

МИКРОРНК В ПЛАЗМЕ КРОВИ У ПАЦИЕНТОВ С ГЕНЕТИЧЕСКИ ПОДТВЕРЖДЕННЫМ СИНДРОМОМ МНОЖЕСТВЕННЫХ ЭНДОКРИННЫХ НЕОПЛАЗИЙ 1 ТИПА И ИХ ФЕНОКОПИЯМИ

© Д.А. Трухина¹, Е.О. Мамедова¹, А.Г. Никитин², Ф.А. Кошкин³, Ж.Е. Белая¹, Г.А. Мельниченко¹

¹Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии, Москва, Россия

²Научно-исследовательский институт пульмонологии, Москва, Россия

³Медико-генетический центр «Геномед», Москва, Россия

ОБОСНОВАНИЕ. Синдром множественных эндокринных неоплазий 1 типа (МЭН-1) — редкое аутосомно-доминантное заболевание, обусловленное мутациями в гене *MEN1*, кодирующем белок менин. Этот синдром характеризуется возникновением опухолей околощитовидных желез, гастроэнтеропанкреатических нейроэндокринных опухолей, аденом гипофиза, а также других эндокринных и неэндокринных опухолей. Если пациент с МЭН-1 фенотипом не имеет мутаций в гене *MEN1*, то такое состояние рассматривается как фенокопия синдрома (фМЭН-1). Возможной причиной этих изменений могут быть изменения в эпигенетической регуляции, в частности в экспрессии микроРНК, которые могут влиять на сигнальные пути менина.

ЦЕЛЬ. Определить циркулирующие микроРНК, различно экспрессирующиеся в плазме крови у пациентов с генетически подтвержденным синдромом МЭН-1, его фенокопиями и контролем.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ. Выполнено одноцентровое исследование типа «случай-контроль». Проведена оценка экспрессии микроРНК в плазме крови пациентов с генетически подтвержденным синдромом МЭН-1 (гМЭН-1), фМЭН-1 и относительно здорового контроля. Забор крови проводился натощак, образцы цельной крови однократно центрифугировались и хранились при температуре -80°C. Выделение тотальной РНК проводили с помощью набора miRNeasy Mini Kit с QIAcube. Библиотеки готовили с помощью набора QIAseq miRNA Library Kit в соответствии с инструкцией производителя. Секвенирование циркулирующих микроРНК проводили на Illumina NextSeq 500 (Illumina). Последующую обработку данных проводили с помощью биоинформационного алгоритма DESeq2.

РЕЗУЛЬТАТЫ. Всего в исследование были включены в группу гМЭН-1 — 21 пациент, в группу фМЭН-1 — 11 пациентов, в группу контроля — 12 относительно здоровых добровольцев. Медиана возраста в группе гМЭН-1 составила 38,0 лет [34,0; 41,0]; в группе фМЭН-1 — 59,0 [51,0; 60,0]; в группе контроля — 59,5 [51,5; 62,5]. Все группы не отличались по полу ($p=0,739$) и индексу массы тела ($p=0,116$). Группа гМЭН-1 отличалась по возрасту от пациентов фМЭН-1 и контрольной группы ($p<0,001$).

В результате высокопроизводительного секвенирования было получено 25 различно экспрессирующихся микроРНК в группах гМЭН-1 и фМЭН-1 (21 микроРНК с повышенной экспрессией, 4 — с пониженной). При сравнении образцов от групп фМЭН-1 и относительно здорового контроля выявлено 10 различно экспрессирующихся микроРНК: 5 — с повышенной экспрессией в группе фМЭН-1 по сравнению с контрольной группой, 5 — с пониженной. В группах гМЭН-1 и контроля обнаружено 26 различно экспрессирующихся микроРНК: 24 с повышенной экспрессией в группе гМЭН-1 по сравнению с контролем, 2 — с пониженной. Для дальнейшей валидации результатов методом RT-qPCR были отобраны наиболее отличающиеся по экспрессии микроРНК среди групп (в группах гМЭН-1 и фМЭН-1 — miR-3613-5p, miR-335-5p, miR-32-5p, miR-425-3p, miR-25-5p, miR-576-5p, miR-215-5p, miR-30a-3p, miR-141-3p, miR-760, miR-501-3p; в группах гМЭН-1 и контроля — miR-1976, miR-144-5p, miR-532-3p, miR-375; а также в группах фМЭН-1 и контроля — miR-944, miR-191-5p, miR-98-5p).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ. В ходе пилотного исследования методом высокопроизводительного секвенирования обнаружены микроРНК, экспрессия которых может отличаться у пациентов с гМЭН-1, фМЭН-1 и контролем. Полученные результаты нуждаются в валидации при помощи другого метода оценки экспрессии микроРНК на большей выборке пациентов.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: микроРНК; синдром множественных эндокринных неоплазий 1 типа; фенокопии; аденома гипофиза; первичный гиперпаратиреоз.

PLASMA MIRNA EXPRESSION IN PATIENTS WITH GENETICALLY CONFIRMED MULTIPLE ENDOCRINE NEOPLASIA TYPE 1 SYNDROME AND ITS PHENOCOPIES

© Diana A. Trukhina¹, Elizaveta O. Mamedova¹, Alexey G. Nikitin², Philipp A. Koshkin³, Zhanna E. Belaya¹, Galina A. Melnichenko¹

¹Endocrinology Research Centre, Moscow, Russia

²Pulmonology Scientific Research Institute under FMBA of Russia, Moscow, Russia

³Center of medical genetics «Genomed», Moscow, Russia

BACKGROUND: MEN-1 is a rare autosomal dominant disease caused by mutations in *MEN1* gene encoding the menin protein. This syndrome is characterized by the occurrence of parathyroid tumors, gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors, pituitary adenomas, as well as other endocrine and non-endocrine tumors. If a patient with the MEN-1 phenotype carry no mutations in the *MEN1* gene, the condition considers a phenocopy of syndrome (phMEN1). The possible cause of this changes could be changes in epigenetic regulation, particularly in microRNA expression that might affect menin signaling pathways.

AIM: to identify differently expressed circulating miRNAs in plasma in patients with genetically confirmed MEN-1 syndrome, its phenocopies and healthy controls.

MATERIALS AND METHODS: single-center, case-control study was conducted. We assessed plasma microRNA expression in patients with genetically confirmed MEN-1 (gMEN1), phMEN1 and healthy controls. Morning plasma samples were collected from fasting patients and stored at -80°C . Total RNA isolation was performed using miRNeasy Mini Kit with QIAcube. The libraries were prepared by the QIAseq miRNA Library Kit following the manufacturer. Circulating miRNA sequencing was done on Illumina NextSeq 500 (Illumina). Subsequent data processing was performed using the DESeq2 bioinformatics algorithm.

RESULTS: we enrolled 21 consecutive patients with gMEN1 and 11 patients with phMEN1, along with 12 gender matched controls. Median age of gMEN1 was 38,0 [34,0; 41,0]; in phMEN1 — 59,0 [51,0; 60,0]; control — 59,5 [51,5; 62,5]. The gMEN1 group differed in age ($p<0.01$) but not gender ($p=0.739$) or BMI ($p=0.116$) compared to phMEN1 and controls group, the last two groups did not differ by these parameters ($p>0.05$).

25 microRNA were differently expressed in groups gMEN1 and phMEN1 (21 upregulated microRNAs, 4 — downregulated). Comparison of samples from the phMEN-1 group and relatively healthy controls revealed 10 differently expressed microRNAs: 5 — upregulated; 5 — downregulated. In the gMEN-1 and control groups, 26 differently expressed microRNAs were found: 24 — upregulated; 2 — downregulated. The miRNAs most differing in expression among the groups were selected for further validation by RT-qPCR (in the groups of gMEN1 vs phMEN1 — miR-3613-5p, miR-335-5p, miR-32-5p, miR-425-3p, miR-25-5p, miR-576-5p, miR-215-5p, miR-30a-3p, miR-141-3p, miR-760, miR-501-3p; gMEN1 vs control — miR-1976, miR-144-5p, miR-532-3p, miR-375; as well as in phMEN1 vs control — miR-944, miR-191-5p, miR-98-5p).

CONCLUSION: In a pilot study, we detected microRNAs that may be expressed differently between patients with gMEN-1 and phMEN-1. The results need to be validated using different measurement method with larger sample size.

KEYWORDS: miRNA; multiple endocrine neoplasia type 1; phenocopy; pituitary adenoma; primary hyperparathyroidism.

ОБОСНОВАНИЕ

Синдром множественных эндокринных неоплазий 1 типа (МЭН-1) — аутосомно-доминантное заболевание, вызванное мутацией в гене-супрессоре *MEN1*, находящемся на длинном плече хромосомы 11q13, который кодирует белок менин. Распространенность синдрома МЭН-1, по некоторым данным, составляет 3–20 на 100 тыс. чел. с одинаковым распределением между мужским и женским полом [1]. Заболевание характеризуется сочетанием опухолей околощитовидных желез (ОЩЖ), нейроэндокринных опухолей (НЭО) желудочно-кишечного тракта (чаще всего поджелудочной железы), гипофиза, а также другими эндокринными и неэндокринными опухолевыми образованиями [2]. Встречающиеся герминальные мутации в гене *MEN1* как в семейных (около 90%), так и в спорадических случаях (около 10%) синдрома МЭН-1 рассеяны по всей кодирующей области и сайтам сплайсинга, корреляции между генотипом и фенотипом отсутствуют. Проявления заболевания возникают в разные моменты времени в разных органах у людей, несущих идентичные мутации, что может объясняться теорией «двойного удара» Кнудсона, а также влиянием других факторов, вызывающих индивидуальное развитие онкогенеза [3–6]. Однако от 5% до 10% пациентов с МЭН-1-подобными проявлениями не имеют мутаций в кодирующей области *MEN1*, что может быть связано с крупными делециями данного гена, мутациями в промоторе и прочих нетранслируемых областях гена *MEN1* [3, 7, 8]. Если у пациента с клиническими проявлениями МЭН-1 не удалось обнаружить мутацию в гене *MEN1*, то данное состояние считается

фенокопией синдрома МЭН-1. Причина сочетания нескольких эндокринных МЭН-1-ассоциированных опухолей у таких пациентов остается не до конца изученной, и как возможное основание возникновения такого фенотипа могут быть рассмотрены мутации в таких генах, как *CDKN1A*, *CDKN1B*, *CDKN2B*, *CDKN2C*, *CDC73*, *CASR*, *RET*, *AIP*, других еще неизвестных генах, а также эпигенетические изменения или случайное сочетание нескольких опухолей у одного пациента [1, 2, 6, 9].

Эпигенетические модификации представляют собой область большого интереса, поскольку они играют роль в сверхэкспрессии онкогенов или подавлении генов-супрессоров, в результате чего происходит стимуляция сигнальных путей, ответственных за образование опухолей [10, 11]. Известно, что гиперметилирование сайтов CpG в промоторных областях, модификация гистонов генов-супрессоров опухолей может приводить к потере функции этих генов [12–15]. Сайленсинг генов, опосредованный некодирующими РНК (нкРНК), является еще одним возможным эпигенетическим механизмом образования опухолей, в том числе МЭН-1-ассоциированных, поскольку нкРНК играют роль во многих биологических процессах, например в транскрипции, сплайсинге, трансляции, экспрессии генов, клеточном цикле, импринтинге, эмбриогенезе [16].

МикроРНК являются наиболее подробно изученным классом нкРНК. Они представляют собой короткие нкРНК и регулируют экспрессию генов, обычно связываясь с определенными участками в 3' нетранслируемых областях (3'-НТО) мРНК, а также в 5'-НТО, кодирующей области или промоторе [17], с различным уровнем комплементарности, и либо вызывая деградацию, либо блокируя

трансляцию мРНК [18, 17]. Многие микроРНК присутствуют в жидкостях организма (включая сыворотку, плазму, мочу и др.) и играют роль в межклеточной коммуникации, функционируя как гормоноподобные молекулы, влияя на поведение различных клеток [19, 20].

Мутации в гене *MEN1* у пациентов с синдромом МЭН-1 могут быть ассоциированы с включением целого ряда эпигенетических изменений, в том числе компенсаторного характера, учитывая не 100% пенетрантность развития симптомокомплекса, а также различное фенотипическое представление у пациентов с одной и той же мутацией. Кроме того, у пациентов с фенокопиями синдрома МЭН-1, возможно, реализуется ухудшение экспрессии гена *MEN1*, в том числе на эпигенетическом уровне [21].

Таким образом, целью нашего пилотного исследования было выявить различно экспрессирующиеся циркулирующие микроРНК в плазме крови у пациентов с генетически подтвержденным синдромом МЭН-1, его фенокопиями и здоровым контролем.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Место и время проведения исследования

Исследование проведено на базе отделений нейроэндокринологии и остеопороза и остеопатий ГНЦ РФ ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России. Высокопроизводительное секвенирование микроРНК, а также их выделение выполнено на базе лаборатории «Геномед». Биоинформатический анализ полученных данных выполнен на базе ФГБУ «НИИ пульмонологии» ФМБА России. Были использованы образцы, полученные с апреля 2019 г. по январь 2022 г.

Исследуемые популяции

В исследование были включены пациенты с генетически подтвержденным синдромом МЭН-1 (гМЭН-1) и пациенты с фенокопиями синдрома МЭН-1 (фМЭН-1), а также относительно здоровый контроль (К). Предварительного расчета выборки не проводилось. Пациенты были разделены на 3 группы: набор в первые две группы определялся результатом генетического исследования, 3-я группа представляла собой здоровых добровольцев без клинических проявлений эндокринных заболеваний.

Способ формирования выборки: сплошной.

В случае выявления у пациента фенотипа МЭН-1 при отсутствии мутаций в гене *MEN1*, а также других генах, ответственных за проявления такого фенотипа, состояние расценивалось как фенокопия данного синдрома. Наиболее часто при фенокопиях МЭН-1 имеется сочетание аденомы гипофиза (АГ) и опухоли околощитовидной железы. Таким образом, в группу фМЭН-1 были включены: пациенты обоих полов, от 18 лет и старше, в активной стадии (без лечения, либо с отсутствием ремиссии на фоне лечения) акромегалии и первичного гиперпаратиреоза (ПГПТ) (наиболее частое сочетание опухолей); с отсутствием мутаций по данным метода высокопроизводительного секвенирования (NGS) в панели генов-кандидатов (*MEN1*, *CDKN1A*, *CDKN1B*, *CDKN1C*, *CDKN2A*, *CDKN2C*, *CDKN2D*, *AIP*, *SDHA*, *SDHB*, *SDHC*, *SDHD*, *PRKAR1A*, *GNAS*, *PRKCA*, *POU1F1*, *CASR*, *CDC73*); отсутствием крупных

делеций/дупликаций кодирующей области *MEN1* по данным мультиплексной амплификации лигированных зондов (MLPA).

Критерии исключения в группе фМЭН-1: возраст моложе 18 лет, лучевая терапия в анамнезе, ремиссия на фоне приема препаратов, беременность, тяжелые системные заболевания.

В группу гМЭН-1 включались пациенты с генетически подтвержденным синдромом МЭН-1 методом секвенирования по Сэнгеру или методом NGS, подходящие по полу к группе фМЭН-1, и обязательно с наличием сочетания АГ+ПГПТ как проявление синдрома.

В качестве контрольной группы выбраны относительно здоровые добровольцы, подходящие по полу и возрасту к группе фМЭН-1.

Дизайн исследования

Проведено одноцентровое одномоментное выборочное исследование.

Описание медицинского вмешательства

Пациентам проводился забор цельной крови утром натощак в пробирку с EDTA K2. В течение 30 мин после забора крови образцы цельной крови однократно центрифугировались (лабораторная центрифуга Eppendorf 5810R с комплектом роторов (A-4-81, Ф-4-81-MTP/Flex, FA-45-30-11 и F-45-48-PCR)) при температуре +5 °C на скорости вращения 3000 об/мин в течение 20 мин. Далее образцы плазмы раскапывались в криопробирки, замораживались и хранились при температуре -80 °C.

Выделение микроРНК из плазмы крови проводили с помощью miRNeasy Serum/Plasma Kit (Qiagen, Германия) согласно инструкции компании-производителя на автоматической станции QIAcube (Qiagen, Германия). Для предотвращения деградации в выделенную РНК добавляли 1 ед. RiboLock RNase Inhibitor (Thermo Fisher Scientific, США) на 1 мкл раствора нуклеиновых кислот. Концентрацию суммарной РНК в водном растворе оценивали на спектрофотометре NanoVue Plus (GE Healthcare, Великобритания). Для дальнейшей работы отбирали образцы с концентрацией суммарной РНК в водном растворе не ниже 5 нг/мкл. Экспрессию микроРНК анализировали с помощью секвенирования на Illumina NextSeq 500 (Illumina NextSeq 500, США). Библиотеки были подготовлены с помощью QIAseq miRNA Library Kit в соответствии со стандартными протоколами производителя. Контроль качества библиотек выполнялся на Lab Chip GX. Биоинформационная обработка была следующей: адаптеры удалялись с помощью Cutadapt; полученные файлы FASTQ были затем картированы на геном человека (сборка GRCh37) с помощью bowtie2. FastQC использовался в качестве инструмента для визуализации различных измерений контроля качества. Для каждого образца последовательности аннотировались с использованием баз данных человеческих пре-микроРНК и зрелых микроРНК, предоставленных в miRBase (<http://microrna.sanger.ac.uk/sequences/>), с помощью SeqBuster. TargetScan, Diana-TarBase v8 и mirPath v.3, были использованы для предсказания мишеней. Платформа miRNet 2.0 использовалась для анализа взаимодействия микроРНК и их генов-мишеней.

Статистический анализ

Для статистической обработки материала использовались программы Statistica 13.3 (StatSoft США), IBM SPSS 23. Данные описательной статистики представлены в виде медианы, а также 25-го и 75-го перцентилей. Для описания качественных данных рассчитывали абсолютные (n) и относительные значения (%). Нормальность распределения проверялась критерием Шапиро–Уилка. Связь между количественными показателями устанавливали, используя непараметрический метод Краскела–Уоллиса ANOVA, с поправкой на множественные сравнения Бонферрони ($p < 0,017$). Для анализа связей между категориальными переменными использовали критерий χ -квадрат Пирсона и точный критерий Фишера. Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$. Биоинформатический анализ данных секвенирования выполнен при помощи пакета DESeq2. По достоверности обнаруженных различий микроРНК были разделены на 2 группы: больше 10 прочтений и менее 10 прочтений.

Этическая экспертиза

Протокол исследования одобрен на заседании локального этического комитета ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России от 10 марта 2021 г. (протокол № 4).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Объекты (участники) исследования

Всего в исследование были включены 44 человека: в группу гМЭН-1 — 21 пациент, в группу фМЭН-1 — 11 па-

циентов, в группу К — 12 относительно здоровых добровольцев. Все группы не отличались по полу ($p = 0,739$) и индексу массы тела (ИМТ) ($p = 0,116$). Группа гМЭН-1 отличалась по возрасту от пациентов фМЭН-1 и К-групп ($p < 0,001$) (табл. 1.). Учитывая наличие различий по возрасту между группами, в дальнейшем на полученных результатах применялась поправка на возраст для нивелирования этого фактора.

В группе фМЭН-1 у всех пациентов имелись акромегалия (инсулиноподобный фактор роста 1 560 нг/мл [414,3; 679]) и ПГПТ (паратиреоидный гормон 85,86 нг/мл [67,41; 140,1]; кальций общий 2,71 ммоль/л [2,59; 2,77]; кальций скорр. по альбумину 2,65 ммоль/л [2,54; 2,68]) в активной стадии заболеваний. У 3/11 пациентов, кроме поражения гипофиза и ОЩЖ, были выявлены другие эндокринные и неэндокринные образования (табл. 2). Во всех случаях акромегалия была диагностирована раньше, чем ПГПТ; медиана до диагностики второй эндокринной опухоли равна 1 году [0; 2].

В группе гМЭН-1 у 21 пациента имелись АГ и ПГПТ. По секреции АГ были разделены следующим образом: 10 — пролактиномы (ПРЛ), 4 — гормонально-неактивные АГ (НАГ), 3 — болезнь Иценко–Кушинга (БИК), 2 — смешанные соматотропиномы/пролактиномы (СТГ+ПРЛ), 1 — соматотропинома, 1 — смешанная секреция адренокортикотропного гормона (АКТГ)+ПРЛ. Только АГ и ПГПТ на момент включения в исследование были выявлены у 3/21 пациентов; АГ, ПГПТ, образования поджелудочной железы — у 6/21 пациентов; у остальных пациентов компоненты синдрома МЭН-1 представлены большим количеством эндокринных

Таблица 1. Характеристика исследуемых групп

Параметр	гМЭН-1 (n=21)	фМЭН-1 (n=11)	Контроль (n=12)	p-value
Возраст на момент взятия крови, лет, Ме [Q1; Q3]	38,0 [34,0; 41,0]	59,0 [51,0; 60,0]	59,5 [51,5; 62,5]	0,0003 $p_{1-3} < 0,001$ $p_{1-2} < 0,001$ $p_{2-3} = 1,0$
Пол, жен, n (%)	17 (80,95)	10 (90,9)	11 (91,7)	0,739
ИМТ, кг/м ² , Ме [Q1; Q3]	24,7 [22,1; 30]	28,95 [26,7; 35,7]	26,75 [23,5; 31,5]	0,116

Примечание: Ме [Q1; Q3] — медиана, первый и третий квартили; n — количество пациентов, ИМТ — индекс массы тела.

Таблица 2. Характеристика пациентов с множественными образованиями (3/11) в группе фенокопий синдрома множественных эндокринных неоплазий 1 типа

№	Возраст, пол	Образования
1	60, ж	СТГ-АГ, аденома правой верхней ОЩЖ, диффузная гиперплазия обоих надпочечников, светлоклеточный рак правой почки 1 ст. (T _{1b} N ₀ M ₀ G2), кисты в левой почке (I, II, IIF, III, IV типы по Bosniak)
2	59, ж	СТГ-АГ, ПГПТ без визуализации, ГНО головки поджелудочной железы, образование правого надпочечника, узелковая гиперплазия левого надпочечника, нейрофиброма забрюшинного пространства справа
3	56, ж	СТГ-АГ, аденомы левой и правой нижних ОЩЖ, интратиреоидная аденома ОЩЖ, ГНО левого надпочечника, гемангиома правой теменной кости

Примечание: ГНО — гормонально-неактивное образование; ОЩЖ — околощитовидная железа; СТГ-АГ — соматотропинома, ж — женщины.

Таблица 3. Характеристика пациентов с множественными образованиями в группе генетически подтвержденного синдрома множественных эндокринных неоплазий 1 типа

№	Возраст, пол	Образования
1	19, м	ПРЛ-АГ, гиперплазия 4 ОЩЖ, множественные НЭО поджелудочной железы, НЭО левого легкого (S6)
2	39, ж	ПРЛ-АГ, гиперплазия 4 ОЩЖ, проинсулинома, ГНО поджелудочной железы, узелковая гиперплазия обоих надпочечников, ГНО латеральной ножки левого надпочечника
3	43, ж	ПРЛ-АГ, гиперплазия 4 ОЩЖ, ГНО хвоста, перешейка, крючковидного отростка поджелудочной железы, нисходящего отдела двенадцатиперстной кишки, НЭО правого легкого (S3–4), ГНО левого надпочечника
4	36, ж	АКТГ/ПРЛ-АГ, аденомы 4 ОЩЖ, аденома ОЩЖ в средостении, множественные гастриномы поджелудочной железы, ГНО левого надпочечника, гигантоклеточная опухоль альвеолярного отростка нижней челюсти, гигантское внеоргannое объемное образование брюшной полости и малого таза неясного генеза
5	53, ж	НАГ, аденомы 4 ОЩЖ, ГНО поджелудочной железы (pT3N1Mx, G2), НЭО правого легкого (S1), ГНО правого надпочечника, гемангиома печени (S7)
6	49, ж	АКТГ-АГ, аденомы 3 ОЩЖ, 3 аденомы ОЩЖ в средостении, множественные ГНО поджелудочной железы, НЭО правого легкого (S8/S9), множественные образования печени вторичного характера (mts)
7	39, ж	СТГ/ПРЛ-АГ, гиперплазия 4 ОЩЖ, ГНО тела и хвоста поджелудочной железы, гиперплазия левого надпочечника, образование молочной железы
8	40, м	НАГ, аденомы 4 ОЩЖ, множественные ГНО головки и тела поджелудочной железы, инсулиномы хвоста поджелудочной железы, ГНО левого надпочечника, множественные аденомы левой околоушной железы
9	36, ж	ПРЛ-АГ, аденомы 2 ОЩЖ, ГНО поджелудочной железы, ГНО обоих надпочечников
10	37, ж	ПРЛ-АГ, аденома ОЩЖ, инсулиномы поджелудочной железы (pT2 (m), pN0 (0/19), cM1), множественные ГНО поджелудочной железы, ГНО обоих надпочечников
11	41, ж	СТГ/ПРЛ-АГ, аденомы 4 ОЩЖ, инсулиномы поджелудочной железы (G1/G2), ГНО крючковидного отростка поджелудочной железы, ГНО левого надпочечника, папиллярный рак щитовидной железы
12	36, м	ПРЛ-АГ, аденомы 3 ОЩЖ, НЭО правого легкого (S6) G1

Примечание: ПРЛ-АГ — пролактинома; АКТГ-АГ — кортикотропинома; НАГ — гормонально-неактивная аденома гипофиза; СТГ-АГ — соматотропинома; ПГПТ — первичный гиперпаратиреоз; НЭО — нейроэндокринное образование; ГНО — гормонально-неактивное образование; ОЩЖ — околощитовидная железа; mts — метастазы; ж — женщины; м — мужчины.

и неэндокринных поражений и более подробно охарактеризованы в таблице 3.

Основные результаты исследования

По результатам биоинформатического и статистического анализов между группами гМЭН-1 и фМЭН-1 были обнаружены 25 различно экспрессирующихся микроРНК: 4 микроРНК были со сниженной экспрессией в группе фМЭН-1 по сравнению с гМЭН-1, а 21 микроРНК — с повышенной, с уровнем значимости $p < 0,05$ после поправки на множественность сравнений. По достовер-

ности обнаруженных различий микроРНК были разделены на группы с более чем 10 прочтений и менее чем 10 прочтений в одной из групп (табл. 4, 5). Тепловая карта экспрессии 25 микроРНК в группах пациентов фМЭН-1 по сравнению с гМЭН-1 представлена на рисунке 1, где видно достаточно четкое распределение по группам большинства пациентов.

При сравнении образцов от групп фМЭН-1 и относительно здорового контроля выявлено 10 различно экспрессирующихся микроРНК: 5 — с повышенной экспрессией в группе фМЭН-1 по сравнению с контрольной группой,

Таблица 4. МикроРНК, различно экспрессирующиеся в плазме крови пациентов с генетически подтвержденным синдромом МЭН-1 и его фенотипами (более 10 прочтений)

МикроРНК	Изменение экспрессии	p-value	P _{adj}
hsa-miR-3613-5p	6,009964	2,77358E-17	>0,0001
hsa-miR-335-5p	5,643685	2,39335E-12	>0,0001
hsa-miR-32-5p	5,405104	1,78086E-13	>0,0001
hsa-miR-760	5,277836	2,66768E-07	>0,0001
hsa-miR-2276-3p	-28,44718	4,95287E-14	>0,0001
hsa-miR-454-3p	-2,926644	0,005807373	0,05

Примечание: значения «изменения экспрессии» со знаком «-» означают пониженную экспрессию.

Таблица 5. МикроРНК, различно экспрессирующиеся в плазме крови пациентов с генетически подтвержденным синдромом МЭН-1 и его фенотипами (менее 10 прочтений в одной из групп)

МикроРНК	Изменение экспрессии	p-value	P _{adj}
hsa-miR-425-3p	4,729436	5,20358E-09	>0,0001
hsa-miR-25-5p	4,748414	4,21213E-07	>0,0001
hsa-miR-501-3p	4,215495	9,61385E-07	>0,0001
hsa-miR-576-5p	4,472254	1,81309E-06	>0,0001
hsa-miR-1224-5p	4,988417	2,49849E-06	>0,0001
hsa-miR-141-3p	3,582906	1,10466E-05	0,0001
hsa-miR-129-5p	15,62514	4,09791E-05	0,001
hsa-miR-532-3p	3,864718	4,78686E-05	0,001
hsa-miR-3187-3p	4,403906	6,03505E-05	0,001
hsa-miR-503-5p	3,991885	6,95132E-05	0,001
hsa-miR-30a-3p	3,735631	0,00016462	0,002
hsa-miR-4306	3,610371	0,00017717	0,002
hsa-miR-1908-5p	4,373386	0,000448854	0,004
hsa-miR-664a-5p	-3,937607	0,000437559	0,004
hsa-miR-130b-3p	4,091780173	0,001093891	0,01
hsa-let-7d-3p	-3,543134153	0,003363402	0,03
hsa-miR-19a-3p	3,813056169	0,005167953	0,05
hsa-miR-345-5p	3,677793403	0,005579495	0,05
hsa-miR-215-5p	3,451745926	0,007573295	0,05

Примечание: значения «изменения экспрессии» со знаком «-» означают пониженную экспрессию.

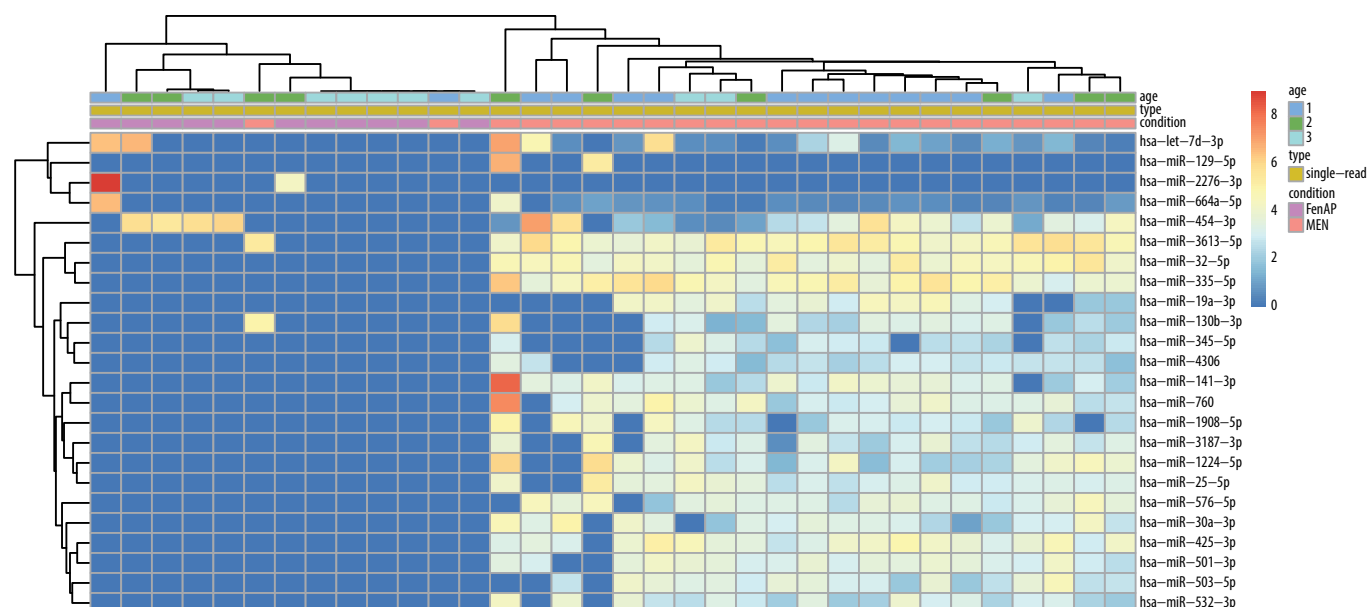


Рисунок 1. Тепловая карта 25 различно экспрессирующихся микроРНК между группами генетически подтвержденного синдрома МЭН-1 (гМЭН-1) и его фенотипов (фМЭН-1). Синий цвет соответствует низкому уровню экспрессии, красный — высокому.

5 — с пониженной (табл. 6); количество прочтений всех микроРНК было более 10. В группах гМЭН-1 и контроля обнаружено 26 различно экспрессирующихся микроРНК: 24 — с повышенной экспрессией в группе гМЭН-1 по сравнению с контролем, 2 — с пониженной (табл. 7); в 23 микроРНК количество прочтений в одной из групп было менее 10.

Для дальнейшей верификации полученных результатов на большей группе пациентов методом количе-

ственной полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией (RT-qPCR) выбраны одни из наиболее отличающихся по профилю экспрессии микроРНК в группах гМЭН-1 против фМЭН-1: miR-3613-5p, miR-335-5p, miR-32-5p, miR-425-3p, miR-25-5p, miR-576-5p, miR-215-5p, miR-30a-3p, miR-141-3p, miR-760, miR-501-3p; гМЭН-1 против контроля: miR-1976, miR-144-5p, miR-532-3p, miR-375; фМЭН-1 против контроля: miR-944, miR-191-5p, miR-98-5p.

Таблица 6. МикроРНК, различно экспрессирующиеся в плазме крови пациентов с фенокопиями синдрома МЭН-1 и контролем

МикроРНК	Изменение экспрессии	p-value	P _{adj}
hsa-miR-944	4,56177	0,005307	0,03
hsa-miR-191-5p	1,443402	1,26E-05	0,0007
hsa-miR-151a-3p	1,123178	0,000437	0,01
hsa-miR-103a-3p	0,900005	0,005122	0,04
hsa-miR-486-5p	0,63895	0,008858	0,05
hsa-miR-142-5p	-0,6539	0,007434	0,04
hsa-let-7d-5p	-0,7748	0,005593	0,04
hsa-let-7c-5p	-0,8186	0,005073	0,04
hsa-miR-98-5p	-1,07757	0,003226	0,04
hsa-miR-122-5p	-1,44606	0,001241	0,02

Примечание: значения «изменения экспрессии» со знаком «-» означают пониженную экспрессию.

Таблица 7. МикроРНК, различно экспрессирующиеся в плазме крови пациентов с генетически подтвержденным синдромом МЭН-1 и контролем

МикроРНК	Изменение экспрессии	p-value	P _{adj}
hsa-miR-144-5p	6,085829	8,38E-19	>0,0001
hsa-miR-25-5p	5,200256	1,16E-09	>0,0001
hsa-miR-1976	5,191892	7,2E-09	>0,0001
hsa-miR-576-5p	5,16823	5,49E-10	>0,0001
hsa-miR-30a-3p	5,039024	1,59E-08	>0,0001
hsa-miR-130b-3p	4,965452	5,33E-06	0,0001
hsa-miR-205-5p	4,91427	0,001422	0,02
hsa-miR-3187-3p	4,83344	5,1E-07	>0,0001
hsa-miR-4433a-3p	4,780702	1,3E-05	0,00027
hsa-miR-574-3p	4,728751	5,33E-07	>0,0001
hsa-miR-532-3p	4,665485	4,2E-08	>0,0001
hsa-miR-215-5p	4,294858	9,21E-05	0,002
hsa-miR-1301-3p	4,280196	0,00025	0,004
hsa-miR-598-3p	4,163633	0,000139	0,002
hsa-miR-4306	4,162105	2,24E-06	>0,0001
hsa-miR-326	4,152838	0,002441	0,03
hsa-miR-500a-3p	4,114861	0,001869	0,02
hsa-miR-99a-5p	4,084514	0,001267	0,02
hsa-miR-625-5p	4,074149	0,000349	0,005
hsa-miR-485-5p	4,053361	0,003423	0,03
hsa-miR-345-5p	4,045615	0,000398	0,005
hsa-miR-99b-5p	4,006249	0,000451	0,006
hsa-miR-190b	3,881351	0,003464	0,03
hsa-miR-210-3p	3,787025	0,003668	0,03
hsa-miR-10a-5p	-2,29968	0,005126	0,05
hsa-miR-375	-2,38632	0,000164	0,003

Примечание: значения «изменения экспрессии» со знаком «-» означают пониженную экспрессию.

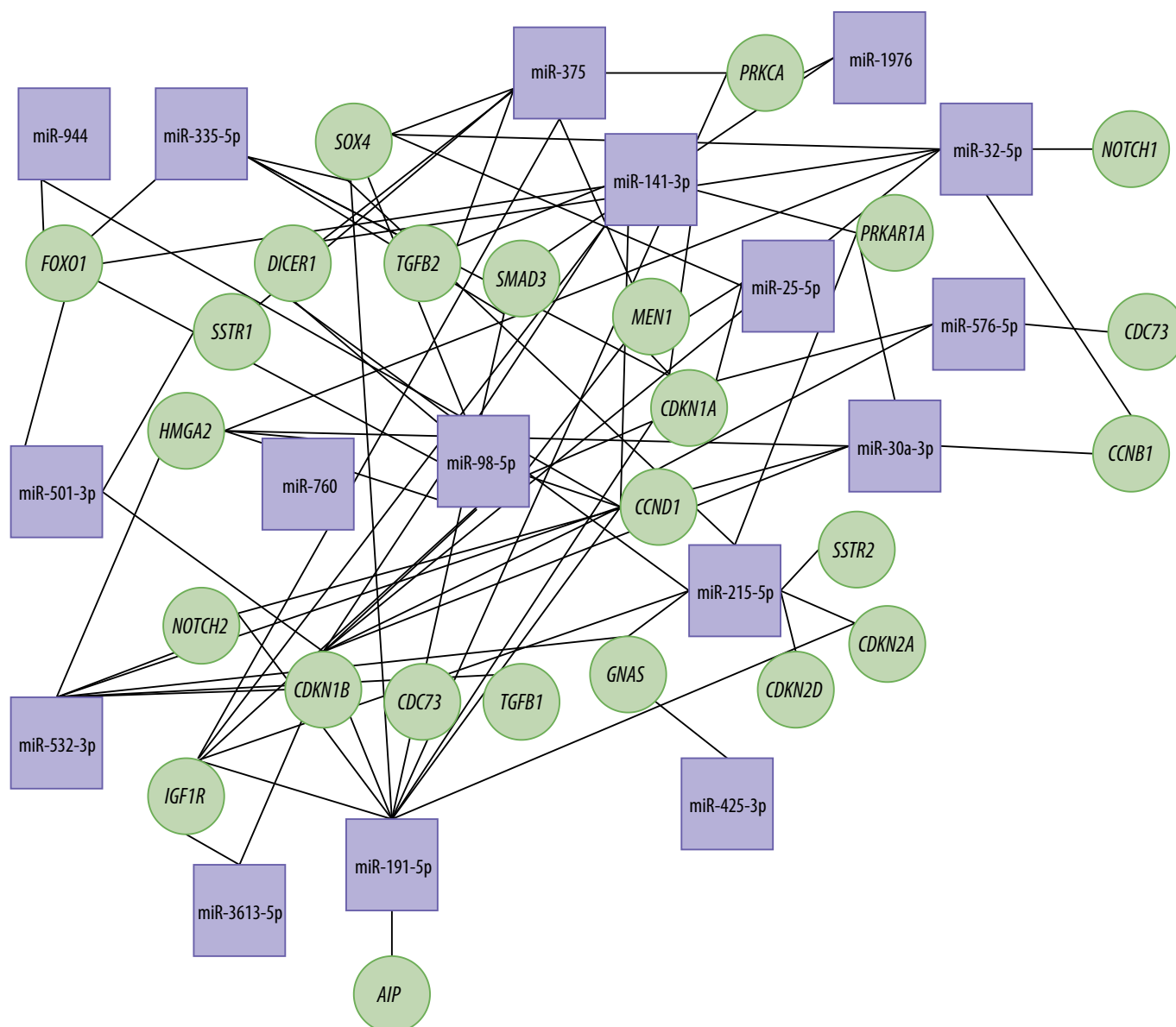


Рисунок 2. Сеть взаимодействия микроРНК и генов-мишеней. В квадратах указаны микроРНК, в кругах — гены-мишени.

Проведенный с помощью miRNet 2.0 [22] анализ показал, что обнаруженные микроРНК, влияя на их гены-мишени, регулируют транскрипционные факторы, молекулы сигнальных путей, клеточные циклы, дифференцировку клеток, канцерогенез и гены-онкосупрессоры (рис. 2). Большая часть обнаруженных микроРНК связана с процессами онкогенеза и клеточными циклами.

ОБСУЖДЕНИЕ

В нашем исследовании впервые изучены различия в экспрессии циркулирующих микроРНК плазмы крови у пациентов с гМЭН-1 и фМЭН-1 методом высокопроизводительного секвенирования, а также проведено их сравнение с группой контроля. Получено более 20 различно экспрессирующихся микроРНК при сравнении групп гМЭН-1 и фМЭН-1, а также более 30 микроРНК при сравнении их с группой контроля. МикроРНК, различия в экспрессии которых были выявлены, оказывают регуляторное воздействие, в том числе, на гены, мутации в которых приводят к развитию наследственных аденом гипофиза, а также к клинически схожему фенотипу МЭН-1.

Ранее оценка экспрессии микроРНК в сыворотке крови у пациентов с гМЭН-1 по сравнению с их здоровыми родственниками проводилась в работе Kooblall K.G. и соавт. [23]. В их исследовании анализ экспрессии циркулирующих микроРНК производился методом NGS с последующей валидацией методом qRT-PCR, по результатам которого было выявлено, что экспрессия miR-3156-5p значительно снижена у пациентов с гМЭН-1, чем у их родственников. Также в ходе эксперимента на BON-1 клетках НЭО поджелудочной железы с нокаутом гена *MEN1* было отмечено, что подавление miR-3156-5p может быть следствием снижения экспрессии менина. В нашей работе различий по данной микроРНК выявлено не было.

Согласно данным литературы, miR-24-1 [24], а также miR-4258, miR-664, miR-1301 [25] и miR-199b-5p [26], определенные в тканях аденом ОЩЖ гМЭН-1 и спорадических ПГПТ методом RT-qPCR, могут являться потенциальными прогностическими и диагностическими биомаркерами. Повышение уровня miR-24, по данным Luzi E. и соавт., коррелирует со снижением уровня менина, что может объяснять второй «удар» инактивации гена *MEN1* в МЭН-1-ассоциированных опухолях без потери гетерозиготности [24]. В нашем исследовании

miR-24 статистически значимо не отличалась между группами фМЭН-1 и гМЭН-1 ($p=0,999$), а также контрольной группой, в равной степени как и miR-4258 и miR-664, а экспрессия miR-1301 была повышена в группе гМЭН-1 по сравнению с фМЭН-1 ($p=0,032$) и контролем. Повышение miR-1301 в группе гМЭН-1 могло быть связано с большим количеством карциноидов легкого в этой группе [27], где данная микроРНК может являться промотором канцерогенеза.

В исследовании Luzi E. и соавт. [28] у пациента с гМЭН-1 был определен профиль экспрессии микроРНК в гастриноме, НЭО и нормальной ткани поджелудочной железы. Авторы отобрали 7 микроРНК при помощи NGS с дальнейшей валидацией результатов методом RT-qPCR: miR-378-3p, miR-1468-5p, miR-625-5p, miR-625-3p, miR-215-5p, miR-1301-3p; miR-212-5p. Так, экспрессия miR-212-5p и miR-1301-3p была повышена в НЭО поджелудочной железы и гастриноме по сравнению с нормальной тканью. А экспрессия miR-378-3p, miR-1468-5p, miR-625-5p, miR-215-5p была снижена в НЭО и гастриноме по сравнению с контролем. В нашем исследовании в группе гМЭН-1 выявлена повышенная экспрессия miR-215-5p по сравнению с фМЭН-1 ($p=0,05$) и контролем. В то же время в исследовании Lutsenko A. и соавт. при сравнении профиля экспрессии микроРНК пациентов со спорадической акромегалией и контролем было выявлено снижение уровней miR-4446-3p и miR-215-5p в группе акромегалии по сравнению с контролем [29], что может объяснять сниженную экспрессию miR-215-5p в группе фМЭН-1, учитывая наличие акромегалии у всех пациентов в этой группе. Усиление экспрессии miR-215-5p может быть связано также со злокачественными новообразованиями, так, например, повышение экспрессии miR-215-5p выявлено у пациентов с аденокарциномой протоков поджелудочной железы [30], с раком желудка [31], пациентов с остеосаркомой по сравнению с контролем [32] и у пациентов с раком молочной железы по сравнению с контрольной группой [33]. Между тем гиперэкспрессия miR-215-5p в клеточных линиях колоректального рака, наоборот, приводила к значительному снижению клоногенного потенциала, миграции и инвазивности этих клеток [34].

В исследовании Kim C. и соавт. на тканях НЭО поджелудочной железы miR-30a-3p конкурировала с HuD (РНК-связывающий белок, участвующий в посттранскрипционной регуляции мРНК) за связывание с 3'-НТО мРНК p27 (ингибитор циклин-зависимой киназы 1B, кодируемый геном *CDKN1B*), которое приводит к подавлению прогрессирования клеточного цикла и роста НЭО. Данные показывают, что HuD может являться основным супрессором роста НЭО поджелудочной железы, а miR-30a-3p взаимодействует с ним в контроле экспрессии p27 [35]. В нашем исследовании экспрессия miR-30a-3p была повышена в группе гМЭН-1 по сравнению с фМЭН-1 и контролем, что может быть связано с большим количеством НЭО ПЖ у пациентов с гМЭН-1 и возможным протективным действием, влияя на мРНК p27.

В исследовании He Z. и соавт. проанализировали, как профиль экспрессии микроРНК различался между СТГ-АГ, ПРЛ-АГ и НАГ, а также нормальной тканью гипофиза при помощи NGS и RT-qPCR. Уровни экспрессий miR-34c-3p,

miR-34b-5p, miR-338-5p и miR-375 оказались значительно ниже в группе ПРЛ-АГ по сравнению с контролем. В группе НАГ miR-493-5p и miR-124-3p были значительно подавлены, в то время как экспрессия miR-181b-5p была усилена по сравнению с контролем. В образцах СТГ-АГ экспрессия miR-184 была значительно усилена, тогда как экспрессия miR-124-3p была значительно снижена по сравнению с контролем [36]. В нашем исследовании экспрессия онкосупрессорной miR-375 была снижена при гМЭН-1 по сравнению со здоровым контролем, что коррелирует с результатами исследования He Z. и соавт. В другой работе Müssnich P. и соавт. проанализировали различия в характере экспрессии микроРНК между 12 гонадотропинами и нормальным гипофизом, выявив методом qRT-PCR две микроРНК с пониженной экспрессией (miR-432 и miR-410) и две с повышенной экспрессией (miR-374b и miR-17). В дальнейшем при сравнении гонадотропином, 12 ПРЛ-АГ и 12 СТГ-АГ было выявлено повышение экспрессии miR-410 в большинстве ПРЛ-АГ и в половине СТГ-АГ, в отличие от гонадотропином [37]. В нашем исследовании различий по miR-432, miR-410, miR-17 выявлено не было ($p=0,098$). Оценка циркулирующих микроРНК в периферической крови и в крови, оттекающей от гипофиза, проводилась также у пациентов с кортикотропиномой по сравнению с карциноидной опухолью другой локализации, где была выявлена более высокая экспрессия miR-383-3p, miR-4290 и miR-6717-5p и miR-302c-3p в крови, оттекающей от гипофиза, и повышенная экспрессия miR-16-5p и miR-145-5p в периферической крови [38; 39].

Mao D. и соавт. проанализировали взаимосвязь miR-944 и длинной нкРНК — ген-хозяин 6 малой ядрышковой РНК (SNHG6, участвует в процессах онкогенеза) в тканях инвазивных АГ. Экспрессия miR-944 была подавлена, а SNHG6 усилена в образцах ткани инвазивных АГ по сравнению с неинвазивными. SNHG6 заметно повышал жизнеспособность, миграцию, инвазию и эпителиально-мезенхимальный переход клеток АГ, тогда как miR-944 имела противоположные эффекты. Кроме того, было подтверждено, что miR-944 может соединяться с 3'-НТО *RAB11A* (участвует в онкогенезе при АГ, активируя сигнальный путь Wnt/ β -катенин) и подавлять его экспрессию. Это исследование подтверждает, что ось SNHG6/miR-994/*RAB11A* может играть решающую роль в регуляции пролиферации, миграции, инвазии и эпителиально-мезенхимального перехода клеток инвазивных АГ [40]. В нашем исследовании экспрессия онкосупрессорной miR-944 была повышена в группе фМЭН-1 по сравнению с контролем, что также может быть связано с отсутствием инвазивных АГ в этой группе.

В исследовании Valassi E. и соавт. проводилась оценка экспрессии циркулирующих микроРНК сыворотки, предположительно участвующих в метаболизме кости, у пациентов с компенсированной акромегалией по сравнению со здоровым контролем. У пациентов с акромегалией были выявлены сверхэкспрессия miR-103a-3p и miR-191-5p и снижение экспрессии miR-660-5p по сравнению с контролем ($p<0,001$) [41]. В нашем исследовании экспрессия miR-191-5p также была повышена у пациентов в группе фМЭН-1 по сравнению с контролем.

Ранее описанные изменения в экспрессии выявленных циркулирующих микроРНК в нейроэндокринных опухолях сведены в таблице 8.

Таблица 8. Обзор различно экспрессирующихся микроРНК в нейроэндокринных опухолях

Ткань/клетки	микроРНК (экспрессия)	Потенциальная биологическая роль	Метод анализа экспрессии микроРНК	Источник
Сыворотка, (МЭН-1 n=9; контроль n=9) BON-1 клетки	miR-3156-5p (↓)	Роль в онкогенезе ГЭП-НЭО	NGS, qRT-PCR	[23]
ОЩЖ (МЭН-1 n=8; спорадические n=4; нормальная n=1)	miR-24-1 (↑)		Нозерн-блот, qRT-PCR	[24]
ОЩЖ (ЛОН МЭН-1 n=4; МЭН-1 n=3; спорадические n=2)	miR-4258 (↑ или ↓); miR-664 (↑ или ↓); miR-1301 (↑)	Роль в онкогенезе аденом ОЩЖ	Микрочип, qRT-PCR	[25]
ОЩЖ (спорадические n=28; МЭН-1 n=15; нормальные n=27)	miR-199b-5p (↑ или ↓)		Микрочип, qRT-PCR	[26]
Поджелудочная железа (МЭН-1 гастриннома n=1; МЭН-1 НЭО ПЖ n=1; нормальная ПЖ n=1) BON-1 клетки	miR-378-3p (↓); miR-1468-5p (↓); miR-625-5p (↓); miR-625-3p (↓); miR-215-5p (↓); miR-1301-3p (↑); miR-212-5p (↑)	Роль в онкогенезе ГЭП-НЭО	NGS, qRT-PCR	[28]
Плазма (акромегалия n= 47 в активной стадии; контроль n=28)	miR-4446-3p (↓); miR-215-5p (↓)	—	NGS, qRT-PCR	[29]
Гипофиз (СТГ-АГ n=13; ПРЛ-АГ n=17; НАГ n=42; контроль n=6)	miR-34c-3p (↓); miR-34b-5p (↓); miR-338-5p (↓); miR-375 (↓); miR-493-5p (↓); miR-124-3p (↓); miR-181b-5p (↑); miR-184 (↑)	Регулирование опухолевой прогрессии	NGS, qRT-PCR	[36]
Гипофиз (Гонадотропиномы n=21; СТГ-АГ n=12; ПРЛ-АГ n=12; контроль n=3) клетки НЕК-293	miR-374b (↑); miR-17 (↑); miR-432 (↓); miR-410 (↓)	Развитие опухолей гипофиза	Микрочип, qRT-PCR	[37]
Плазма (БИК n=28; АКТГ-эктопия n=13 в активной стадии;; контроль n=11)	miR-16-5p (↑); miR-145-5p (↓); miR-7g-5p (↑)	—	qRT-PCR	[38]
Плазма (БИК n=28; АКТГ-эктопия n=13 — в активной стадии; контроль n=11)	miR-383-3p (↑); miR-4290 (↑); miR-6717-5p (↑); miR-302c-3p (↑); miR-1203 (↓); miR-1229-3p (↓); miR-639 (↓)	—	NGS	[39]
Гипофиз (инвазивные АГ n=30; неинвазивные АГ n=30) Линия клеток гипофиза человека HP75	miR-944 (↓)	Роль в онкогенезе АГ	qRT-PCR	[40]
Сыворотка, (компенсированная акромегалия n=27; контроль n=27)	miR-103a-3p (↑); miR-191-5p (↑); miR-660-5p (↓)	—	qRT-PCR	[41]

Ниже будут рассмотрены некоторые публикации, посвященные выявленному в нашем исследовании микроРНК, при других новообразованиях и заболеваниях. Наиболее отличающейся микроРНК между группами гМЭН-1 и фМЭН-1 в нашем исследовании является miR-3613-5p. Согласно исследованиям Ma J. и соавт. [42], Bai X. и соавт. [43] и Cao R. и соавт. [44], экспрессия miR-3613-5p снижена при раке поджелудочной железы, в особенности при метастазах опухоли, влияя на гены-мишени, участвующие в p53, TGF β (трансформирующий фактор роста бета) сигнальных путях. В исследовании He T. и соавт. выявлено, что miR-3613-5p является ключевым регулятором положительной обратной связи, лежащей в основе взаимосвязи между сигнальными путями NF- κ B/RELA и AKT/MAPK, участвующими в онкогенезе [45]. Также, по данным литературы, экспрессия miR-3613-5p повышена у пациентов со светлоклеточным раком почки [46] и у пациентов с резистентным к доксорубину раком молочной железы [47]. В нашей работе экспрессия потенциального промотора канцерогенеза miR-3613-5p была повышена в группе гМЭН-1 по сравнению с фМЭН-1, что может быть связано с большим количеством НЭО легких и опухолей других органов.

MiR-30a-3p, обозначенная нами ранее, также показала себя как онкосупрессор в других исследованиях. Так, в исследовании Wang W. и соавт. у 83,6% пациентов с гепатоцеллюлярной аденокарциномой (ГЦК) экспрессия miR-30a-3p была значительно снижена ($p < 0,0001$) в опухолях по сравнению с нормальной тканью. Сверхэкспрессия же miR-30a-3p оказывала ингибирующее действие на пролиферацию клеток, индуцировала апоптоз и увеличивала остановку клеток в S-фазе. В ходе эксперимента было выявлено, что miR-30a-3p регулирует функцию клеток ГЦК посредством механизма, включающего снижение экспрессии виментина и MMP3 (металло-протеиназа-3) и восстановление экспрессии E-кадгерина (мембранный белок, участвует в онкогенезе, кодируется геном *CDH1*) [48]. В работе Tanigawa K. и соавт. было продемонстрировано, что экспрессия miR-30a-3p ингибирует пролиферацию клеток и вызывает остановку клеточного цикла и апоптоз в двух клеточных линиях мелкоклеточного рака легких [49].

По данным Chen T. и соавт., экспрессия miR-335-5p в плазме крови была снижена у пациентов с трижды негативным раком молочной железы по сравнению со здоровым контролем [50], в то время как повышенная экспрессия miR-335-5p приводила к ингибированию ускользания от иммунного ответа, а полное отсутствие miR-335-5p способствовало росту опухоли. В работах на клетках рака поджелудочной железы [51], аденокартинального рака [52] и колоректального рака [53] пониженная экспрессия miR-335-5p была ассоциирована с более неблагоприятным прогнозом заболевания. И наоборот, повышение экспрессии miR-335-5p в основном приводило к снижению пролиферации и миграции опухолевых клеток [53–55]. МикроРНК miR-32-5p проявила себя как онкосупрессор при аденокарциноме поджелудочной железы [56] и как промотор онкогенеза в клетках плоскоклеточного рака полости рта [57].

В исследовании Makler A. и соавт. были отобраны четыре микроРНК: miR-93-5p, miR-339-3p, miR-425-5p и miR-425-3p, различно экспрессирующиеся в плазме кро-

ви пациентов с аденокарциномой протоков поджелудочной железы по сравнению с контролем, с целью создания панели для диагностики рака протоков поджелудочной железы. Панель из этих четырех микроРНК имела площадь под кривой 0,885 с чувствительностью 80% и специфичностью 94,7%, что сопоставимо со стандартной маркерной диагностикой CA19-9 [58]. Также повышенная экспрессия miR-425-3p, наряду с miR-584-5p, была обнаружена в плазме крови пациентов с колоректальным раком, и в целом эта микроРНК связана с неблагоприятным прогнозом при раках различных этиологий [59]. В то же время экспрессия miR-141-3p, miR-760, miR-501-3p также была различно изменена при колоректальном раке [60–62], раке поджелудочной железы [63, 64] и раке легкого [65–67]. Повышение экспрессии miR-141-3p способствовало пролиферации, миграции и инвазии клеток опухоли, в то время как miR-501-3p проявляла себя как потенциальный онкоген при колоректальном раке и раке протоков ПЖ и как онкосупрессор при мелкоклеточном раке легких. MiR-760 проявляла себя как онкосупрессор. Изменения экспрессии микроРНК miR-1976, miR-144-5p, miR-532-3p, miR-98-5p также в большинстве своем связаны со злокачественными новообразованиями, такими как рак яичника [68, 69], рак легкого [70–73], колоректальный рак [74–77], рак поджелудочной железы [78, 79].

МикроРНК miR-576-5p играет важную роль в развитии различных видов рака человека. Так, уровень экспрессии miR-576-5p в тканях папиллярного рака щитовидной железы (ПРЩЖ) и клетках ПРЩЖ (TPC-1) был значительно повышен, что способствует пролиферации, миграции и инвазии клеток TPC-1, а также индукции активации сигнального пути Akt/PKB (участвует в онкогенезе) [80]. В тканях аденокарциномы толстого кишечника была также выявлена усиленная экспрессия miR-576-5p, которая заметно способствовала пролиферации, миграции и инвазии клеток через регулятор роста нейронов 1 (NEGR1), который может являться основной терапевтической мишенью при аденокарциноме толстого кишечника [81]. Также повышенная экспрессия miR-576-5p была выявлена при раке эндометрия [82], где miR-576-5p способствовала пролиферации и метастазированию клеток рака эндометрия путем ингибирования экспрессии ZBTB4.

Все вышеуказанные микроРНК (табл. 9) были повышены в группе гМЭН-1 по сравнению с фМЭН-1 и контролем, что может быть, скорее всего, следствием протективного действия этих микроРНК в группе гМЭН-1 и большого количества злокачественных новообразований у этой группы пациентов.

В целом при сравнении гМЭН-1 и фМЭН-1 не выявлено различий в экспрессии miR-24, что могло бы натолкнуть на мысль о схожей посттранскрипционной регуляции и вовлеченности сигнальных путей, в которых участвует менин, однако различий по данной микроРНК не было выявлено и при сравнении обеих групп с контролем. Также отмечено количество одинаково различающихся микроРНК между группами гМЭН-1/фМЭН-1 и гМЭН-1/контролем (miR-25-5p, miR-576-5p, miR-532-3p, miR-30a-3p, miR-215-5p). Таким образом, пилотная работа показала различно экспрессирующиеся микроРНК в периферической крови, измеренные методом NGS, которые сильно отличаются у пациентов с мутацией

Таблица 9. Обзор полученных в рамках исследования микроРНК при других образованиях

МикроРНК	Ткани/клетки (экспрессия)	Потенциальная биологическая роль	Источник
miR-3613-5p	Cr ПЖ (↓)	Промотор канцерогенеза	[42]
			[43]
			[44]
	Cr легкого (↑)		[45]
	Светлоклеточный Cr почки (↑)		[46]
miR-30a-3p	Cr МЖ (↑)	Онкосупрессор	[47]
	ГЦК (↓)		[48]
	Мелкоклеточный Cr легких (↓)		[49]
miR-335-5p	Трижды негативный Cr МЖ (↓)	Онкосупрессор	[50]
	Cr ПЖ (↓)		[51]
	АКР (↓)		[52]
	Колоректальный Cr (↓)		[53]
	Cr МЖ (↓)		[54]
	Cr мочевого пузыря (↓)		[55]
miR-32-5p	Cr ПЖ (↓)	Онкосупрессор	[56]
	Плоскоклеточный Cr полости рта (↑)	Промотор канцерогенеза	[57]
miR-425-3p	Cr протоков ПЖ (↑)	Промотор канцерогенеза	[58]
	Колоректальный Cr (↑)		[59]
miR-141-3p	Колоректальный Cr (↑)	Промотор канцерогенеза	[60]
	Cr легкого		[65]
miR-501-3p	Колоректальный Cr (↑)	Промотор канцерогенеза	[62]
	Cr протоков ПЖ (↑)		[64]
	Мелкоклеточный Cr легких (↓)		[67]
miR-760	Колоректальный Cr (↓)	Онкосупрессор	[61]
	Cr ПЖ (↓)		[63]
	Немелкоклеточный Cr легких (↓)		[66]
miR-1976	Немелкоклеточный Cr легких (↓)	Онкосупрессор	[71]
	Колоректальный Cr (↓)		[77]
	Cr ПЖ и печени (↑)		[78]
miR-144-5p	Немелкоклеточный Cr легких (↓)	Онкосупрессор	[72]
	Колоректальный Cr (↓)		[74]
miR-532-3p	Cr яичников	Онкосупрессор	[68]
	Немелкоклеточный Cr легких (↓)		[70]
	Колоректальный Cr (↓)		[76]
	Cr ПЖ (↓)		[79]
miR-98-5p	Cr яичников	Промотор канцерогенеза	[69]
	Немелкоклеточный Cr легких (↓)	Онкосупрессор	[73]
	Колоректальный Cr		[75]
miR-576-5p	ПРЩЖ (↑)	Промотор канцерогенеза	[80]
	Cr толстого кишечника (↑)		[81]
	Cr эндометрия (↑)		[82]

Примечание: Cr — карцинома; ПЖ — поджелудочная железа; МЖ — молочная железа; ГЦК — гепатоцеллюлярная карцинома; ПРЩЖ — папиллярный рак щитовидной железы; (↓) — сниженная экспрессия; (↑) — повышенная экспрессия.

в гене *MEN1*, но в меньшей степени в группах фенокопий и контроля, что, по всей видимости, отражает влияние именно мутации в гене на общий пул микроРНК.

Ограничения исследования

Ограничениями данного исследования являются малый размер выборки, различия по возрасту (использован age-adjustment) и аденомам гипофиза с разным типом секреции в группах гМЭН-1 и фМЭН-1. В нашем исследовании также проводилась оценка микроРНК из периферической крови, и мы, скорее всего, не можем исключить, что некоторые изменения могут отражать специфические действия в других тканях. Однако, учитывая воздействие указанных патологий на весь организм, можно предположить, что полученные из периферической крови микроРНК, вероятно, могут отражать изменения, вызванные именно этими заболеваниями. По результатам представленного исследования установлена гипотеза о различиях в экспрессии циркулирующих микроРНК между представленными группами. Для подтверждения выявленных результатов необходимо провести валидизацию, расширив выборку пациентов с использованием метода RT-qPCR, а также включив пациентов с другим типом секреции АГ в группу фенокопий.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Впервые в нашей работе изучены различия в экспрессии циркулирующих микроРНК плазмы крови у пациен-

тов с генетически подтвержденным синдромом МЭН-1, его фенокопиями и контрольной группой методом высокопроизводительного секвенирования. Отобраны наиболее отличающиеся по экспрессии микроРНК среди групп для дальнейшей валидации результатов методом RT-qPCR (в группах генетически подтвержденного МЭН-1 против фенокопий синдрома — miR-3613-5p, miR-335-5p, miR-32-5p, miR-425-3p, miR-25-5p, miR-576-5p, miR-215-5p, miR-30a-3p, miR-141-3p, miR-760, miR-501-3p; против контроля — miR-1976, miR-144-5p, miR-532-3p, miR-375; а также в группах фенокопий синдрома МЭН-1 против контроля — miR-944, miR-191-5p, miR-98-5p). В целом полученные результаты, скорее всего, могут отражать взаимосвязь выявленных микроРНК и их генов-мишеней на транскрипционные факторы, молекулы сигнальных путей, клеточные циклы, дифференцировку клеток и гены-онкосупрессоры.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Источники финансирования. Исследование выполнено в рамках гранта Российского научного фонда №19-15-00398.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с содержанием настоящей статьи.

Участие авторов. 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 или добросовестностью любой части работы.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

- Nachtigall LB, Guarda FJ, Lines KE, et al. Clinical MEN-1 among a large cohort of patients with acromegaly. *J Clin Endocrinol Metab.* 2020;105(6):e2271-e2281. doi: <https://doi.org/10.1210/clinem/dgaa142>
- Brandi ML, Agarwal SK, Perrier ND, et al. Multiple endocrine neoplasia type 1: Latest insights. *Endocr Rev.* 2021;42(2):133-170. doi: <https://doi.org/10.1210/endrev/bnaa031>
- Kooblall KG, Boon H, Cranston T, et al. Multiple Endocrine Neoplasia Type 1 (MEN1) 5'UTR deletion, in MEN1 family, decreases menin expression. *J Bone Miner Res.* 2021;36(1):100-109. doi: <https://doi.org/10.1002/jbmr.4156>
- Thakker RV. Multiple endocrine neoplasia type 1 (MEN1) and type 4 (MEN4). *Mol Cell Endocrinol.* 2014;386(1-2):2-15. doi: <https://doi.org/10.1016/j.mce.2013.08.002>
- Knudson AG Jr. Mutation and cancer: statistical study of retinoblastoma. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1971;68(4):820-823. doi: <https://doi.org/10.1073/pnas.68.4.820>
- Marini F, Brandi ML. Role of miR-24 in multiple endocrine neoplasia type 1: A potential target for molecular therapy. *Int J Mol Sci.* 2021;22(14):7352. doi: <https://doi.org/10.3390/ijms22147352>
- Agarwal SK. The future: genetics advances in MEN1 therapeutic approaches and management strategies. *Endocr Relat Cancer.* 2017;24(10):T119-T134. doi: <https://doi.org/10.1530/ERC-17-0199>
- Backman S, Bajic D, Crona J, Hellman P, et al. Whole genome sequencing of apparently mutation-negative MEN1 patients. *Eur J Endocrinol.* 2020;182(1):35-45. doi: <https://doi.org/10.1530/EJE-19-0522>
- Мамедова Е.О., Димитрова Д.А., Белая Ж.Е., Мельниченко Г.А. Роль некодирующих РНК в патогенезе синдрома множественных эндокринных неоплазий 1 типа // *Проблемы эндокринологии.* — 2020. — Т. 66. — №2. — С. 4-12. [Mamedova EO, Dimitrova DA, Belaya ZE, Melnichenko GA. The role of non-coding RNAs in the pathogenesis of multiple endocrine neoplasia syndrome type 1. *Problems of Endocrinology.* 2020;66(2):4-12. (In Russ.)]. doi: <https://doi.org/10.18508/endo5756>
- Coyle KM, Boudreau JE, Marcato P. Genetic mutations and epigenetic modifications: driving cancer and informing precision medicine. *Biomed Res Int.* 2017;2017:1-18. doi: <https://doi.org/10.1155/2017/9620870>
- Tan T, Shi P, Abbas MN, et al. Epigenetic modification regulates tumor progression and metastasis through EMT (Review). *Int J Oncol.* 2022;60(6):70. doi: <https://doi.org/10.3892/ijo.2022.5360>
- Marini F, Giusti F, Tonelli F, Brandi ML. Pancreatic neuroendocrine neoplasms in multiple endocrine neoplasia type 1. *Int J Mol Sci.* 2021;22(8):4041. doi: <https://doi.org/10.3390/ijms22084041>
- De Paoli-Iseppi R, Prentice L, Marthick JR, et al. Multiple endocrine neoplasia type 1: clinical correlates of MEN1 gene methylation. *Pathology.* 2018;50(6):622-628. doi: <https://doi.org/10.1016/j.pathol.2018.05.006>
- Conemans EB, Lodewijk L, Moelans CB, et al. DNA methylation profiling in MEN1-related pancreatic neuroendocrine tumors reveals a potential epigenetic target for treatment. *Eur J Endocrinol.* 2018;179(3):153-160. doi: <https://doi.org/10.1530/EJE-18-0195>
- Wang LH, Wu CF, Rajasekaran N, Shin YK. Loss of tumor suppressor gene function in human cancer: An overview. *Cell Physiol Biochem.* 2018;51(6):2647-2693. doi: <https://doi.org/10.1159/000495956>
- Butz H. Circulating noncoding RNAs in pituitary neuroendocrine tumors—two sides of the same coin. *Int J Mol Sci.* 2022;23(9):5122. doi: <https://doi.org/10.3390/ijms23095122>
- O'Brien J, Hayder H, Zayed Y, Peng C. Overview of MicroRNA biogenesis, mechanisms of actions, and circulation. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2018;9:402. doi: <https://doi.org/10.3389/fendo.2018.00402>
- Anfossi S, Babayan A, Pantel K, Calin GA. Clinical utility of circulating non-coding RNAs — an update. *Nat Rev Clin Oncol.* 2018;15(9):541-563. doi: <https://doi.org/10.1038/s41571-018-0035-x>
- Fritz J V., Heintz-Buschart A, Ghosal A, et al. Sources and functions of extracellular small RNAs in human circulation. *Annu Rev Nutr.* 2016;36(1):301-336. doi: <https://doi.org/10.1146/annurev-nutr-071715-050711>

20. Cortez MA, Bueso-Ramos C, Ferdin J, et al. MicroRNAs in body fluids the mix of hormones and biomarkers. *Nat Rev Clin Oncol*. 2011;8(8):467-477. doi: <https://doi.org/10.1038/nrclinonc.2011.76>
21. Трухина Д.А., Мамедова Е.О., Лапшина А.М., и др. Морфологические характеристики аденом гипофиза в рамках фенокопий синдрома множественных эндокринных неоплазий 1 типа // *Проблемы эндокринологии*. — 2021. — Т. 67. — №6. — С. 50-58. [Trukhina DA, Mamedova EO, Lapshina AM, et al. Morphological characteristics of pituitary adenomas in the phenocopy of multiple endocrine neoplasia type 1. *Problems of Endocrinology*. 2021;67(6):50-58. (In Russ.)]. doi: <https://doi.org/10.14341/probl12815>
22. Chang L, Xia J. MicroRNA regulatory network analysis using miRNet 2.0. *Annual Review of Nutrition*. 2023;36(1):185-204. doi: https://doi.org/10.1007/978-1-0716-2815-7_14
23. Kooblall KG, Stokes VJ, Shariq OA, et al. MiR-3156-5p is downregulated in serum of MEN1 patients and regulates expression of MORF4L2. *Endocr Relat Cancer*. 2022;29(10):557-568. doi: <https://doi.org/10.1530/ERC-22-0045>
24. Luzi E, Marini F, Giusti F, et al. The negative feedback-loop between the oncomir Mir-24-1 and menin modulates the Men1 tumorigenesis by mimicking the «Knudson's second hit». *PLoS One*. 2012;7(6):e39767. doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0039767>
25. Luzi E, Ciuffi S, Marini F, et al. Analysis of differentially expressed microRNAs in MEN1 parathyroid adenomas. *Am J Transl Res*. 2017;9(4):1743-1753.
26. Hwang S, Jeong JJ, Kim SH, et al. Differential expression of miRNA199b-5p as a novel biomarker for sporadic and hereditary parathyroid tumors. *Sci Rep*. 2018;8(1):12016. doi: <https://doi.org/10.1038/s41598-018-30484-9>
27. Xu L, Ni N, Gao H, Hu P. MicroRNA-1301-3p promotes the progression of non-small cell lung cancer by targeting Thy-1 and predicts poor prognosis of patients. *Oncol Lett*. 2021;21(4):327. doi: <https://doi.org/10.3892/ol.2021.12589>
28. Luzi E, Pandolfini L, Ciuffi S, et al. MicroRNAs regulatory networks governing the epigenetic landscape of MEN1 gastro-entero-pancreatic neuroendocrine tumor: A case report. *Clin Transl Med*. 2021;11(4):e351. doi: <https://doi.org/10.1002/ctm2.351>
29. Lutsenko A, Belaya Z, Nikitin A, et al. Circulating plasma MicroRNA in patients with active acromegaly. *J Clin Endocrinol Metab*. 2022;107(2):500-511. doi: <https://doi.org/10.1210/clinem/dgab695>
30. Khan IA, Rashid S, Singh N, et al. Panel of serum miRNAs as potential non-invasive biomarkers for pancreatic ductal adenocarcinoma. *Sci Rep*. 2021;11(1):2824. doi: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-82266-5>
31. Zhang Y, Huang F, Xu N, et al. Overexpression of serum extracellular vesicle microRNA-215-5p is associated with early tumor recurrence and poor prognosis of gastric cancer. *Clinics*. 2021;76(12):e2081. doi: <https://doi.org/10.6061/clinics/2021/e2081>
32. Monterde-Cruz L, Ramírez-Salazar EG, Rico-Martínez G, et al. Circulating miR-215-5p and miR-642a-5p as potential biomarker for diagnosis of osteosarcoma in Mexican population. *Hum Cell*. 2018;31(4):292-299. doi: <https://doi.org/10.1007/s13577-018-0214-1>
33. Li M, Zou X, Xia T, et al. A five-miRNA panel in plasma was identified for breast cancer diagnosis. *Cancer Med*. 2019;8(16):7006-7017. doi: <https://doi.org/10.1002/cam4.2572>
34. Machackova T, Vychytilova-Faltejskova P, Souckova K, et al. MiR-215-5p Reduces liver metastasis in an experimental model of colorectal cancer through regulation of ECM-receptor interactions and focal adhesion. *Cancers (Basel)*. 2020;12(12):3518. doi: <https://doi.org/10.3390/cancers12123518>
35. Kim C, Jeong DE, Heo S, et al. Reduced expression of the RNA-binding protein HuD in pancreatic neuroendocrine tumors correlates with low p27^{Kip1} levels and poor prognosis. *J Pathol*. 2018;246(2):231-243. doi: <https://doi.org/10.1002/path.5135>
36. He Z, Chen L, Hu X, et al. Next-generation sequencing of microRNAs reveals a unique expression pattern in different types of pituitary adenomas. *Endocr J*. 2019;66(8):709-722. doi: <https://doi.org/10.1507/endocrj.EJ18-0487>
37. Müssnich P, Raverot G, Jaffrain-Rea ML, et al. Downregulation of miR-410 targeting the cyclin B1 gene plays a role in pituitary gonadotroph tumors. *Cell Cycle*. 2015;14(16):2590-2597. doi: <https://doi.org/10.1080/15384101.2015.1064207>
38. Belaya Z, Khandavaeva P, Nonn L, et al. Circulating plasma microRNA to differentiate Cushing's disease from ectopic ACTH syndrome. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2020;11:331. doi: <https://doi.org/10.3389/fendo.2020.00331>
39. Малыгина А.А., Белая Ж.Е., Никитин А.Г., и др. Экспрессии микроРНК в плазме крови, оттекающей от гипофиза, у пациентов с болезнью Иценко–Кушинга и АКТП-эктопированным синдромом // *Проблемы Эндокринологии*. — 2021. — Т. 67. — №6. — С. 18-30. [Malygina AA, Belaya ZE, Nikitin AG, et al. Differences in plasma miRNA levels in inferior petrosal sinus samples of patients with ACTH-dependent Cushing's syndrome. *Problems of Endocrinology*. 2021;67(6):18-30. (In Russ.)]. doi: <https://doi.org/10.14341/probl12817>
40. Mao D, Jie Y, Lv Y. LncRNA SNHG6 induces epithelial-mesenchymal transition of pituitary adenoma via suppressing MiR-944. *Cancer Biother Radiopharm*. 2022;37(4):246-255. doi: <https://doi.org/10.1089/cbr.2020.3587>
41. Valassi E, García-Giralte N, Malouf J, et al. Circulating miR-103a-3p and miR-660-5p are associated with bone parameters in patients with controlled acromegaly. *Endocr Connect*. 2019;8(1):39-49. doi: <https://doi.org/10.1530/EC-18-0482>
42. Ma J, Sun S, Song C, et al. Screening potential microRNAs associated with pancreatic cancer: Data mining based on RNA sequencing and microarrays. *Exp Ther Med*. 2020;20(3):2705-2715. doi: <https://doi.org/10.3892/etm.2020.8991>
43. Bai X, Lu D, Lin Y, Lv Y, He L. A seven-miRNA expression-based prognostic signature and its corresponding potential competing endogenous RNA network in early pancreatic cancer. *Exp Ther Med*. 2019;18(3):1601-1608. doi: <https://doi.org/10.3892/etm.2019.7728>
44. Cao R, Wang K, Long M, et al. miR-3613-5p enhances the metastasis of pancreatic cancer by targeting CDK6. *Cell Cycle*. 2020;19(22):3086-3095. doi: <https://doi.org/10.1080/15384101.2020.1831254>
45. He T, Shen H, Wang S, et al. MicroRNA-3613-5p promotes lung adenocarcinoma cell proliferation through a RELA and AKT/MAPK positive feedback loop. *Mol Ther - Nucleic Acids*. 2020;22(2):572-583. doi: <https://doi.org/10.1016/j.omtn.2020.09.024>
46. Qin S, Shi X, Wang C, Jin P, Ma F. Transcription factor and miRNA interplays can manifest the survival of ccRCC patients. *Cancers (Basel)*. 2019;11(11):1668. doi: <https://doi.org/10.3390/cancers11111668>
47. Luo L, Zhang X, Rousuli Y, Aini A. Exosome-mediated transfer of miR-3613-5p enhances doxorubicin resistance by suppression of PTEN expression in breast cancer cells. *J Oncol*. 2022;2022:1-10. doi: <https://doi.org/10.1155/2022/9494910>
48. Wang W, Lin H, Zhou L, et al. MicroRNA-30a-3p inhibits tumor proliferation, invasiveness and metastasis and is downregulated in hepatocellular carcinoma. *Eur J Surg Oncol*. 2014;40(11):1586-1594. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ejso.2013.11.008>
49. Tanigawa K, Misono S, Mizuno K, et al. MicroRNA signature of small-cell lung cancer after treatment failure: impact on oncogenic targets by miR-30a-3p control. *Mol Oncol*. 2023;17(2):328-343. doi: <https://doi.org/10.1002/1878-0261.13339>
50. Chen T, Dong Y, Wu X. Plasma exosomal miR-335-5p serves as a diagnostic indicator and inhibits immune escape in triple-negative breast cancer. *Xi Bao Yu Fen Zi Mian Yi Xue Za Zhi*. 2022;38(4):347-356.
51. Hu Z, Song F, Hu Y, Liao T. Systematic analysis of the expression and prognostic significance of P4HA1 in pancreatic cancer and construction of a lncRNA-miRNA-P4HA1 regulatory axis. *Biomed Res Int*. 2020;2020:1-30. doi: <https://doi.org/10.1155/2020/8877334>
52. Subramanian C, McCallister R, Cohen MS. Multi-genomic analysis of 260 adrenocortical cancer patient tumors identifies novel network BIRC5-hsa-miR-335-5p-PAX8-AS1 strongly associated with poor survival. *Surgery*. 2023;173(1):43-51. doi: <https://doi.org/10.1016/j.surg.2022.08.025>
53. Zhang D, Yang N. MiR-335-5p inhibits cell proliferation, migration and invasion in colorectal cancer through downregulating LDHB. *J BUON*. 2019;24(3):1128-1136.
54. Jia Q, Ye L, Xu S, et al. Circular RNA 0007255 regulates the progression of breast cancer through miR-335-5p/SIX2 axis. *Thorac Cancer*. 2020;11(3):619-630. doi: <https://doi.org/10.1111/1759-7714.13306>
55. Wang C, Jiang H. Long non-coding RNA PCAT19 regulates the malignant progression of bladder cancer through the miR-335-5p/IER2 axis. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr*. 2022;32(8):81-94. doi: <https://doi.org/10.1615/CritRevEukaryotGeneExpr.2022043175>
56. Yuan P, Tang C, Chen B, et al. MiR325p suppresses the proliferation and migration of pancreatic adenocarcinoma cells by targeting TLDC1. *Mol Med Rep*. 2021;24(5):752. doi: <https://doi.org/10.3892/mmr.2021.12392>

57. Qin SY, Li B, Chen M, et al. MiR-32-5p promoted epithelial-to-mesenchymal transition of oral squamous cell carcinoma cells via regulating the KLF2/CXCR4 pathway. *Kaohsiung J Med Sci*. 2022;38(2):120-128. doi: <https://doi.org/10.1002/kjm.212450>
58. Makler A, Asghar W. Exosomal miRNA biomarker panel for pancreatic ductal adenocarcinoma detection in patient plasma: A pilot study. *Int J Mol Sci*. 2023;24(6):5081. doi: <https://doi.org/10.3390/ijms24065081>
59. Gasporello J, Papi C, Zurlo M, et al. MicroRNAs miR-584-5p and miR-425-3p are up-regulated in plasma of colorectal cancer (CRC) patients: Targeting with inhibitor peptide nucleic acids is associated with induction of apoptosis in colon cancer cell lines. *Cancers (Basel)*. 2022;15(1):128. doi: <https://doi.org/10.3390/cancers15010128>
60. Meltzer S, Bjørnstrøm T, Lyckander LG, et al. Circulating exosomal miR-141-3p and miR-375 in metastatic progression of rectal cancer [published correction appears in *Transl Oncol*. 2020;13(1):122-124]. *Transl Oncol*. 2019;12(8):1038-1044. doi: <https://doi.org/10.1016/j.tranon.2019.04.014>
61. Cao L, Liu Y, Wang D, et al. MiR-760 suppresses human colorectal cancer growth by targeting BATF3/AP-1/cyclinD1 signaling. *J Exp Clin Cancer Res*. 2018;37(1):83. doi: <https://doi.org/10.1186/s13046-018-0757-8>
62. Wu F, Xing T, Gao X, Liu F. MiR5013p promotes colorectal cancer progression via activation of Wnt/ β catenin signaling. *Int J Oncol*. 2019;55(3):671-683. doi: <https://doi.org/10.3892/ijo.2019.4852>
63. Yang D, Hu Z, Xu J, et al. MiR-760 enhances sensitivity of pancreatic cancer cells to gemcitabine through modulating Integrin β 1. *Biosci Rep*. 2019;39(11):BSR20192358. doi: <https://doi.org/10.1042/BSR20192358>
64. Yin Z, Ma T, Huang B, et al. Macrophage-derived exosomal microRNA-501-3p promotes progression of pancreatic ductal adenocarcinoma through the TGFBR3-mediated TGF- β signaling pathway. *J Exp Clin Cancer Res*. 2019;38(1):310. doi: <https://doi.org/10.1186/s13046-019-1313-x>
65. Wang Y, Ren F, Sun D, et al. CircKEAP1 suppresses the progression of lung adenocarcinoma via the miR-141-3p/KEAP1/NRF2 axis. *Front Oncol*. 2021;(11):672586. doi: <https://doi.org/10.3389/fonc.2021.672586>
66. Wang W, He B. WITHDRAWN: MiR-760 inhibits the progression of non-small cell lung cancer through blocking ROS1/Ras/Raf/MEK/ERK pathway. *Biosci Rep*. 2020;11. doi: <https://doi.org/10.1042/BSR20182483>
67. Lu J, Zhou L, Wu B, et al. MiR-501-3p functions as a tumor suppressor in non-small cell lung cancer by downregulating RAP1A. *Exp Cell Res*. 2020;387(1):111752. doi: <https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2019.111752>
68. Tuo X, Zhou Y, Yang X, et al. MiR-532-3p suppresses proliferation and invasion of ovarian cancer cells via GPNMB/HIF-1 α /HK2 axis. *Pathol - Res Pract*. 2022;237:154032. doi: <https://doi.org/10.1016/j.prp.2022.154032>
69. Wang Y, Bao W, Liu Y, et al. MiR-98-5p contributes to cisplatin resistance in epithelial ovarian cancer by suppressing miR-152 biogenesis via targeting Dicer1. *Cell Death Dis*. 2018;9(5):447. doi: <https://doi.org/10.1038/s41419-018-0390-7>
70. Jiang W, Zheng L, Yan Q, et al. MiR-532-3p inhibits metastasis and proliferation of non-small cell lung cancer by targeting FOXF3. *J BUON*. 2019;24(6):2287-2293.
71. Chen G, Hu J, Huang Z, et al. MicroRNA-1976 functions as a tumor suppressor and serves as a prognostic indicator in non-small cell lung cancer by directly targeting PLCE1. *Biochem Biophys Res Commun*. 2016;473(4):1144-1151. doi: <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2016.04.030>
72. Song L, Peng L, Hua S, et al. MiR-144-5p enhances the radiosensitivity of non-small-cell lung cancer cells via targeting ATF2. *Biomed Res Int*. 2018;2018:1-10. doi: <https://doi.org/10.1155/2018/5109497>
73. Wu F, Mo Q, Wan X, Dan J, Hu H. NEAT1/hsa-mir-98-5p/MAPK6 axis is involved in non-small-cell lung cancer development. *J Cell Biochem*. 2019;120(3):2836-2846. doi: <https://doi.org/10.1002/jcb.26442>
74. Gao Z, Jiang J, Hou L, Zhang B. Dysregulation of MiR-144-5p/RNF187 axis contributes to the progression of colorectal cancer. *J Transl Int Med*. 2022;10(1):65-75. doi: <https://doi.org/10.2478/jtim-2021-0043>
75. Kenneth MJ, Shishir TA, Haque FKM. In silico analysis reveals mir-98-5p as a potential inhibitor of tumor cell proliferation and metastasis in colorectal cancer by targeting the fzd3 receptor of the Wnt signaling pathway. *J Genet Eng Biotechnol*. 2023;21(1):79. doi: <https://doi.org/10.1186/s43141-023-00532-7>
76. Zhou D, Liao Z, Chen X, et al. LncRNA MHENCR predicts poor outcomes in patients with colorectal carcinoma and modulates tumorigenesis by impairing MiR-532-3p. *Tohoku J Exp Med*. 2022;259(1):77-84. doi: <https://doi.org/10.1620/tjem.2022.J089>
77. Sahu SS, Dey S, Nabinger SC, et al. The role and therapeutic potential of mirnas in colorectal liver metastasis. *Sci Rep*. 2019;9(1):15803. doi: <https://doi.org/10.1038/s41598-019-52225-2>
78. Lee TY, Tseng CJ, Wang JW, et al. Anti-microRNA-1976 as a novel approach to enhance chemosensitivity in XAF1+ pancreatic and liver cancer. *Biomedicine*. 2023;11(4):1136. doi: <https://doi.org/10.3390/biomedicine11041136>
79. Wang K, Gong D, Qiao X, Zheng J. MiR-532-3p inhibited the methylation of SOCS2 to suppress the progression of PC by targeting DNMT3A. *Life Sci Alliance*. 2023;6(5):e202201703. doi: <https://doi.org/10.26508/lsa.202201703>
80. Hai R, Zhou Y, Li F, et al. MiR-576-5p promotes the proliferation of papillary thyroid carcinoma through the MAPK4-AKT pathway. *Int J Anal Chem*. 2022;2022:1-11. doi: <https://doi.org/10.1155/2022/1428411>
81. Jin L, Li X, Zhao Y, et al. MiR-576-5p facilitates aggressive cell behaviors in colon adenocarcinoma via targeting NEGR1. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr*. 2022;32(7):25-33. doi: <https://doi.org/10.1615/CritRevEukaryotGeneExpr.2022043160>
82. Chen C, Zhang Q, Kong B. MiRNA-576-5p promotes endometrial cancer cell growth and metastasis by targeting ZBTB4. *Clin Transl Oncol*. 2023;25(3):706-720. doi: <https://doi.org/10.1007/s12094-022-02976-8>

Рукопись получена: 29.08.2023. Одобрена к публикации: 22.11.2023. Опубликовано online: 31.12.2023.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ [AUTHORS INFO]

***Трухина Диана Аршалуйсовна [Diana A. Trukhina, MD]**; адрес: Россия, 117036, г. Москва, ул. Дм. Ульянова, д. 11 [address: 11 Dm. Ulyanova street, 117036 Moscow, Russia]; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-1359-8297>; SPIN-код: 5618-8971; e-mail: diadavtyan@gmail.com

Мамедова Елизавета Октаевна, к.м.н. [Elizaveta O. Mamedova, MD, PhD]; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-9783-3599>; SPIN-код: 3904-6017; e-mail: lilybet@mail.ru

Никитин Алексей Георгиевич, к.б.н. [Alexey G. Nikitin, PhD]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9762-3383>; SPIN-код: 3367-0680; e-mail: avialn@gmail.com

Кошкин Филипп Александрович, к.б.н. [Philipp A. Koshkin, PhD]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9512-9277>; SPIN-код: 5627-2121; e-mail: philipkoshkin@gmail.com

Белая Жанна Евгеньевна, д.м.н., профессор [Zhanna E. Belaya, MD, PhD, Professor]; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-6674-6441>; SPIN-код: 4746-7173; e-mail: jannabelaya@gmail.com

Мельниченко Галина Афанасьевна, д.м.н., профессор, академик РАН [Galina A. Melnichenko, MD, PhD, professor]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5634-7877>; SPIN-код: 8615-0038; email: teofrast2000@mail.ru

ЦИТИРОВАТЬ:

Трухина Д.А., Мамедова Е.О., Никитин А.Г., Кошкин Ф.А., Белая Ж.Е., Мельниченко Г.А. Различия в экспрессии микроРНК в плазме крови у пациентов с генетически подтвержденным синдромом множественных эндокринных неоплазий 1 типа и их фенокопиями // *Проблемы эндокринологии*. — 2023. — Т. 69. — №6. — С. 70-85. doi: <https://doi.org/10.14341/probl13357>

TO CITE THIS ARTICLE:

Trukhina DA, Mamedova EO, Nikitin AG, Koshkin PA, Belaya ZE, Melnichenko GA. Plasma miRNA expression in patients with genetically confirmed multiple endocrine neoplasia type 1 syndrome and its phenocopies. *Problems of Endocrinology*. 2023;69(6):70-85. doi: <https://doi.org/10.14341/probl13357>