Молекулярная характеристика серозной аденокарциномы яичника: значение для диагностики и лечения // *Современные проблемы науки и образования*. 2020. № 1. URL: <http://science-education.ru/ru/article/view?id=29428> (дата обращения: 27.05.2020). DOI: 10.17513/spno.29428.

5. Mills K., Fuh K. Recent advances in understanding, diagnosing, and treating ovarian cancer. *F1000Res*. 2017. V. 6. P. 84. DOI: 10.12688/f1000research.9977.1.

6. Bowtell D.D., Böhm S., Ahmed A.A., Aspuria P.J., Bast Jr R.C., Beral V., Berek J.S., Birrer M.J., Blagden S., Bookman M.A., Brenton J.D., Chiappinelli K.B. Martins F.C., Coukos G., Drapkin R., Edmondson R., Fotopoulou C., Gabra H., Galon J., Gourley C., Heong V., Huntsman D.G. Iwanicki M, Karlan B.Y., Kaye A., Lengyel E., Levine D.A., Lu K.H., McNeish I.A., Menon U., Narod S.A., Nelson B.H., Nephew K.P., Pharoah P., Powell Jr D.J., Ramos P., Romero I.L., Scott C.L., Sood A.K., Stronach E.A., Balkwill F.R. Rethinking ovarian cancer II: reducing mortality from high-grade serous ovarian cancer. *Nature Reviews Cancer*. 2015. V. 15(11). P. 668–679. DOI: 10.1038/nrc4019.

7. Siegel R.L., Miller K.D., Jemal A. Cancer Statistics, 2017. *CA Cancer J. Clin.* 2017. V. 67(1). P. 7–30. DOI: 10.3322/caac.21387.

8. Esselen K.M., Cronin A.M., Bixel K.L., Bookman M.A., Burger R., Cohn D.E., Cristea M.C., Griggs J.J., Levenback C.F., Mantia-Smaldone G.M., Meyer L.A., Matulonis U.A., Niland J.C., Sun C.C., O'Malley D., Wright A.A. Use of CA-125 tests and computed tomographic scans for surveillance in ovarian cancer. *JAMA Oncol.* 2016. V. 2. P. 1427–1433. DOI: 10.1001/jamaoncol.2016.1842.

9. Miralles R.M., Petit J., Gine L., Balaguero L. Metastatic cancer spread at the laparoscopic puncture site. Report of a case in a patient with carcinoma of the ovary. *Case Report. Eur. J. Gynaecol. Oncol.* 1989. V. 10. P. 442–444.

10. Bronisz A., Godlewski J., Chiocca E.A. Extracellular Vesicles and MicroRNAs: Their Role in Tumorigenicity and Therapy for Brain Tumors. *Cell Mol. Neurobiol.* 2016. V. 36(3). P. 361–376. DOI: 10.1007/s10571-015-0293-4.

11. Tay Y., Rinn J., Pandolfi P. The multilayered complexity of ceRNA crosstalk and

competition. *Nature*. 2014. V. 505. P. 344–352. DOI: 10.1038/nature12986.

12. Zhao H., Kuang L., Feng X., Zou Q., Wang L. A Novel Approach Based on a Weighted Interactive Network to Predict Associations of MiRNAs and Diseases. *Int. J. Mol. Sci.* 2018. V. 20(1). P. 110. DOI: 10.3390/ijms20010110.

13. Zou Q., Li J., Song L., Zeng X., Wang G. Similarity computation strategies in the microRNA-disease network: A survey. *Brief. Funct. Genom.* 2016. V. 15. P. 55. DOI: 10.1093/bfpg/elv024.

14. Zhang S., Lu Z., Unruh A.K., Ivan C., Baggerly K.A., Calin G.A., Li Z., Bast R.C. Jr, Le X.F. Clinically relevant microRNAs in ovarian cancer. *Mol. Cancer Res.* 2015. V. 13(3). P. 393-401. DOI: 10.1158/1541-7786.MCR-14-0424.

15. Khella H.W., Scorilas A., Mozes R., Mirham L., Lianidou E., Krylov S.N., Lee J.Y., Ordon M., Stewart R., Jewett M.A. Low expression of miR-126 is a prognostic marker for metastatic clear cell renal cell carcinoma. *Am. J. Pathol.* 2015. V. 185. P. 693–703. DOI: 10.1016/j.ajpath.2014.11.017.

16. Nan D., Wu H., Tao T., Peng E. NEAT1 regulates cell proliferation and apoptosis of ovarian cancer by miR-34a-5p/BCL2. *Oncotargets Ther.* 2017. V. 10. P. 4905–4915. DOI: 10.2147/OTT.S142446.

17. Kozomara A., Griffiths-Jones S. miRBase: annotating high confidence microRNAs using deep sequencing data. *Nucleic Acids Res.* 2014. V. 42. P. D68–73. DOI: 10.1093/nar/gkt1181.

18. Cosar E., Mamillapalli R., Ersoy G.S., Cho S., Seifer B., Taylor H.S. Serum microRNAs as diagnostic markers of endometriosis: A comprehensive array-based analysis. *Fertil. Steril.* 2016. V. 106. P. 402–409. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2016.04.013 .

19. Detassis S., Grasso M., Del Vescovo V., Denti M.A. microRNAs Make the Call in Cancer Personalized Medicine. *Front. Cell Dev. Biol.* 2017. V. 5. P. 86. DOI: 10.3389/fcell.2017.00086.

20. Makarova J.A., Shkurnikov M.U., Wicklein D., Lange T., Samatov T.R., Turchinovich A., Tonevitsky A.G. Intracellular and extracellular microRNA: An update on localization and biological role. *Progress in histochemistry and cytochemistry.* 2016. V. 51 (3-4). P. 33-49. DOI: 10.1016/j.proghi.2016.06.001.

21. Neviani P., Fabbri M. Exosomal microRNAs in the tumor microenvironment. *Front. Med.* 2015. V. 2. P. 47. DOI: 10.3389/fmed.2015.00047.

22. Guzman N., Agarwal K., Asthagiri D., Yu L., Saji M., Ringel M.D., Paulaitis M.E. Breast Cancer-Specific miR Signature Unique to Extracellular Vesicles Includes "microRNA-like" tRNA Fragments. *Mol. Cancer Res.* 2015. V. 13(5). P. 891-901. DOI: 10.1158/1541-7786.MCR-14-0533.

23. Nakamura K., Sawada K., Yoshimura A., Kinose Y., Nakatsuka E., Kimura T. Clinical relevance of circulating cell-free microRNAs in ovarian cancer. *Mol. Cancer.* 2016. V. 15(1). P. 48.

DOI: 10.1186/s12943-016-0536-0.

24. Kinose Y., Sawada K., Nakamura K., Kimura T. The Role of MicroRNAs in Ovarian Cancer. Hindawi Publishing Corporation. Bio. Med. Research International. 2014. Article ID 249393. 11 p. DOI: 10.1155/2014/249393.
25. Wang Z.H., Xu C.J. Research Progress of MicroRNA in Early Detection of Ovarian Cancer. Chin. Med. J. (Engl). 2015. V. 128(24). P. 3363–3370. DOI: 10.4103/0366-6999.171459.
26. Szajnik M., Czystowska-Kuźmierz M., Elishaev E., Whiteside T.L. Biological markers of prognosis, response to therapy and outcome in ovarian carcinoma. Expert Rev. Mol. Diagn. 2016. V. 16(8). P. 811–826. DOI: 10.1080/14737159.2016.1194758.
27. Wang Y.K., Bashashati A., Anglesio M.S., Cochrane D.R., Grewal D.S., Ha G., McPherson A., Horlings H.M., Senz J., Prentice L.M., Karnezis A.N., Lai D., Aniba M.R., Zhang A.W., Shumansky K., Siu C., Wan A., McConechy M.K., Li-Chang H., Tone A., Provencher D., de Laurantaye M., Fleury H., Okamoto A., Yanagida S., Yanaihara N., Saito M., Mungall A.J., Moore R., Marra M.A., Gilks C.B., Mes-Masson A.M., McAlpine J.N., Aparicio S., Huntsman D.G., Shah S.P. Genomic consequences of aberrant DNA repair mechanisms stratify ovarian cancer histotypes. Nat. Genet. 2017. V. 49(6). P. 856-865. DOI: 10.1038/ng.3849.
28. Kevin M. Elias, Wojciech Fendler, Konrad Stawiski, Stephen J. Fiascone, Allison F. Vitonis, Ross S. Berkowitz, Gyorgy Frendl, Panagiotis Konstantinopoulos, Christopher P. Crum, Magdalena Kedzierska, Daniel W. Cramer, Dipanjan Chowdhury. Diagnostic potential for a serum miRNA neural network for detection of ovarian cancer. eLife 2017. V. 6. P. e28932. DOI: 10.7554/eLife.28932.
29. Prahm K.P., Novotny G.W., Hogdall C., Hogdall E. Current status on microRNAs as biomarkers for ovarian cancer. APMIS. 2016. V. 124(5). P. 337–355. DOI: 10.1111/apm.12514.
30. Pal M.K., Jaiswar S.P., Dwivedi V.N., Tripathi A.K., Dwivedi A., Sankhwar P. MicroRNA: a new and promising potential biomarker for diagnosis and prognosis of ovarian cancer. Cancer Biol Med. 2015. V. 12(4). P. 328–341. DOI: 10.7497/j.issn.2095-3941.2015.0024.
31. Taylor D.D., Gercel-Taylor C. MicroRNA signatures of tumor-derived exosomes as diagnostic biomarkers of ovarian cancer. Gynecol. Oncol. 2008. V. 110. P. 13–21. DOI: 10.1016/j.ygyno.2008.04.033.
32. Zhou J., Gong G., Tan H., Dai F., Zhu X., Chen Y., Wang J., Liu Y., Chen P., Wu X., Wen J. Urinary microRNA-30a-5p is a potential biomarker for ovarian serous adenocarcinoma. Oncology reports. 2015. V. 33(6). P. 2915–2923. DOI: 10.3892/or.2015.3937.
33. Zuberi M., Mir R., Das J., Ahmad I., Javid J., Yadav P., Masroor M., Ahmad S., Ray P. C., Saxena, A. Expression of serum miR-200a, miR-200b, and miR-200c as candidate biomarkers in epithelial ovarian cancer and their association with clinicopathological features. Clinical &

translational oncology : official publication of the Federation of Spanish Oncology Societies and of the National Cancer Institute of Mexico. 2015. V. 17(10). P. 779–787. DOI: 10.1007/s12094-015-1303-1.

34. Kapetanakis N., Uzan C., Jimenez-Pailhes A., Gouy S., Bentivegna E., Morice P., Caron O., Gourzones-Dmitriev C., Teuff G. Le, Busson P. Plasma miR-200b in ovarian carcinoma patients: distinct pattern of pre/post-treatment variation compared to CA-125 and potential for prediction of progression-free survival. *Oncotarget*. 2015. V. 6. P. 36815-36824.
35. Meng X., Joesse S. A., Müller V., Trillsch F., Milde-Langosch K., Mahner S., Geffken M., Pantel K., Schwarzenbach, H. Diagnostic and prognostic potential of serum miR-7, miR-16, miR-25, miR-93, miR-182, miR-376a and miR-429 in ovarian cancer patients. *British journal of cancer*. 2015. V. 113(9). P. 1358–1366. DOI: 10.1038/bjc.2015.340.
36. Wang X., Kong D., Wang C., Ding X., Zhang Li, Zhao M., Chenb J., Xu X., Hu X., Yang J., Shegan Gao S. Circulating microRNAs as novel potential diagnostic biomarkers for ovarian cancer: a systematic review and updated meta-analysis. *J. Ovarian Res.*2019. V. 12. P. 24. DOI: 10.1186/s13048-019-0482-8.
37. Chung Y.W., Bae H.S., Song J.Y., Lee J.K., Lee N.W., Kim T., Lee K.W. Detection of microRNA as novel biomarkers of epithelial ovarian cancer from the serum of ovarian cancer patients. *Int. J. Gynecol. Cancer*. 2013. V. 23. P. 673–679. DOI: 10.1097/IGC.0b013e31828c166d.
38. Liang H., Jiang Z., Xie G., Lu Y. Serum microRNA-145 as a novel biomarker in human ovarian cancer. *Tumour. Biol*. 2015. V. 36. P. 5305–5313. DOI: 10.1007/s13277-015-3191-y.
39. Szajnik M., Czystowska-Kuźmicz M., Elishaev E., Whiteside T.L. Biological markers of prognosis, response to therapy and outcome in ovarian carcinoma. *Expert Rev. Mol. Diagn*. 2016. V. 16(8). P. 811–826. DOI: 10.1080/14737159.2016.1194758.
40. Yokoi A., Matsuzaki J., Yamamoto Y., Yoneoka Y., Takahashi K., Shimizu H., Uehara T., Ishikawa M., Ikeda S., Sonoda T., Kawauchi J., Takizawa S., Aoki Y., Niida S., Sakamoto H., Kato K., Kato T., Ochiya T. Integrated extracellular microRNA profiling for ovarian cancer screening. *Nature Communications*. 2018. V. 9. DOI: 10.1038/s41467-018-06434-4.
41. Zheng H., Zhang L., Zhao Y., Yang D., Song F., Wen Y., Hao Q., Hu Z., Zhang W., Chen K. Plasma miRNAs as diagnostic and prognostic biomarkers for ovarian cancer. *PLoS One*. 2013. V. 8(11). P. e77853. DOI: 10.1371/journal.pone.0077853.
42. Murtaza M., Dawson S.J., Pogrebnik K., Rueda O.M., Provenzano E., Grant J., Chin S.F., Tsui D.W.Y., Marass F., Gale D., Ali H.R., Shah P., Contente-Cuomo T., Farahani H., Shumansky K., Kingsbury Z., Humphray S., Bentley D., Shah S.P., Wallis M., Rosenfeld N., Caldas C. Multifocal clonal evolution characterized using circulating tumour DNA in a case of metastatic breast cancer. *Nat. Commun*. 2015. V. 6. P. 8760. DOI: 10.1038/ncomms9760.

43. Moga M.A., Bălan A., Dimienescu O.G., Burtea V., Dragomir R.M., Anastasiu C.V. Circulating miRNAs as Biomarkers for Endometriosis and Endometriosis-Related Ovarian Cancer-An Overview. *J. Clin. Med.* 2019. V. 8(5). P. 735. DOI: 10.3390/jcm8050735.
44. Matsuzaki J., Ochiya T. Circulating microRNAs and extracellular vesicles as potential cancer biomarkers: a systematic review. *Int. J. Clin. Oncol.* 2017. V. 22. P. 413–420. DOI: 10.1007/s10147-017-1104-3/.
45. Weiland M., Gao X.H., Zhou L., Mi O.C. Small RNAs have a large impact. *RNA Biology.* 2012. V. 9:6. P. 850-859, DOI: 10.4161/rna.20378.
46. Zhou W., Fong M.Y., Min Y., Somlo G., Liu L., Palomares MR. Yu, Yang C., Amy O'C., Sean T. F., Chin A.R., Yen Y., Wang Y., Marcusson E.G., Chu P., Wu J., Wu X., Li A.X., Li Z., Gao H., Ren X., Boldin M.P., Lin P.C., Wang S.E. Cancer-Secreted miR-105 destroys vascular endothelial barriers to promote metastasis. *Cancer Cell.* 2014. V. 25(4). P. 501-515. DOI: 10.1016/j.ccr.2014.03.007.
47. Le M.T., Hamar P., Guo C., Basar E., Perdigão-Henriques R., Balaj L., Lieberman J. miR-200-containing extracellular vesicles promote breast cancer cell metastasis. *J. Clin Invest.* 2014. V. 124(12). P. 5109-5128. DOI: 10.1172/JCI75695.