

Для цитирования: Сайткулова М.М., Брызгунова О.Е., Остальцев И.А., Пак С.В., Лактионов П.П., Коношенко М.Ю. Внеклеточные микроРНК мочи как источник маркеров кастрационно-резистентного рака предстательной железы. Сибирский онкологический журнал. 2025; 24(4): 82–92. – doi: 10.21294/1814-4861-2025-24-4-82-92  
For citation: Saitkulova M.M., Bryzgunova O.E., Ostaltsev I.A., Pak S.V., Laktionov P.P., Konoshenko M.Yu. Urinary extracellular miRNAs as potential biomarkers for castration-resistant prostate cancer. Siberian Journal of Oncology. 2025; 24(4): 82–92. – doi: 10.21294/1814-4861-2025-24-4-82-92

## ВНЕКЛЕТОЧНЫЕ микроРНК МОЧИ КАК ИСТОЧНИК МАРКЕРОВ КАСТРАЦИОННО-РЕЗИСТЕНТНОГО РАКА ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

М.М. Сайткулова<sup>1</sup>, О.Е. Брызгунова<sup>1</sup>, И.А. Остальцев<sup>2</sup>, С.В. Пак<sup>2</sup>,  
П.П. Лактионов<sup>1</sup>, М.Ю. Коношенко<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН «Институт химической биологии и фундаментальной медицины» Сибирского отделения  
Российской академии наук

Россия, 630090, г. Новосибирск, пр. Ак. Лаврентьева, 8

<sup>2</sup>ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр им. акад. Е.Н. Мешалкина»  
Минздрава России

Россия, 630055, г. Новосибирск, ул. Речкуновская, 15

### Аннотация

**Актуальность.** Кастрационно-резистентный рак предстательной железы (КРРПЖ) – высокоагрессивное онкологическое заболевание, плохо поддающееся лечению. Поиск маркеров развития КРРПЖ на ранних сроках для своевременной коррекции терапевтической тактики и их дальнейшего исследования в качестве возможных мишеней для новых видов терапии КРРПЖ является актуальной задачей современных молекулярной биологии и медицины. В качестве таких маркеров могут служить внеклеточные микроРНК, ассоциированные с развитием как РПЖ в целом, так и КРРПЖ в частности. **Цель исследования** – провести сравнительный анализ экспрессии 14 микроРНК в составе супернатанта мочи больных гормоночувствительным РПЖ (ГЧРПЖ), КРРПЖ и доноров (Д). **Материал и методы.** Анализ выполнен с помощью ОТ-ПЦР в реальном времени. Для поиска диагностических сигнатур экспрессии микроРНК использован метод попарной нормализации. **Результаты.** Выявлены 29 дифференциально экспрессированных пар микроРНК. При этом miRNA-375 входит в состав наибольшего числа (а именно, семи) диагностически значимых пар. Самыми большими значениями чувствительности и специфичности при диагностике КРРПЖ и использовании в качестве контрольной группы как больных ГЧРПЖ, так и объединенной группы Д и больных ГЧРПЖ характеризовались 3 пары микроРНК (miRNA-144/222; 205/375; 222/125). **Заключение.** Полученные результаты свидетельствуют о том, что оценка относительной экспрессии внеклеточных микроРНК мочи имеет значительный потенциал для диагностики такой тяжелой формы РПЖ, как кастрационно-рефрактерная.

**Ключевые слова:** рак предстательной железы, кастрационно-резистентный рак предстательной железы, внеклеточные микроРНК, диагностика, жидкостная биопсия.

## URINARY EXTRACELLULAR miRNAs AS POTENTIAL BIOMARKERS FOR CASTRATION-RESISTANT PROSTATE CANCER

M.M. Saitkulova<sup>1</sup>, O.E. Bryzgunova<sup>1</sup>, I.A. Ostaltsev<sup>2</sup>, S.V. Pak<sup>2</sup>, P.P. Laktionov<sup>1</sup>,  
M.Yu. Konoshenko<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, Siberian Branch  
of the Russian Academy of Sciences

8, Lavrentiev Ave., Novosibirsk, 630090, Russia

<sup>2</sup>National Medical Research Center named after ak. E.N. Meshalkin, Ministry of Health of Russia  
15, Rechkunovskaya St., Novosibirsk, 630055, Russia

### Abstract

**Background.** Castration-resistant prostate cancer (CRPC) is a highly aggressive and challenging-to-treat cancer. The search for markers to predict early CRPC for timely treatment adjustments and further study of these markers as potential targets for new CRPC therapies is a crucial task in modern molecular biology and medicine. Extracellular miRNAs show promise as diagnostic and prognostic markers for prostate cancer (PC) and particular for CRPC. **Aim of the study:** a comparative analysis of the expression of 14 miRNAs in the urine supernatant of patients with hormone-sensitive prostate cancer (HSPC), CRPC, and donors (D). **Material and Methods.** The analysis was conducted using the real-time qPCR. A pairwise normalization method was used to search for diagnostic miRNA expression signatures. **Results.** Twenty-nine differentially expressed pairs of miRNAs were identified. In this case, miRNA-375 was included in the largest number (n=7) of diagnostically significant pairs. Three miRNA pairs (miRNA-144/222; 205/375; 222/125) showed the highest sensitivity and specificity in diagnosing CRPC when using both HSPC patients alone and the combined group of donors and HSPC patients as the control group. **Conclusion.** The results obtained indicate that the assessment of the relative expression of urinary extracellular miRNAs has a significant potential for diagnosing highly aggressive castration-resistant prostate cancer.

**Key words:** prostate cancer, castration-resistant prostate cancer, extracellular microRNAs, diagnosis, liquid biopsy.

### Введение

Одним из наиболее распространенных злокачественных новообразований у мужчин является рак предстательной железы (РПЖ), в 2020 г. в мире диагностировано 1 414 259 случаев РПЖ, что составляет 7,3 % в общей структуре онкологических заболеваний [1]. При локальной форме РПЖ благодаря современным методам лечения достигается 100 % опухолеспецифическая 5-летняя выживаемость, однако в случае распространенного процесса она составляет всего 32 % [2]. Рак предстательной железы обладает весьма скудной симптоматикой и может проявляться неспецифическими симптомами, что затрудняет своевременную диагностику, 16,4 % пациентов на момент выявления заболевания уже имеют распространенный РПЖ [3].

В лечении РПЖ, и метастатического РПЖ в частности, применяют андрогенную депривацию (АД) – около 50 % пациентов с РПЖ получают гормонотерапию на разных этапах лечения [4]. Такая терапия снижает уровень тестостерона на 95 %, что замедляет рост опухоли, однако не является куративным методом, направленным на

элиминацию раковых клеток, и при длительном применении приводит к селективной пролиферации андроген-независимых клеток и возникновению кастрационно-резистентного РПЖ (КРРПЖ) [5]. Кастрационно-резистентный РПЖ является предиктором резкого ухудшения течения заболевания: опухоль быстрее растет и метастазирует, перестает реагировать на текущую терапию и плохо поддается лечению. Медиана выживаемости пациентов с КРРПЖ составляет 8–45 мес [6, 7].

Для постановки диагноза КРРПЖ необходимо соответствие клинико-лабораторной картины трем критериям: кастрационные значения тестостерона в сыворотке крови <50 нг/дл; три последовательных повышения уровня ПСА с разницей в 1 нед, с увеличением на 50 % в двух измерениях от надира (минимальный уровень ПСА после лечения), при уровне ПСА >2,0 нг/мл (биохимическое прогрессирование); появление новых очагов – два и более новых очага в костной ткани или очаг в мягких тканях, согласно критериям RECIST (рентгенологическое прогрессирование). Диагностика на этапе трансформации клеточного состава опухоли, а не клинико-лабораторной картины уже развившейся

кастрационной устойчивости (как фактического результата этого изменения) позволила бы на более ранних сроках скорректировать терапевтическую тактику, повысить ее эффективность и, как следствие, снизить показатели смертности. Однако высокоспецифичных ранних маркеров, отражающих прогрессирование заболевания, пока не разработано.

Более 15 лет научное сообщество уделяет особое внимание изучению микроРНК в качестве потенциальных маркеров онкологических процессов. Известно, что микроРНК вовлечены в развитие РПЖ: они участвуют в регуляции таких ключевых механизмов, как клеточный рост, регуляция клеточного цикла, пролиферация, апоптоз и др. Более того, исследования, посвященные изучению клеточных линий, моделирующих развитие КРРПЖ, демонстрируют изменение профиля экспрессии микроРНК при прогрессировании заболевания до КР [8].

Поскольку переходная зона предстательной железы включает в себя выводные протоки, открывающиеся в мочеиспускательный канал, то и внеклеточные микроРНК, секретлируемые клетками опухоли и ее окружения, могут диффундировать в мочу напрямую, минуя кровеносное русло. Таким образом, из-за особенностей анатомии можно использовать внеклеточные микроРНК мочи в качестве источника диагностических маркеров РПЖ и КРРПЖ в частности. В настоящем исследовании выполнен анализ 14 микроРНК с целью поиска aberrантно экспрессированных при КРРПЖ

микроРНК, обладающих диагностическим потенциалом для раннего обнаружения КРРПЖ. Как было показано ранее в наших исследованиях [9, 10] и работах других авторов [11–13], экспрессия этих 14 микроРНК в биологических жидкостях больных РПЖ отличается от таковой в крови здоровых доноров, а сами микроРНК вовлечены в развитие РПЖ и в механизмы андрогенной регуляции роста опухоли. В представленной работе выполнен сравнительный анализ экспрессии микроРНК в составе супернатанта мочи больных гормоночувствительным РПЖ (ГЧРПЖ), КРРПЖ и доноров, а также выбраны потенциальные микроРНК-маркеры КРРПЖ.

**Цель исследования** – провести сравнительный анализ экспрессии 14 микроРНК в составе супернатанта мочи больных гормоночувствительным РПЖ (ГЧРПЖ), КРРПЖ и доноров (Д).

**Материал и методы**

Образцы мочи (табл. 1) доноров получены из отделения переливания крови, пациентов с ГЧРПЖ и КРРПЖ – из радиологического отделения Национального медицинского исследовательского центра имени ак. Е.Н. Мешалкина (Новосибирск, Россия), по 22 человека в каждой группе. Критериями включения в выборку являются: возраст от 45 лет, уровень ПСА в рамках референсных значений, отсутствие жалоб как на мочеполовую систему, так и на онкологические заболевания любых локализаций (для группы Д), гистологически подтвержденный РПЖ (для пациентов с РПЖ) и

Таблица 1/Table 1

**Характеристика сравниваемых групп  
Characteristics of study groups**

Сравниваемые группы/Study groups		Д/Д (n=22)	ГЧРПЖ/ HSPC (n=22)	КРРПЖ/ CRPC (n=22)
Возраст, лет/ Age, years	Среднее/Mean	53,1 ± 5,1	62,7 ± 7,7	67 ± 8,7
	Диапазон/Range	46–62	48–74	45–80
Общий ПСА, нг/мл/Total PSA, ng/ml		0,9 ± 0,6	9,8 ± 4,5	25,2 ± 12,8
Стадия РПЖ/ PC stage	T1a–cN0M0	–	54,5 %	–
	T2a–cN0M0	–	36,4 %	31,8 %
	T2a–cN0M1	–	–	4,5 %
	T3a–bN0M0	–	9,1 %	18,2 %
	T3a–bN0M1	–	–	22,8 %
	T3a–bN1M0	–	–	4,5 %
	T3a–bN1M1	–	–	4,5 %
	T4N1M1	–	–	13,7 %
Индекс Глисона/ Gleason	4	–	–	4,5 %
	5	–	–	4,5 %
	6	–	77,3 %	18,2 %
	7	–	18,2 %	36,4 %
	8	–	4,5 %	27,3 %
	9	–	–	9,1 %

Примечания: КРРПЖ – кастрационно-рефрактерный рак предстательной железы; ГЧРПЖ – гормоночувствительный рак предстательной железы; Д – здоровые доноры; таблица составлена авторами.

Notes: CRPC – castration-resistant prostate cancer; HSPC – hormone-sensitive prostate cancer, D – healthy donors; created by the authors.

клиническо-лабораторно подтвержденный КРРПЖ (для пациентов с КРРПЖ). Постановка диагноза КРРПЖ основывалась на повышении ПСА более чем на 50 % от наименьшего уровня, зарегистрированного трижды с интервалом в 1–2 нед при кастрационном уровне тестостерона ( $\leq 20$  нг/дл), появлении новых очагов усиленного контрастирования на КТ или других методах (МРТ, ПЭТ/КТ, сцинтиграфия костей), указывающих на рост или появление метастазов, и отсутствии реакции на гормональную терапию при сохранении кастрационного уровня тестостерона.

Образцы мочи центрифугировали при комнатной температуре в течение 20 мин с ускорением 400 g (центрифуга MLW K70D) для осаждения клеток. Отбирали супернатант, осаждали клеточный дебрис центрифугированием при 24 °C в течение 20 мин с ускорением 17 000g (Eppendorf Centrifuge 5810 R). Из полученной бесклеточной фракции мочи выделяли микроРНК методом осаждения биополимеров в присутствии октановой кислоты (Sigma Life Science, США),  $\beta$ -меркаптоэтанолола (PanReac AppliChem, Германия), гуанидин изотиоцианата (Sigma-Aldrich, США), с последующей сорбцией/элюцией микроРНК на микроколонки со стекловолнистым сорбентом (ООО «Био-Силика», Россия). Синтетическую cel-miR-39-3p добавляли в образцы в качестве spike-in контроля из расчета  $5 \times 10^7$  копий на выделение после добавления денатурационного буфера.

Относительную экспрессию 14 различных микроРНК оценивали в двух постановках (сетях) методом петлевой ОТ-TagMan ПЦР, как описано ранее [10]. В 1-й постановке анализировали miR-19b, -30e, -31, -92a, -125b, -200b, -205a, -375, -660, во 2-й – miR-19b, -22, -30e, -125b, -144, -222, -378, -425. Для оценки уровня экспрессии были рассчитаны значения dCt (разница пороговых циклов) и ddCt (разница средних значений между исследуемыми группами) каждой пары микроРНК внутри каждого сета (всего 61 пара микроРНК). Значения Ct контрольной cel-miR-39 составляли  $25 \pm 0,5$ .

Распределение значений dCt оценивали с использованием теста Шапиро–Уилкса. При условии нормального распределения данных их анализировали с использованием однофакторной ANOVA, с последующим попарным сравнением с использованием теста Тьюки–Крамера с поправкой на множественные сравнения Тьюки. Влияние фактора на переменные, распределение которых отличалось от нормального, оценивали при помощи критерия Краскал–Уоллиса, с последующим попарным сравнением с помощью теста Данна с поправкой Бенджамини–Хохберга. Чувствительность и специфичность каждой диагностически значимой пары микроРНК оценены с помощью ROC-анализа. Статистический анализ данных выполнен в среде R.

## Результаты

Рабочий диапазон пороговых циклов (Ct) ПЦР составил 23–38. Отрицательный контроль, в качестве которого использовали стерилизованную очищенную дистиллированную воду, не давал сигнала или отличался минимум на 3 цикла от максимального. Все представленные данные были получены с использованием образцов РНК, значения Ct которых находились в пределах рабочего диапазона систем.

Статистический анализ выявил влияние фактора диагноза на относительную экспрессию в моче 29 пар микроРНК (табл. 2). Среди них относительная экспрессия 11 пар (miR-31/375, -92a/375, -125b/375, 200b/205, -200b/660, -205/375, -660/375, -144/222, 222/30e, -222/425, -222/125b) достоверно отличалась между группой КРРПЖ и обеими контрольными группами; экспрессия 3 пар (miR-30e/200b, -30e/375, 19b/222) достоверно отличалась между группой доноров и обеими группами пациентов; 2 пар – между больными ГЧРПЖ и КРРПЖ, а также между ГЧРПЖ и Д; 5 пар – только между группами КРРПЖ и ГЧРПЖ; 6 пар – только между группами КРРПЖ и Д; 2 пар – только между группами ГЧРПЖ и Д.

Из данных табл. 2 видно, что miRNA-375 входит в состав наибольшего количества диагностически значимых пар микроРНК – при ее участии сформировано 7 таких пар, и по 5 дифференциально-экспрессированных пар сформировано с участием miRNA-19b, -30e, -125b, -200b, -205, -222. Примеры дифференциально-экспрессированных микроРНК, их распределение в группах приведены на рис. 1.

Для ROC-анализа (рис. 2) данных относительной экспрессии пар микроРНК больных с КРРПЖ в качестве контрольных групп выступали: группа больных ГЧРПЖ и объединенная группа доноров и больных ГЧРПЖ. Использование двух типов контрольных групп обусловлено необходимостью диагностики КРРПЖ на двух разных этапах ведения больного РПЖ – при постановке первичного диагноза и при мониторинге развития КРРПЖ на фоне лечения. Значения чувствительности, специфичности и площади под кривой (AUC) дифференциально-экспрессированных пар микроРНК представлены в табл. 3. AUC большинства диагностически значимых пар составила больше 0,7, пары, значение AUC для которых превышало 0,8, выделены серым цветом.

## Обсуждение

Внеклеточные микроРНК мочи представляют собой пул перспективных диагностических маркеров, в частности для диагностики РПЖ [10, 12, 13]. Однако потенциал внеклеточных микроРНК как маркеров развития КРРПЖ остается малоизученным. В настоящей работе выполнено сравнительное исследование относительных уровней экспрессии 14 внеклеточных микроРНК мочи у пациентов с ГЧРПЖ и КРРПЖ, а также доноров.

Таблица 2/Table 2

**Средние значения ddCt для дифференциально-экспрессированных пар микроРНК в бесклеточной фракции мочи больных КРРПЖ и ГЧРПЖ, а также здоровых доноров**  
**Mean ddCt values for differentially expressed pairs of microRNAs in the cell-free fraction of urine from patients with CRPC and HSPC, as well as healthy donors**

Пара микроРНК/ miRNA pair	ddCt КРРПЖ – ГЧРПЖ/ ddCt CRPC – HSPC	ddCt КРРПЖ – Д/ ddCt CRPC – D	ddCt ГЧРПЖ – Д/ ddCt HSPC – D
19b/30e			-1,7*
19b/144	-3,0*		
19b/205		2,4**	
19b/222		1,7*	1,1*
19b/375		-2,5*	
22/144	-2,4***	-1,8*	
22/125b	-4,1***		2,4**
30e/31			-1,1*
30e/200b		-1,7*	-1,0*
30e/375		-3,7***	-2,0***
31/205		1,5*	
31/375	-2,5**	-3,5***	
92a/200b		-1,4*	
92a/205		1,4*	
92a/375	-2,2**	-3,5****	
125b/375	-2,2*	-4,2****	
144/222	3,5****	3,0***	
144/425	2,3*		
200b/205	2,2*	2,8****	
200b/375		-2,1*	
200b/660	1,7*	1,7*	
205/375	-3,3***	-4,9****	
222/30e	-2,1**	-1,7**	
222/125b	-5,3****	-3,7**	
222/378	-1,46*		
222/425	-1,1*	-1,6**	
378/125b	-4,3*		
425/125b	-4,1***		2,0***
660/375	-2,7**	-3,7****	

Примечания: КРРПЖ – кастрационно-рефрактерный рак предстательной железы; ГЧРПЖ – гормоночувствительный рак предстательной железы; Д – здоровые доноры, попарные сравнения согласно критериям Тьюки и Данна: \* – p<0,05; \*\* – p<0,01; \*\*\* – p<0,001; \*\*\*\* – p<0,0001; таблица составлена авторами.

Notes: CRPC – castration-resistant prostate cancer; HSPC – hormone-sensitive prostate cancer; D – healthy donors, pairwise comparisons according to Tukey’s and Dunn’s criteria: \* – p<0.05; \*\* – p<0.01; \*\*\* – p<0.001; \*\*\*\* – p<0.0001; created by the authors.

Для нормировки данных был использован метод попарной нормализации [14], который позволяет находить более устойчивые диагностически значимые маркеры на основе микроРНК, поскольку единого эффективного нормализатора для них до настоящего времени не было найдено. В то же время попарная нормализация при использовании достаточно большого набора микроРНК несколько затрудняет анализ биологической значимости наблюдаемых различий, поскольку оценивает относительную экспрессию сразу 2 микроРНК. Об онкогенной или онкосупрессорной роли исследуемых микроРНК можно судить по направлению межгрупповых различий относительной экспрессии набора отношений, то есть если ряд дифференциально-экспрессированных пар

микроРНК содержит исследуемую микроРНК и характеризуется однонаправленными различиями.

Выявлено 17 пар микроРНК, относительная экспрессия которых в бесклеточной фракции мочи больных КРРПЖ отличалась от таковой у больных ГЧРПЖ, и 20 пар микроРНК, относительная экспрессия которых у больных КРРПЖ отличалась от таковой у здоровых доноров. В то же время относительная экспрессия лишь 7 исследованных пар микроРНК отличалась между группой Д и больных ГЧРПЖ. Более того, различия лишь 3 из этих пар микроРНК характеризовались значениями p<0,01. Это подтверждает полученные нами ранее данные о том, что бесклеточная фракция мочи содержит лишь ограниченное количество диагностически значимых микроРНК [10], а также свидетельствует

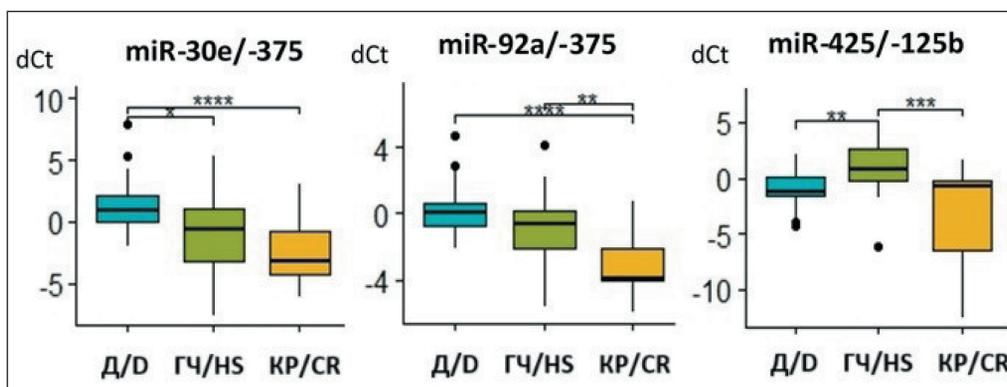


Рис. 1. Примеры пар микроРНК, относительная экспрессия которых достоверно различается в бесклеточной фракции мочи исследованных групп. Приведены значения dCt. Попарные сравнения согласно критериям Тьюки и Данна: \* –  $p < 0,05$ , \*\* –  $p < 0,01$ , \*\*\* –  $p < 0,001$ , \*\*\*\* –  $p < 0,0001$ . Примечания: КРРПЖ – кастрационно-рефрактерный рак предстательной железы; ГЧРПЖ – гормоночувствительный рак предстательной железы; Д – доноры; рисунок выполнен авторами

Fig. 1. Examples of microRNA pairs whose relative expression significantly differs in the cell-free urine fraction of the researched groups. The values of  $\Delta Ct$  are given. Pairwise comparisons according to the criteria of Tukey and Dunn: \* –  $p < 0,05$ , \*\* –  $p < 0,01$ , \*\*\* –  $p < 0,001$ , \*\*\*\* –  $p < 0,0001$ .

Notes: CRPCa – castration resistant prostate cancer; HSPCa – hormone sensitive prostate cancer; D – donors; created by the authors

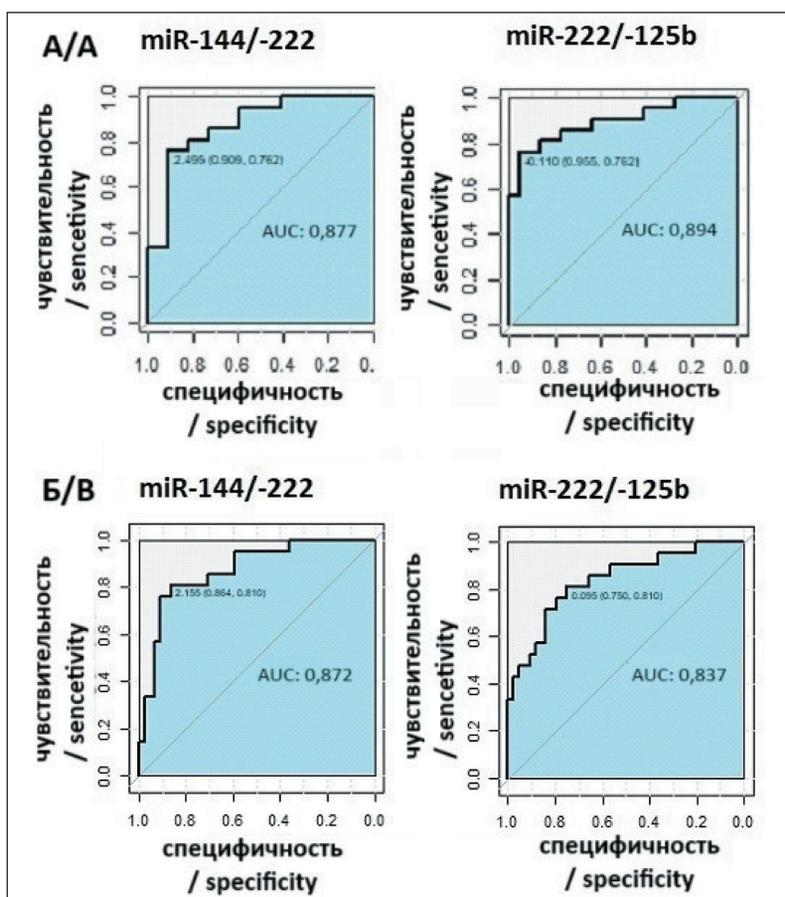


Рис. 2. ROC-анализ относительной экспрессии пар микроРНК бесклеточной фракции мочи больных КРРПЖ, характеризующихся наибольшими AUC.

А – больные ГЧРПЖ в качестве контрольной группы; Б – объединенная группа Д и больных ГЧРПЖ в качестве контрольной группы.

Примечания: КРРПЖ – кастрационно-рефрактерный рак предстательной железы; ГЧРПЖ – гормоночувствительный рак предстательной железы; Д – доноры; AUC – область под кривой; рисунок выполнен авторами

Fig. 2. ROC analysis of the relative expression of microRNA pairs of the cell-free fraction of urine of patients with CRPC characterized by the highest AUC.

A – patients with HSPCa as a control group; B – combined group D and patients with HSPCa as a control group. Notes: CRPCa – castration resistant prostate cancer; HSPCa – hormone sensitive prostate cancer; D – donors; AUC – area under curve; created by the authors

о том, что прогрессирование РПЖ в КРРПЖ форму усиливает наблюдаемые различия и потенциально может быть диагностировано с использованием неинвазивного анализа внеклеточных микроРНК мочи.

Полученные в настоящей работе результаты свидетельствуют о том, что относительная экспрессия miRNA-375 (вошедшей в максимальное количество (7) диагностически значимых пар)

снижается в ряду Д – ГЧРПЖ – КРРПЖ. Так, обнаружено достоверное снижение dCt в бесклеточной фракции мочи ГЧРПЖ по сравнению с донорами (miRNA-30e/-375), КРРПЖ – по сравнению с донорами (19b/-375, 30e/-375, 31/-375, 92a/-375, 125b/-375, 200b/-375, 205/-375, 660/-375) и, более того, КРРПЖ – по сравнению с ГЧРПЖ (31/-375, 92a/-375, 125b/-375, 205/-375, 660/-375, табл. 2). Из литературных источников известно, что уровень

**Диагностические характеристики исследуемых пар микроРНК**  
**Diagnostic characteristics of the studied miRNA pairs**

Пара микроРНК/ miRNA pair	Сравнение групп КРРПЖ и ГЧРПЖ/ CRPC vs HSPC			Пара микроРНК/ miRNA pair	Сравнение групп КРРПЖ и ГЧРПЖ/ CRPC vs HSPC		
	Ч/S	С/Sp	AUC		Ч/S	С/Sp	AUC
19/144	95 %	45 %	0,71	22/144	90 %	54 %	0,77
22/144	90 %	63 %	0,81	22/222	90 %	57 %	0,70
22/222	90 %	50 %	0,66	30/205	86 %	52 %	0,68
22/125	76 %	77 %	0,80	30/375	71 %	81 %	0,77
30/205	86 %	45 %	0,69	31/205	81 %	54 %	0,66
31/375	90 %	68 %	0,73	31/375	90 %	82 %	0,83
92/375	81 %	73 %	0,73	92/200	43 %	98 %	0,67
125/375	48 %	86 %	0,69	92/205	76 %	68 %	0,69
144/222	76 %	90 %	0,87	92/375	81 %	84 %	0,82
144/378	90 %	50 %	0,75	125/375	67 %	77 %	0,76
144/425	95 %	59 %	0,77	144/30e	100 %	36 %	0,65
200/205	76 %	68 %	0,74	144/222	81 %	86 %	0,87
200/660	76 %	77 %	0,76	144/378	86 %	50 %	0,69
205/375	95 %	64 %	0,81	144/425	95 %	50 %	0,72
222/425	66 %	7 %	0,69	200/205	76 %	73 %	0,77
222/30	61 %	86 %	0,73	200/660	76 %	75 %	0,74
222/125	80 %	86 %	0,89	200/375	67 %	75 %	0,69
425/30	61 %	90 %	0,83	205/375	95 %	77 %	0,87
378/125	61 %	81 %	0,74	222/378	71 %	61 %	0,70
425/125	76 %	72 %	0,81	222/30	43 %	100 %	0,70
660/375	86 %	59 %	0,76	222/125	81 %	75 %	0,84
19/144	90 %	45 %	0,66	222/425	67 %	82 %	0,74
19/205	68 %	71 %	0,71	425/125	43 %	98 %	0,71
19/375	67 %	73 %	0,71	660/375	86 %	68 %	0,82
22/125b	43 %	95 %	0,71				

Примечания: Ч – чувствительность; С – специфичность; AUC – площадь под кривой; пары микроРНК, значение AUC для которых превышало 0,8, выделены серым цветом; рамкой выделены пары микроРНК, обладающие максимальными диагностическими характеристиками и совпадающие при использовании в качестве контрольных и группы ГЧРПЖ, и объединенной группы Д + ГЧРПЖ; КРРПЖ – кастрационно-рефрактерный рак предстательной железы; ГЧРПЖ – гормоночувствительный рак предстательной железы; Д – здоровые доноры; таблица составлена авторами.

Notes: S – sensitivity; Sp – specificity; AUC – area under the curve; microRNA pairs with an AUC value exceeding 0.8 are highlighted in gray; the frame highlights the pairs of microRNAs that have the highest diagnostic characteristics and coincide when using both the HRPPC group and the combined D + HRPPC group as controls; CRPC – castration-resistant prostate cancer; HSPC – hormone-sensitive prostate cancer; D – healthy donors; created by the authors.

miRNA-375 в тканях РПЖ выше по сравнению со здоровыми, а также выше в экзосомах плазмы крови у больных РПЖ по сравнению с Д и у больных КРРПЖ по сравнению с ГЧРПЖ. Более того, высокий уровень экспрессии miRNA-375 был ассоциирован с высоким значением по шкале Глисона и низкой выживаемостью [15]. Повышение экспрессии miRNA-375 увеличивало экспрессию маркеров эпителиально-мезенхимального перехода (ЭМП) и андрогенового рецептора, но снижало таковую для маркеров апоптоза, приводя к повышенной пролиферации и инвазии [15]. Следует отметить, что источником микроРНК во всех приведенных выше исследованиях служат ткани, плазма или клеточные линии, в то время как в настоящей работе была изучена дифференциальная экспрессия микроРНК в бесклеточной фракции мочи. Из полученных

нами ранее данных [16] и работ других авторов [17, 18] известно, что экспрессия микроРНК в различных биологических жидкостях, тканях и клеточных линиях может значительно различаться даже в пределах одной патологии. Полученные в настоящей работе свидетельства увеличения относительной экспрессии miRNA-375 в бесклеточной фракции мочи подтверждают результаты другого исследования, в котором наблюдались аналогичные результаты при изучении экспрессии miRNA-375 в бесклеточной фракции мочи больных РПЖ и доброкачественной гиперплазией предстательной железы (ДГПЖ) [19].

Относительная экспрессия miRNA-205 (вошедшей в 5 диагностически значимых пар) также повышается при КРРПЖ. Обнаружено достоверное различие dCt в бесклеточной фракции мочи

КРРПЖ по сравнению с донорами (-31/-205, -19b/-205, -92a/-205; -200b/-205; -205/375) и, более того, КРРПЖ по сравнению с ГЧРПЖ (-200b/-205, -222/-425, -222/-30e, табл. 2). Полученные результаты согласуются с более ранним исследованием внеклеточной miRNA-205 мочи в качестве маркера РПЖ, в котором было показано снижение экспрессии этой микроРНК в бесклеточной фракции мочи больных РПЖ по сравнению с больными ДГПЖ и донорами [20]. В нашем исследовании мы выявили различия между КРРПЖ и Д, а также ГЧРПЖ и не обнаружили различий относительной экспрессии miRNA-205 между Д и больными ГЧРПЖ. Наблюдаемые различия между нашей и вышеупомянутой работой могут быть связаны с более ранними стадиями РПЖ, вошедшими в исследуемую группу в нашей работе, по сравнению с работой N. Ghorbanmehr et al. [20], в которой, к сожалению, не были указаны стадии РПЖ, а также же гормональный статус больных. В то же время в исследованиях тканей, линий клеток и плазмы крови продемонстрированы онкосупрессорная роль miRNA-205 и снижение ее экспрессии как в образцах КРРПЖ по сравнению с ГЧ, так и в ГЧРПЖ по сравнению с донорами [21]. Эти данные подтверждают необходимость детального исследования каждого источника микроРНК при изучении их экспрессии, поскольку экстраполяция между источниками разной природы может быть неверной.

Относительная экспрессия miRNA-222 (вошедшей в 5 диагностически значимых пар) повышается в ряду Д – ГЧРПЖ – КРРПЖ. Так, обнаружено достоверное различие dCt в бесклеточной фракции мочи ГЧРПЖ по сравнению с Д (miRNA-19b/-222; -222/-378), КРРПЖ – по сравнению с Д (-19b/-222, 144/-222, -222/-425) и, более того, КРРПЖ – по сравнению с ГЧРПЖ (144/-222, -222/-425, -222/-30e, табл. 2). Это может свидетельствовать об онкогенной роли miRNA-222. Полученные данные подтверждают известные литературные сведения о том, что экспрессия miRNA-222 повышена в линиях клеток РПЖ относительно нормы и в андроген-независимых клетках по сравнению с зависимыми, а ингибирование экспрессии этой микроРНК приводит к снижению уровня пролиферации и миграции, с одной стороны, и усилению апоптоза – с другой [22]. Более того, повышенная экспрессия miRNA-222 [23], а также обработка экзосомами, содержащими эту микроРНК [22], способствовала трансформации клеток в андроген-независимые.

Относительная экспрессия miRNA-200b (вошедшей в 5 диагностически значимых пар) снижается в ряду Д – ГЧРПЖ – КРРПЖ. Так, обнаружено достоверное снижение dCt в бесклеточной фракции мочи ГЧРПЖ по сравнению с донорами (miRNA-30e/-200), КРРПЖ – по сравнению с донорами (miRNA-30e/-200; -92a/-200, -200b/-205,

-200b/-660; -200b/375) и, более того, КРРПЖ – по сравнению с ГЧРПЖ (200b/-205, -200b/-660, табл. 2). Это свидетельствует об онкосупрессорной роли miRNA-200b, что подтверждается известными литературными данными. Так, ранее было показано, что 200b регулирует клеточный цикл, ингибирует ЭМП, клеточный рост, пролиферацию, андроген-независимый рост [24]. Экспрессия miRNA-200b была достоверно ниже как в тканях и клеточных линиях ГЧРПЖ по сравнению с нормальными, так и в тканях КРРПЖ по сравнению с ГЧРПЖ [24]. Повышение экспрессии этой микроРНК снижало пролиферацию и миграцию и усиливало чувствительность клеточных линий РПЖ к доцетакселу [24], что подтверждает возможность использовать анализ экспрессии микроРНК для выбора эффективной терапии.

Согласно полученным результатам, miRNA-19b входит в состав пар (19b/30e; 19b/205; 19b/144; 19b/375; 19/222), характеризующихся разнонаправленными отличиями в группах сравнения Д – ГЧРПЖ – КРРПЖ, что свидетельствует о доминирующей роли других микроРНК в изменении экспрессии этих пар и роли miRNA-19b в качестве нормализатора. Действительно, в литературе имеются неоднозначные свидетельства о роли miRNA-19b в канцерогенезе РПЖ.

В состав перспективных диагностических пар с miRNA-30e входят miRNA-200, -375, -222, каждая из которых, в свою очередь, формирует большое количество диагностических пар (в том числе с  $p < 0,01$ ,  $p < 0,001$  и  $p < 0,0001$ ), что говорит о том, что наблюдаемые различия относительной экспрессии miRNA-30e вносят вклад в меньшей степени и, вероятно, является нормирующей. Исключение составляют пары miRNA-30e/-31 и miRNA-19b/-30e, по которым наблюдались не ярко выраженные ( $0,05 > p > 0,01$ ) достоверные различия между донорами и больными ГЧРПЖ.

Относительная экспрессия 2 пар внеклеточных микроРНК с участием miRNA-125b достоверно отличалась у больных ГЧРПЖ по сравнению как с КРРПЖ, так и с донорами. Более того, между больными КРРПЖ и донорами различий по данным параметрам не обнаружено. Вероятно, это может быть связано с двойкой ролью miRNA-125b: есть данные в пользу как онкогенной [25], так и онкосупрессорной [26] роли miRNA-125b при ГЧРПЖ и КРРПЖ. Возможно, в зависимости от стадии или молекулярно-биологической стадии эволюции опухоли эта микроРНК может играть различную роль.

Как правило, необходимость в диагностике КРРПЖ возникает на этапе, когда пациенту уже поставлен диагноз РПЖ, однако известны случаи так называемого первичного КРРПЖ, к которым относятся новообразования, изначально не реагирующие на гормональное лечение [27]. Для своевременного назначения эффективного лечения диагностику

таких случаев необходимо проводить параллельно с диагностикой РПЖ в целом. В связи с вышесказанным при выполнении ROC-анализа мы использовали два варианта контрольных групп: 1) больные ГЧРПЖ, 2) объединенная группа больных ГЧРПЖ и Д. Результаты анализа ROC-кривых показали, что исследуемые микроРНК обладают значимым диагностическим потенциалом для детекции КРРПЖ в обоих случаях – при имеющемся диагнозе РПЖ и при первичной постановке диагноза. Наилучшими диагностическими характеристиками обладали следующие пары микроРНК (табл. 3):

1) miRNA-144/-222, -205/-375, -222/-125b, -22/-125b, -22/-144, -425/-30e, -425/-125b;

2) miRNA-144/-222, -205/-375, -222/-125b, -31/-375, -92a/-375, -660/-375;

Три пары пересекаются при использовании контрольных групп обоих видов: miRNA-144/222; 205/375; 222/125. Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о значимом вкладе исследованных микроРНК в патогенез РПЖ и КРРПЖ,

в частности, и об их значительном потенциале в качестве неинвазивных маркеров КРРПЖ, а также как возможных мишеней для разработки новых методов терапии этой агрессивной формы РПЖ.

### Заключение

В результате сравнительного исследования относительной экспрессии 14 микроРНК супернатанта мочи больных КРРПЖ и ГЧРПЖ, а также здоровых доноров обнаружены 29 дифференциально-экспрессированных пар микроРНК. Показано, что miRNA-375 входит в наибольшее число (n=7) диагностически значимых пар. С помощью ROC-анализа выявили 3 наиболее значимые для диагностики КРРПЖ пары микроРНК (miRNA-144/222; 205/375; 222/125) при использовании в качестве контрольной группы как больных ГЧРПЖ, так и объединенной группы Д и больных ГЧРПЖ. Таким образом, показано, что оценка относительной экспрессии внеклеточных микроРНК мочи имеет большой потенциал для диагностики КРРПЖ.

### ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Sung H., Ferlay J., Siegel R.L., Laversanne M., Soerjomataram I., Jemal A., Bray F. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin.* 2021; 71(3): 209–49. doi: 10.3322/caac.21660.
2. American Cancer Society. Cancer Facts & Figures 2023. Atlanta: American Cancer Society; 2023. [Internet]. [cited 02.08.2024]. URL: chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://www.cancer.org/content/dam/cancer-org/research/cancer-facts-and-statistics/annual-cancer-facts-and-figures/2023/2023-cancer-facts-and-figures.pdf.
3. Злокачественные новообразования в России в 2021 году (заболеваемость и смертность). Под ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского, А.О. Шахзадовой. М., 2022. 252 с. [Malignant tumors in Russia in 2021 (morbidity and mortality). Ed. by A.D. Kaprin, V.V. Starinsky, A.O. Shakhzadova. Moscow, 2022. 252 p. (in Russian)]. ISBN: 978-5-85502-280-3.
4. Meng M.V., Grossfeld G.D., Sadtisky N., Mehta S.S., Lubeck D.P., Carroll P.R. Contemporary patterns of androgen deprivation therapy use for newly diagnosed prostate cancer. *Urology.* 2002; 60(3): 7–11. doi: 10.1016/s0090-4295(02)01560-1.
5. Русаков И.Г., Грицкевич А.А., Байтман Т.П., Мишугин С.В. Каstrationный уровень тестостерона и гормональная резистентность рака предстательной железы при андрогенной депривации. *Медицинский совет.* 2020; 20: 100–108. [Rusakov I.G., Gritskovich A.A., Baitman T.P., Mishugin S.V. The castration level of testosterone and hormonal resistance of prostate cancer in androgen deprivation therapy. *Medical Council.* 2020; 20: 100–108. (in Russian)]. doi: 10.21518/2079-701X-2020-20-100-108. EDN: VVAHFQ.
6. Khoshkar Y., Westerbergh M., Adolfsson J., Bill-Axelsson A., Olsson H., Eklund M., Akre O., Garmo H., Aly M. Mortality in men with castration-resistant prostate cancer-A long-term follow-up of a population-based real-world cohort. *BJUI Compass.* 2021; 3(2): 173–83. doi: 10.1002/bco.2116.
7. Cornford P., van den Bergh R.C.N., Briers E., van den Broeck T., Brunckhorst O., Darragh J., Eberli D., De Meerleer G., De Santis M., Farolfi A., Gandaglia G., Gillissen S., Grivas N., Henry A.M., Lardas M., van Leenders G.J.L.H., Liew M., Linares Espinos E., Oldenburg J., van Oort I.M., Oprea-Lager D.E., Ploussard G., Roberts M.J., Rouvière O., Schoots I.G., Schouten N., Smith E.J., Stranne J., Wiegel T., Willems P.M., Tilki D. EAU-EANM-ESTRO-ESUR-ISUP-SIOG Guidelines on Prostate Cancer-2024 Update. Part I: Screening, Diagnosis, and Local Treatment with Curative Intent. *Eur Urol.* 2024; 86(2): 148–63. doi: 10.1016/j.eururo.2024.03.027.
8. Chang H.L., Yang L.F., Zhu Y., Yao X.D., Zhang S.L., Dai B., Zhu Y.P., Shen Y.J., Shi G.H., Ye D.W. Serum miRNA-21: elevated levels in patients with metastatic hormone-refractory prostate cancer and potential predictive factor for the efficacy of docetaxel-based chemotherapy. *Prostate.* 2011; 71(3): 326–31. doi: 10.1002/pros.21246.
9. Konoshenko M.Y., Bryzgunova O.E., Laktionov P.P. miRNAs and androgen deprivation therapy for prostate cancer. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer.* 2021 Dec; 1876(2): 188625. doi: 10.1016/j.bbcan.2021.188625

10. Konoshenko M.Y., Lekchnov E.A., Bryzgunova O.E., Zaporozhchenko I.A., Yarmoschuk S.V., Pashkovskaya O.A., Pak S.V., Laktionov P.P. The Panel of 12 Cell-Free MicroRNAs as Potential Biomarkers in Prostate Neoplasms. *Diagnostics (Basel).* 2020; 10(1): 38. doi: 10.3390/diagnostics10010038.
11. Sun X.B., Chen Y.W., Yao Q.S., Chen X.H., He M., Chen C.B., Yang Y., Gong X.X., Huang L. MicroRNA-144 Suppresses Prostate Cancer Growth and Metastasis by Targeting EZH2. *Technol Cancer Res Treat.* 2021; 20: 1533033821989817. doi: 10.1177/1533033821989817.
12. Fredsøe J., Rasmussen A.K.I., Thomsen A.R., Mouritzen P., Hoyer S., Borre M., Ørntoft T.F., Sørensen K.D. Diagnostic and Prognostic MicroRNA Biomarkers for Prostate Cancer in Cell-free Urine. *Eur Urol Focus.* 2018; 4(6): 825–33. doi: 10.1016/j.euf.2017.02.018.
13. Aghdam A.M., Amiri A., Salarinia R., Masoudifar A., Ghasemi F., Mirzaei H. MicroRNAs as Diagnostic, Prognostic, and Therapeutic Biomarkers in Prostate Cancer. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr.* 2019; 29(2): 127–39. doi: 10.1615/CritRevEukaryotGeneExpr.2019025273.
14. Boeri M., Verri C., Conte D., Roz L., Modena P., Fachinetti F., Calabrò E., Croce C.M., Pastorino U., Sozzi G. MicroRNA signatures in tissues and plasma predict development and prognosis of computed tomography detected lung cancer. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2011; 108: 3713–18. doi: 10.1073/pnas.1100048108.
15. Gan J., Liu S., Zhang Y., He L., Bai L., Liao R., Zhao J., Guo M., Jiang W., Li J., Li Q., Mu G., Wu Y., Wang X., Zhang X., Zhou D., Lv H., Wang Z., Zhang Y., Qian C., Feng M., Chen H., Meng Q., Huang X. MicroRNA-375 is a therapeutic target for castration-resistant prostate cancer through the PTPN4/STAT3 axis. *Exp Mol Med.* 2022; 54(8): 1290–305. doi: 10.1038/s12276-022-00837-6.
16. Lekchnov E.A., Amelina E.V., Bryzgunova O.E., Zaporozhchenko I.A., Konoshenko M.Y., Yarmoschuk S.V., Murashov I.S., Pashkovskaya O.A., Gorizkii A.M., Zheravin A.A., Laktionov P.P. Searching for the Novel Specific Predictors of Prostate Cancer in Urine: The Analysis of 84 miRNA Expression. *Int J Mol Sci.* 2018; 19(12): 4088. doi: 10.3390/ijms19124088.
17. Rishik S., Hirsch P., Grandke F., Fehlmann T., Keller A. miRNATissueAtlas 2025: an update to the uniformly processed and annotated human and mouse non-coding RNA tissue atlas. *Nucleic Acids Res.* 2025; 53(D1): 129–37. doi: 10.1093/nar/gkae1036.
18. Hasanoglu S., Göncü B., Yücesan E., Atasoy S., Kayali Y., Özen Kandaş N. Investigating differential miRNA expression profiling using serum and urine specimens for detecting potential biomarkers for early prostate cancer diagnosis. *Turk J Med Sci.* 2021; 51(4): 1764–74. doi: 10.3906/sag-2010-183.
19. Stuoelyte K., Daniunaite K., Bakavicius A., Lazutka J.R., Jankevicius F., Jarmalaite S. The utility of urine-circulating miRNAs for detection of prostate cancer. *Br J Cancer.* 2016; 115(6): 707–15. doi: 10.1038/bjc.2016.233.
20. Ghorbanmehr N., Gharbi S., Korsching E., Tavallaei M., Einollahi B., Mowlana S.J. miR-21-5p, miR-141-3p, and miR-205-5p levels in urine-promising biomarkers for the identification of prostate and bladder cancer. *Prostate.* 2019; 79(1): 88–95. doi: 10.1002/pros.23714.

21. Chauhan N., Manojkumar A., Jaggi M., Chauhan S.C., Yallapu M.M. microRNA-205 in prostate cancer: Overview to clinical translation. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*. 2022; 1877(6): 188809. doi: 10.1016/j.bbcan.2022.188809.
22. Wang W., Kong P., Feng K., Liu C., Gong X., Sun T., Duan X., Sang Y., Jiang Y., Li X., Zhang L., Tao Z., Liu W. Exosomal miR-222-3p contributes to castration-resistant prostate cancer by activating mTOR signaling. *Cancer Sci*. 2023; 114(11): 4252–69. doi: 10.1111/cas.15948.
23. Song Q., An Q., Niu B., Lu X., Zhang N., Cao X. Role of miR-221/222 in Tumor Development and the Underlying Mechanism. *J Oncol*. 2019; 2019: 7252013. doi: 10.1155/2019/7252013.
24. Yu J., Lu Y., Cui D., Li E., Zhu Y., Zhao Y., Zhao F., Xia S. miR-200b suppresses cell proliferation, migration and enhances chemosensitivity in prostate cancer by regulating Bmi-1. *Oncol Rep*. 2014; 31(2): 910–18. doi: 10.3892/or.2013.2897.
25. Peng B., Theng P.Y., Le M.T.N. Essential functions of miR-125b in cancer. *Cell Prolif*. 2021; 54(2): e12913. doi: 10.1111/cpr.12913.
26. Budd W.T., Seashols-Williams S.J., Clark G.C., Weaver D., Calvert V., Petricoin E., Dragoescu E.A., O'Hanlon K., Zehner Z.E. Dual Action of miR-125b As a Tumor Suppressor and OncomiR-22 Promotes Prostate Cancer Tumorigenesis. *PLoS One*. 2015; 10(11): e0142373. doi: 10.1371/journal.pone.0142373.
27. Носов А.К., Воробьев Н.А. Гормонорезистентный рак предстательной железы. *Практическая онкология*. 2008; 9(2): 104–16. [Nosov A.K., Vorobyov N.A. Hormone-resistant prostate cancer. *Practical Oncology*. 2008; 9(2): 104–16. (in Russian)]. EDN: QCQJMT.

Поступила/Received 22.08.2024  
 Одобрена после рецензирования/Revised 12.08.2025  
 Принята к публикации/Accepted 03.09.2025

#### СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

**Сайткулова Милена Максимовна**, лаборант-исследователь, ФГБУН «Институт химической биологии и фундаментальной медицины» Сибирского отделения Российской академии наук (г. Новосибирск, Россия). SPIN-код: 1487-3900. Author ID (Scopus): 55204686500. ORCID: 0009-0000-1811-7184.

**Брызгунова Ольга Евгеньевна**, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, ФГБУН «Институт химической биологии и фундаментальной медицины» Сибирского отделения Российской академии наук (г. Новосибирск, Россия). SPIN-код: 9752-3241. Author ID (Scopus): 6507738308. ORCID: 0000-0003-3433-7261.

**Остальцев Илья Александрович**, онколог, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр им. акад. Е.Н. Мешалкина» Минздрава России (г. Новосибирск, Россия). SPIN-код: 1096-5492. Author ID (Scopus): 59187089900. ORCID: 0009-0000-6351-6926.

**Пак Светлана Валентиновна**, заведующая отделением переливания крови, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр им. акад. Е.Н. Мешалкина» Минздрава России (г. Новосибирск, Россия). SPIN-код: 7153-5064. Author ID (Scopus): 57208228505. ORCID: 0009-0009-6221-2758.

**Лактионов Павел Петрович**, кандидат биологических наук, заведующий лабораторией, ФГБУН «Институт химической биологии и фундаментальной медицины» Сибирского отделения Российской академии наук (г. Новосибирск, Россия). SPIN-код: 4114-3170. Author ID (Scopus): 7003559490. ORCID: 0000-0002-0866-0252.

**Коношенко Мария Юрьевна**, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, ФГБУН «Институт химической биологии и фундаментальной медицины» Сибирского отделения Российской академии наук (г. Новосибирск, Россия). SPIN-код: 9374-8489. Author ID (Scopus): 55204686500. ORCID: 0000-0003-2925-9350.

#### ВКЛАД АВТОРОВ

**Сайткулова Милена Максимовна**: сбор и обработка данных, обработка результатов исследования, написание статьи.

**Брызгунова Ольга Евгеньевна**: разработка концепции научной работы, разработка дизайна исследования, написание статьи, работа с графическим материалом, статистическая обработка данных.

**Остальцев Илья Александрович**: сбор материала исследования, сбор и обработка данных.

**Пак Светлана Валентиновна**: сбор материала исследования, сбор и обработка данных.

**Лактионов Павел Петрович**: общее руководство проектом, научное редактирование.

**Коношенко Мария Юрьевна**: разработка концепции научной работы, разработка дизайна исследования, написание статьи, работа с графическим материалом, статистическая обработка данных.

Все авторы одобрили финальную версию статьи перед публикацией, выразили согласие нести ответственность за все аспекты работы, подразумевающую надлежащее изучение и решение вопросов, связанных с точностью и добросовестностью любой части работы.

#### Финансирование

Исследование выполнено в рамках проектов базового бюджетного финансирования ГЗ №125012900932-4 ФГБУ ИХБФМ СО РАН.

#### Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

#### Соответствие принципам этики

Проведенное исследование соответствует стандартам Хельсинкской декларации, одобрено независимым этическим комитетом Института химической биологии и фундаментальной медицины (Россия, 630090, г. Новосибирск, пр. Ак. Лаврентьева, 8), протокол № 22 от 22.12.08.

#### Информированное согласие

Все пациенты подписали письменное информированное согласие на публикацию данных в медицинском журнале, включая его электронную версию.

## ABOUT THE AUTHORS

**Milena M. Saitkulova**, Laboratory Assistant-Researcher, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (Novosibirsk, Russia). Author ID (Scopus): 55204686500. ORCID: 0009-0000-1811-7184.

**Olga E. Bryzgunova**, PhD, Senior Researcher, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (Novosibirsk, Russia). Author ID (Scopus): 6507738308. ORCID: 0000-0003-3433-7261.

**Ilya A. Ostaltsev**, MD, Oncologist, National Medical Research Center named after ak. E.N. Meshalkin, Ministry of Health of Russia (Novosibirsk, Russia). Author ID (Scopus): 59187089900. ORCID: 0009-0000-6351-6926.

**Svetlana V. Pak**, Head of the Blood Transfusion Department, National Medical Research Center named after ak. E.N. Meshalkin, Ministry of Health of Russia (Novosibirsk, Russia). Author ID (Scopus): 57208228505. ORCID: 0009-0009-6221-2758.

**Pavel P. Laktionov**, MD, PhD, Head of Laboratory, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (Novosibirsk, Russia). Author ID (Scopus): 7003559490. ORCID: 0000-0002-0866-0252.

**Maria Yu. Konoshenko**, MD, PhD, Senior Researcher, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (Novosibirsk, Russia). Author ID (Scopus): 55204686500. ORCID: 0000-0003-2925-9350.

## AUTHOR CONTRIBUTIONS

**Milena M. Saitkulova**: data collection and processing, analysis of research results, drafting the manuscript.

**Olga E. Bryzgunova**: development of the scientific concept, study design, manuscript writing, work with graphical materials, statistical data processing.

**Ilya A. Ostaltsev**: collection of research material, data collection and processing.

**Svetlana V. Pak**: collection of research material, data collection and processing.

**Pavel P. Laktionov**: overall project supervision, scientific editing.

**Maria Yu. Konoshenko**: development of the scientific concept, study design, manuscript writing, work with graphical materials, statistical data processing.

All authors approved the final version of the manuscript prior to publication and agreed to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work were appropriately investigated and resolved.

**Funding**

*The study was carried out within the framework of basic budget funding projects of the Russian Ministry of Education and Science (No. 125012900932-4).*

**Conflict of interests**

*The authors declare that they have no conflict of interest.*

**Compliance with Ethical Standards**

*The study was conducted in accordance with ethical principles outlined in the Declaration of Helsinki approved by Ethics Committee of Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (8, Lavrentiev Ave., Novosibirsk, 630090, Russia), protocol No. 22 dated December 22, 2008.*

**Voluntary informed consent**

*Written informed voluntaries consents were obtained from the patients for the publication of data in medical journal.*