



## Влияние таксанов на экспрессию miR-106 и miR-200c клетками рака предстательной железы in vivo и in vitro

© Даниил С. Плевако, Маргарита С. Князева, Елена И. Сидина,  
Мария В. Беркут, Сергей А. Рева, Станислав С. Толмачев,  
Анна С. Артемьева, Александр К. Носов, Анастасия В. Малек

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Петрова» Минздрава России

197758, Россия, г. Санкт-Петербург, пос. Песочный, ул. Ленинградская, д. 68

### Аннотация

**Введение.** Сочетание антиандрогенных и цитостатических препаратов в рамках нео-адьювантной терапии пациентов с локально-распространённым раком предстательной железы высокого риска (РПЖ-ВР) оправдано результатами ряда клинических испытаний. Но клинический эффект такой терапии в каждом случае определяется чувствительностью клеток опухоли к используемым препаратам, что определяет возможность разработки и применения технологий персонализации. МикроРНК — класс регуляторных молекул, изменения экспрессии которых в клетках РПЖ могут быть ассоциированы с чувствительностью / резистентностью опухоли к определённым цитостатикам, например, таксанам.

**Цель исследования.** Идентифицировать потенциальные микроРНК-маркеры чувствительности клеток рака предстательной железы к таксаном.

**Материалы и методы.** Объектом для исследования служили образцы ткани РПЖ-ВР (n = 56), полученные после проведения радикальной простатэктомии, линии клеток РПЖ (PC-3, DU-145, LNCap). Выделение тотальной РНК проведено с помощью наборов miRNeasy FFPE Kit, LRU-100-50. Для полуколичественного анализа потенциально маркерных молекул микроРНК с помощью последовательных реакций обратной транскрипции ПЦР были использованы наборы реагентов miRCURY LNA miRNA Focus PCR Panel, All-MIR.

**Результаты.** Воздействие таксанов на клетки РПЖ ассоциировано с активацией экспрессии miR-106b и снижением экспрессии miR-200c в условиях in vivo и in vitro.

**Заключение.** Микро-РНК miR-106b и miR-200c участвуют в реакции клеток РПЖ на воздействие таксанов, поэтому терапевтическая модификация состава этих молекул в клетках РПЖ является потенциальной стратегией повышения чувствительности клеток к таксан-содержащей терапии. Соответствующая инновационная технология может быть востребована в рамках терапии пациентов с РПЖ-ВР.

**Ключевые слова:** рак предстательной железы; микроРНК; таксаны; доцетаксел; паклитаксел

**Аббревиатуры:** радикальная простатэктомия (РП); рак предстательной железы высокого риска (РПЖ-ВР); химиогормональная терапия (ХГТ); нео-адьювантная химиогормональная терапия + радикальная простатэктомия (ХГТ-РП)

**Финансирование.** Исследование выполнено в рамках государственного задания «Разработка и клиническая апробация методов диагностики и прогнозирования эффекта терапии онкологических заболеваний на основе анализа микроРНК в биопсийном материале» (№ 121032300206-4) 2021 – 2023. **Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов. **Этическое заявление.** Исследование одобрено Локальным независимым этическим комитетом ФГБУ «НИИ онкологии имени Н.Н. Петрова» Минздрава России (Протокол № 1 от 28 января 2021 года). **Информированное согласие.** Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании и обработку персональных данных. **Вклад авторов:** Д.С. Плевако, М.С. Князева, Е.И. Сидина — проведение лабораторной части исследования, включая выделение и анализ микроРНК, in vitro эксперименты; М.В. Беркут, С.А. Рева — выполнение клинической части работы, включая формирование групп пациентов и анализ результатов; С.С. Толмачев, А.С. Артемьева — морфологический анализ, подбор и подготовка образцов РПЖ; А.К. Носов, А.В. Малек — концепция исследования, организация работы, анализ результатов, написание текста рукописи.

✉ **Корреспондирующий автор:** Анастасия Валерьевна Малек; e-mail: [anastasia@malek.com.ru](mailto:anastasia@malek.com.ru)

**Поступила в редакцию:** 02.09.2022. **Принята к публикации:** 08.11.2022. **Опубликована:** 26.12.2022.

**Для цитирования:** Плевако Д.С., Князева М.С., Сидина Е.И., Беркут М.В., Рева С.А., Толмачев С.С., Артемьева А.С., Носов А.К., Малек А.В. Влияние таксанов на экспрессию miR-106 и miR-200c клетками рака предстательной железы in vivo и in vitro. *Вестник урологии*. 2022;10(4):98-108. DOI: 10.21886/2308-6424-2022-10-4-98-108.

## Effect of taxanes on the miR-106 and miR-200c expression in prostate cancer cells in vivo and in vitro

© Daniil S. Plevako, Margarita S. Knyazeva, Elena I. Sidina, Maria V. Berkut, Sergey A. Reva, Stanislav S. Tolmachev, Anna S. Artemyeva, Alexander K. Nosov, Anastasia V. Malek

Petrov National Medical Research Center of Oncology  
68 Leningradskaya St., Pesochniy, St.Petersburg 197758, Russian Federation

### Abstract

**Introduction.** A combination of antiandrogen and cytostatic drugs was justified in the neoadjuvant therapy of patients with high-risk prostate cancer (HiRPCa) in some clinical trials. The effectiveness of such therapy in each individual case depends on the sensitivity of cancer cells to the applied drugs. It makes possible the development of the new technologies to personalize therapeutic approach. MicroRNAs (miRNAs) are a class of regulatory molecules whose expression is altered in PCa cells and can be associated with the sensitivity/resistance of cancer cells to specific cytostatics, for instance, taxanes.

**Objective.** To identify the potential-marker miRNAs of PCa cells sensitivity to taxanes.

**Materials and methods.** Samples of PCa tissue (n. 56) obtained from patients underwent neo-adjuvant therapy (antiandrogen and taxanes) and radical prostatectomy; PCa cell lines (PC-3, DU-145, LNCap). Total RNAs isolation was carried out using miRNeasy FFPE Kit, LRU-100-50; miRCURY LNA miRNA Focus PCR Panel, All-MIR kits were used for semi-quantitative analysis of potentially marker microRNA molecules using sequential reverse transcription and PCR.

**Results.** The effect of taxanes on PCa cells is associated with up-regulation of miR-106b expression and down-regulation of miR-200c expression in both in vivo and in vitro conditions.

**Conclusion.** MiR-106b and miR-200c miRNAs are involved in the response of PCa cells to taxanes, and therapeutic modification of these molecules in PCa cells may present a potential strategy to increase their sensitivity to taxane-containing therapy. Appropriate innovative technology may be in demand in the treatment of HiRPCa-patients.

**Keywords:** prostate cancer; microRNA; taxanes; docetaxel; paclitaxel

**Abbreviations:** chemohormonal therapy (CHT); neoadjuvant chemohormonal therapy + radical prostatectomy (CHT-RP); high-risk prostate cancer (HiRPCa); radical prostatectomy (RP)

**Financing.** The study was funded within the framework of a state assignment by the Ministry of Healthcare of the Russian Federation «Development and clinical testing of methods for diagnosing and predicting the effect of cancer therapy based on microRNA analysis in biopsy material» (No. 121032300206-4) 2021-2023. **Conflict of interest.** The authors declare no conflicts of interest. **Ethical statement.** The study was approved by the Ethics Committee of the Petrov National Medical Research Center of Oncology (Protocol No. 1, signed January 28, 2021). **Informed consent.** All patients signed an informed consent to participate in the study and to process personal data. **Authors' contribution:** D.S. Plevako, M.S. Knyazeva, E.I. Sidina — laboratory tests: RNA isolation and miRNAs analysis, cell culture assays; M.V. Berkut, S.A.Reva — clinical part: data acquisition, data interpretation, data analysis; S.S. Tolmachev, A.S. Artemyeva — morphology: PCa tissue samples preparation, data acquisition, data analysis; A.K. Nosov, A.V. Malek — research concept, study design development, data analysis, drafting the manuscript, supervision.

✉ **Corresponding author:** Anastasia Valerievna Malek; e-mail: anastasia@malek.com.ru

**Received:** 09/02/2022. **Accepted:** 11/08/2022. **Published:** 12/26/2022.

**For citation:** Plevako D.S., Knyazeva M.S., Sidina E.I., Berkut M.V., Reva S.A., Tolmachev S.S., Artemyeva A.S., Nosov A.K., Malek A.V. Effect of taxanes on miR-106 and miR-200 expression in prostate cancer cells in vivo and in vitro. *Vestn. Urol.* 2022;10(4):98-108. (In Russ.). DOI: 10.21886/2308-6424-2022-10-4-98-108.

### Введение

Рак предстательной железы (РПЖ) занимает лидирующие позиции в статистике онкологической заболеваемости среди мужчин [1]. Клиническое течение заболевания в каждом случае имеет индивидуальный характер, так как определяется уникальным сочетанием генетических, эпигенетических и морфологических особенностей клеток опухоли [2]. С целью оптимизации режима терапии разработаны и активно применяются в клинической практике кри-

терии стратификации пациентов на группы разной степени риска [3]. На момент выявления заболевания к группе высокого риска относятся от 10 до 30% пациентов, в отношении которых оправдана активная лечебная тактика. В частности, проведение нео-адьювантной терапии может улучшить результаты радикальной простатэктомии в случаях местно-распространённого процесса [4]. В обзорной статье N. Mikkilineni et al. (2018) представлен анализ различных режимов нео-адьювантной терапии, проте-

стированных в рамках клинических испытаний [5], но различный дизайн исследований затрудняет сопоставление результатов и выбор оптимального подхода. Поэтому задача разработки эффективных режимов системной терапии для пациентов с РПЖ высокого риска (РПЖ-ВР) сохраняет актуальность.

В период за 2014 – 2018 годы в «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» было проведено исследование с целью оценки безопасности и эффективности нео-адьювантной химиогормональной терапии (ХГТ), выполненной перед радикальной простатэктомией (РП), у пациентов с РПЖ-ВР [6]. ХГТ предполагала сочетание двух препаратов: ингибитора депполяризации микротрубочек (доцетаксела) и антагониста гонадотропин-рилизинг-гормона (дегареликса). В рамках исследования было проведено сравнение двух рандомизированных групп: пациентов, получавших курс нео-адьювантной терапии с последующим выполнением радикальной простатэктомии (ХГТ-РП), и пациентов, перенёвших только радикальную простатэктомию (РП). Пациенты первой группы хорошо переносили ХГТ, у них была выявлена меньшая степень локальной распространённости опухоли и большая 3-летняя общая выживаемость. Авторы сделали вывод о безопасности и эффективности режима ХГТ-РП у пациентов с РПЖ-ВР. Но для дальнейшей оптимизации терапевтических подходов в отношении пациентов с РПЖ-ВР необходимо углублённое изучение механизмов действия используемых лекарственных средств. Например, идентификация молекулярных маркеров чувствительности к таксанам и/или молекулярных мишеней модификации этой чувствительности может лежать в основе разработки методов более аккуратной стратификации пациентов или технологий повышения эффективности терапии.

МикроРНК — короткие регуляторные молекулы РНК, которые участвуют в формировании реакции клеток опухоли на действие цитостатических препаратов, включая таксаны [7]. Впервые участие ряда молекул микроРНК в формировании резистентности клеток РПЖ к действию таксанов было показано в 2015 году [8]. В ряде последующих экспериментальных работ была показана ассоциация уровня экспрессии ряда молекул (miR-200b-3p, miR-34b-3p and miR-375) со степенью устойчивости клеток

РПЖ к действию паклитаксела. [9], что указывает на прогностический потенциал методов анализа этих молекул в биопсийном материале. Кроме того, терапевтическая модификация концентрации отдельных молекул (miR-323) является потенциальной технологией повышения чувствительности клеток РПЖ к воздействию доцетаксела [10].

**Цель исследования:** поиск молекул микроРНК, экспрессия которых ассоциирована с реакцией клеток РПЖ на воздействие таксанов в ходе ХГТ. В рамках работы был проведён сравнительный анализ ряда молекул микроРНК в материале РПЖ пациентов, получавших и не получавших нео-адьювантную ХГТ (ХГТ-РП vs РП) [6] и оценка изменения экспрессии этих молекул в клетках РПЖ после воздействия паклитаксела в условиях *in vitro* эксперимента.

### Материалы и методы

**Характеристики пациентов.** В исследовании был использован послеоперационный материал от 56 пациентов с диагнозом РПЖ-ВР, включённых в ранее цитированное исследование [6]. В группу ХГТ-РП вошли 32 пациента, которым проводилась терапия препаратом доцетаксел один раз в 21 день (75 мг/м<sup>2</sup> до 6 циклов) и антагонистом гонадотропин рилизинг-гормона дегареликс по стандартной схеме (6 подкожных введений каждые 28 дней) с последующей РП. В группу РП вошли 24 пациента, которым было проведено хирургическое лечение в качестве монотерапии. Клинические характеристики пациентов и результаты оценки эффекта терапии (ХГТ-РП vs. РП) представлены ранее [6]. Из фиксированных формалином парафинизированных образцов операционного материала были подготовлены срезы, содержащие клетки рака предстательной железы (> 90%).

**Линии клеток РПЖ.** В исследовании были использованы три линии клеток рака предстательной железы: LNCap, PC-3 и DU-145. Клетки культивировали в среде RPMI-1640 с добавлением 10% эмбриональной бычьей сыворотки и смеси антибиотиков Пен-Стреп, 100 мкг/мл (ООО «Биолот», Санкт-Петербург, РФ) в стандартных условиях. Для оценки эффекта паклитаксела клетки выращивали в 6-луночном планшете до конфлюентности 50 – 60%, затем заменяли стандартную культуральную среду на среду с паклитакселом (Paclitaxel CAS № 33069-62-

4 — «Sigma Aldrich» GmbH, Germany) в концентрации 10 нМ и 20 нМ и культивировали в течение 48 часов.

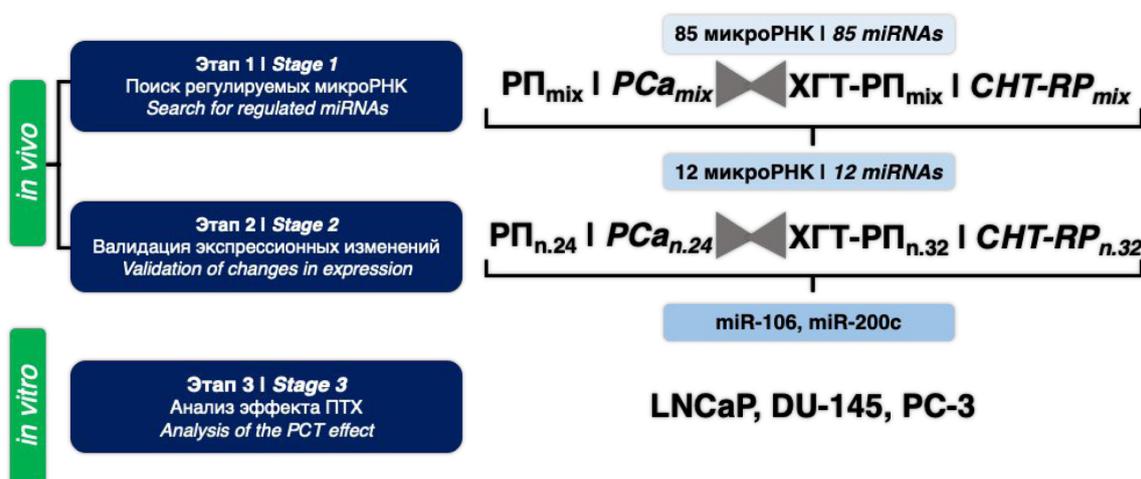
**Выделение РНК.** Выделение РНК из парафиновых срезов проводили с помощью набора miRNeasy FFPE Kit («Qiagen» GmbH, Hilden, Germany) согласно протоколу производителя. Выделение РНК из клеточных линий проводили с помощью набора реагентов LRU-100-50 (ООО «Биолабмикс», Новосибирск, РФ) в соответствии с инструкцией производителя. Качество выделенной РНК оценивали на спектрофотометре NanoPhotometr N50 («Implen» GmbH, München, Germany), измеряя поглощение при длинах волн 260 и 280 нм. Концентрацию выделенной РНК оценивали на флуориметре Qubit 2.0 («Invitrogen» Corp., Carlsbad, CA, USA).

**Оценка экспрессии микроРНК.** Первоначальный анализ экспрессии 84 молекул онкогенных микроРНК (так называемых, cancer-associated miRNA) проводили с помощью набора реагентов «miRCURY LNA miRNA Focus PCR Panel – Human Cancer» («Qiagen» GmbH, Hilden, Germany). Дополнительно использовали наборы miRCURY LNA RT Kit, miRCURY LNA SYBR® Green PCR Kit («Qiagen» GmbH, Hilden, Germany) в соответствии с инструкцией производителя. Оценку экспрессии отдельных микроРНК проводили с использованием наборов серии ALL-MIR (ООО «Альгимед Техно», Минск, Беларусь). Все исследования выполняли на приборе Real-Time CFX96 Touch instrument («Bio-Rad Laboratories», Inc., Hercules, CA, USA).

**Статистический анализ.** Расчёт изменений экспрессии отдельных молекул микроРНК выполняли методом dCt (delta Cycle threshold), при этом в качестве нормализатора использовали среднее значение Ct всех анализируемых молекул в отдельном образце (так называемое значение total Ct) по формуле  $dCt = 2(\text{total Ct} - Ct \text{ miR-93})$ . Данные были проверены на нормальность распределения с помощью тестов Колмогорова-Смирнова и Shapiro-Wilk. Для оценки статистической значимости разницы уровня экспрессии отдельных молекул между сравниваемыми группами пациентов проводили вычисления непараметрического критерия Mann-Whitney U test. Для оценки статистической значимости разницы уровней экспрессии отдельных молекул в клетках РПЖ после воздействия паклитаксела проводили расчёт среднеарифметических значений нормализованных показателей и среднеквадратичного отклонения по формуле:  $STD = \sqrt{(\sum(x - \text{xaverage})^2)/n}$ . Сбор, распределение и анализ данных осуществляли с помощью программ CFX Manager™ Software («Bio-Rad Laboratories», Inc., Hercules, CA, USA), Microsoft Office Excel 10.0 («Microsoft» Corp., Redmond, WA, USA), Sigma Plot 11.0 («Systat Software», Inc., San Jose, CA, USA), GraphPad Prism 8.0 («GraphPad Software» Inc., Graphpad Holdings LLC, San Diego, CA, USA).

## Результаты

**Поиск регулируемых молекул микроРНК.** Работа была имела три этапа, которые схематично представлены на рисунке 1.



**Рисунок 1.** Дизайн исследования  
**Figure 1.** Research design

Задачей первого этапа был относительно «широкий профайлинг» относительно большого числа потенциально маркерных молекул. Для этого из двух групп образцов РНК приготовили так называемые «РНК-пулы» (ПЭ и ХГТ-РП). Каждый такой «РНК-пул» представлял собой эквимольную смесь образцов РНК одной группы сравнения. Суммарный профиль экспрессии 84 молекул микроРНК был проведён в каждом «РНК-пуле». Обработка полученных данных об экспрессии 84 микроРНК включала проверку эффективности выделения РНК, меж-планшетную калибровку, нормализацию относительно среднего арифметического значения (total Ct). Из анализа были исключены микроРНК, значения Ct для которых составило больше 38. Из анализа исключили молекулы, для которых значения нормализованных показателей уровня экспрессии для двух «РНК-пулов» отличались менее чем полтора раза. Таким образом, были выбраны 29 молекул. Анализ научной литературы показал, что связь между уровнем экспрессии и воздействием паклитаксела на опухолевые клетки была ранее показана для 12 из 29 выбранных микроРНК. Перечень потенциально маркерных молекул и соответствующие ссылки на источники представлены в таблице.

**Таблица.** Потенциально маркерные молекулы микроРНК

**Table.** Potential-marker miRNAs

микроРНК <i>miRNAs</i>	Ссылки <i>References</i>	Уровень экспрессии ХГТ-РП / РП* <i>Expression-level CHT-RP / RP</i>	p
16-5p	[11]	2,42 / 1,28	0,03
26b-5p	[12]	1,00 / 0,72	0,2
141-3p	[13]	4,28 / 1,49	0,01
143-3p	[14, 15]	51,33 / 18,66	0,004
145-5p	[16]	32,44 / 16,82	0,01
200b-3p	[17]	7,21 / 2,45	0,002
205-5p	[18]	5,39 / 1,81	0,01
375-3p	[13, 19]	6,93 / 2, 07	0,001
451a-5p	[20]	7,65 / 1,88	0,4
27a-3p	[20]	11,79 / 5,02	0,001
106b-5p	[20]	0,14 / 0,53	0,02
200c-3p	[18]	1,00 / 0,28	0,003

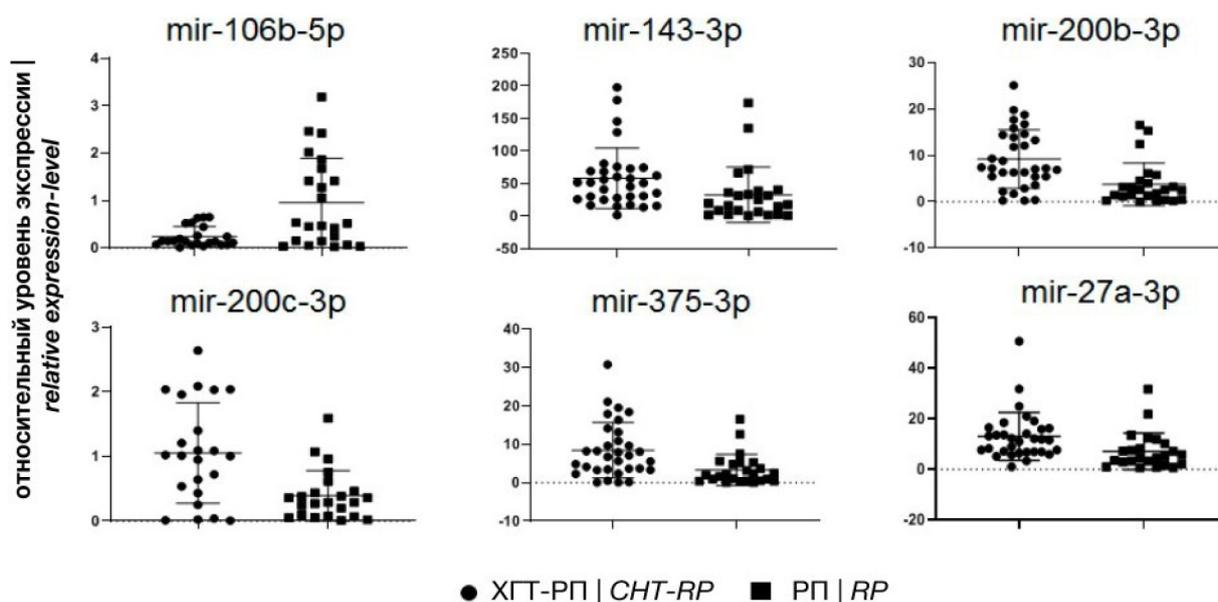
**Примечание.** \* — представлены среднеарифметические нормализованных значений уровней экспрессии маркерных молекул для сравниваемых групп ХГТ-РП и РП

**Note.** \* — arithmetic mean of the normalized values of expression-levels of marker molecules for compared CHT-RP and RP groups are presented

Анализ экспрессии потенциально маркерных микроРНК. Для оценки (валидации) дифференциальной экспрессии 12 выбранных микроРНК в 56 образцах операционного материала была использована технология двустороннего праймирования обратной транскрипции с последующей ПЦР с двумя микроРНК-специфичными праймерами (рис. 1; этап 2). В этом случае анализ 12 молекул был проведён для каждого образца, результаты нормализованы, произведён расчёт средних значений для сравниваемых групп (табл.). С помощью Mann-Whitney U test установлено, что ожидаемые различия экспрессии микроРНК между исследуемыми группами пациентов наблюдались для всех 12 молекул, но эти различия имели разную степень статистической значимости (табл. 1).

На рисунке 2 представлены результаты сопоставления показателей относительной (нормализованной) экспрессии молекул, с наибольшей разницей между сравниваемыми группами. Так, в большинстве случаев в клетках РПЖ пациентов группы ХГТ-РП наблюдалось повышенная экспрессия анализируемых молекул, включая miR-200c, miR-143, miR-375, miR-200b, miR-27a по сравнению с контрольной группой (РП). Лишь для одной молекулы (miR-106b) было выявлено статистически значимое снижение экспрессии в группе ХГТ-РП. Так как режим нео-адыювантной терапии пациентов экспериментальной группы включал два препарата (доцетаксел и дегареликс), полученные результаты не позволяют сделать вывод о том, какой именно препарат послужил триггером изменения экспрессии молекул микроРНК. Но представленные данные указывают на очевидное влияние, которое оказывает использованное сочетание препаратов на экспрессию ряда молекул микроРНК в клетках РПЖ.

Анализ влияния паклитаксела на экспрессию микроРНК в клетках РПЖ in vitro. Исследованная схема ХГТ [6] предполагала сочетание двух препаратов различного механизма действия. Доцетаксел действовал непосредственно на клетки опухоли, изменяя динамику деполимеризации микротрубочек и блокируя процесс митоза [21]. Дегареликс, селективный антагонист гонадотропин-релизинг гормона, конкурентно связывал гипофизарные рецепторы, снижал секрецию гонадотропных гормонов гипофизом и, как следствие, тестостерона — гонадами [22]. Таким образом,

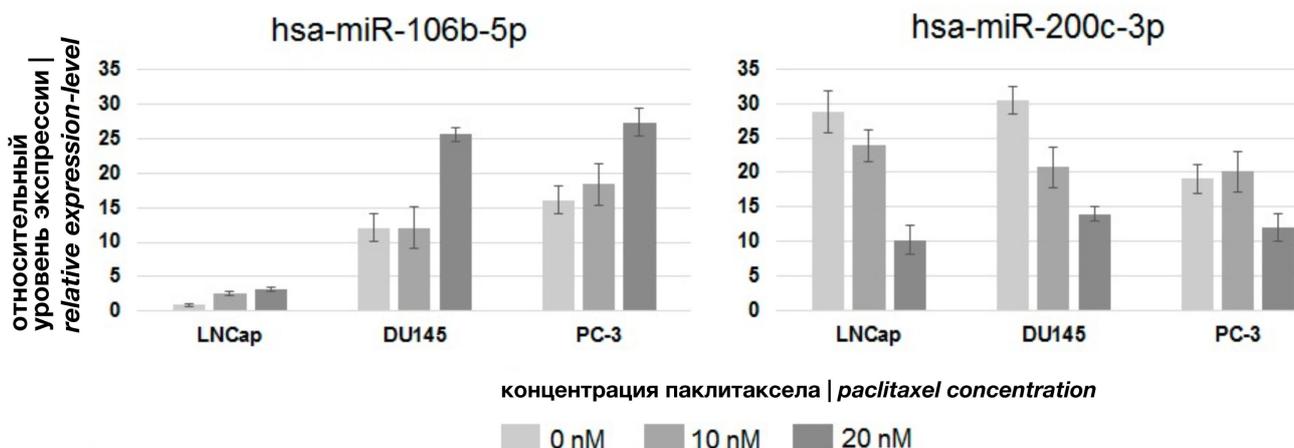


**Рисунок 2.** Относительная экспрессия потенциально маркерных молекул микроРНК в клетках РПЖ пациентов двух групп: нео-адьювантной химиогормональной терапии + радикальной простатэктомии (ХГТ-РП) и радикальной простатэктомии (РП)

**Figure 2.** Relative expression-level of potential-marker miRNAs in PCa cells of patients from two groups: neo-adjuvant chemohormonal therapy + radical prostatectomy (CHT-RP) and radical prostatectomy (RP)

действие дегареликса определялось преимущественно снижением стимулирующего влияния тестостерона на клетки опухоли, и возможные изменения экспрессии клеточных микроРНК могли быть результатом этого эффекта. Условия *in vitro* эксперимента позволяют дифференцировать цитостатические эффекты таксанов и дефицита тестостерона. В рамках данного исследования стояла задача оценить, какие из наблюдаемых в условиях *in vivo* изменений экспрессии микроРНК опосредованы действием таксанов. Для этого были использованы три линии клеток РПЖ:

PC-3 и DU145 (андроген-зависимые) и LNCap (андроген-независимые) клетки. Клеточные линии культивировались в среде, содержащей паклитаксел в разных концентрациях, что позволяло оценить зависимость наблюдаемых эффектов от дозы. После 48 часов инкубации был проведен анализ экспрессии маркерных молекул микроРНК. В двух случаях наблюдались изменения, которые имели доза-зависимый характер и воспроизводились в трех культурах клеток. Так, паклитаксел активировал экспрессию miR-106b, но угнетал экспрессию miR-200c (рис. 3).



**Рисунок 3.** Эффект воздействия паклитаксела на экспрессию микроРНК клетками рака предстательной железы

**Figure 3.** Effect of paclitaxel on miRNAs expression in PCa cells

Зафиксированные изменения имели характер, аналогичный тому, что наблюдался в клетках РПЖ пациентов после проведения нео-адьювантной ХГТ. Таким образом, воздействие таксанов стимулирует экспрессионную активность miR-106b и угнетает экспрессионную активность miR-200c в клетках РПЖ в условиях *in vivo* и *in vitro*. Изменений экспрессионной активности других молекул микроРНК не наблюдалось, что позволяет предполагать, что изменение экспрессии этих молекул в клетках опухолей пациентов являлось результатом медикаментозной кастрации, а не результатом цитостатического действия доцетаксела.

### Обсуждение

В рамках представленного исследования решалась задача поиска и изучения изменений экспрессии микроРНК клетками РПЖ, вызванных сочетанным воздействием доцетаксела и дерагеликса. Анализ материала опухолей пациентов, перенёсших нео-адьювантную ХГТ, позволил выявить статистически значимые изменения экспрессии (преимущественно активацию) ряда молекул микроРНК. Выбор молекул, включённых в детальное исследование (рис. 1; этап 2), был основан на предварительных результатах анализа 85 опухоль-ассициированных микроРНК в «РНК-пулах» образцов и данных литературы (рис. 1; этап 1). Поэтому велика вероятность того, что многие молекулы микроРНК, «ответившие» на воздействие ХГТ, остались за рамками исследования, а показанные изменения экспрессии 12 молекул являются лишь фрагментом изменений, вызванных ХГТ, в профиле экспрессии микроРНК клетками РПЖ. Тем не менее, статистически значимые сдвиги экспрессионной активности ряда молекул микроРНК подтверждают факт воздействия ХГТ на биологию клеток РПЖ. Эти результаты хорошо сочетаются с данными ранее проведённой оценки показателей клинической эффективности нео-адьювантной ХГТ.

Интересным феноменом является преимущественно стимулирующий эффект, который оказала ХГТ на экспрессию микроРНК: из 12 включённых в исследование молекул активация экспрессии наблюдалась в 11 случаях, а угнетение экспрессии в группе ХГТ-РП наблюдалось лишь для miR-106b. Но для подтверждения и корректной интерпретации этого наблюдения необходим

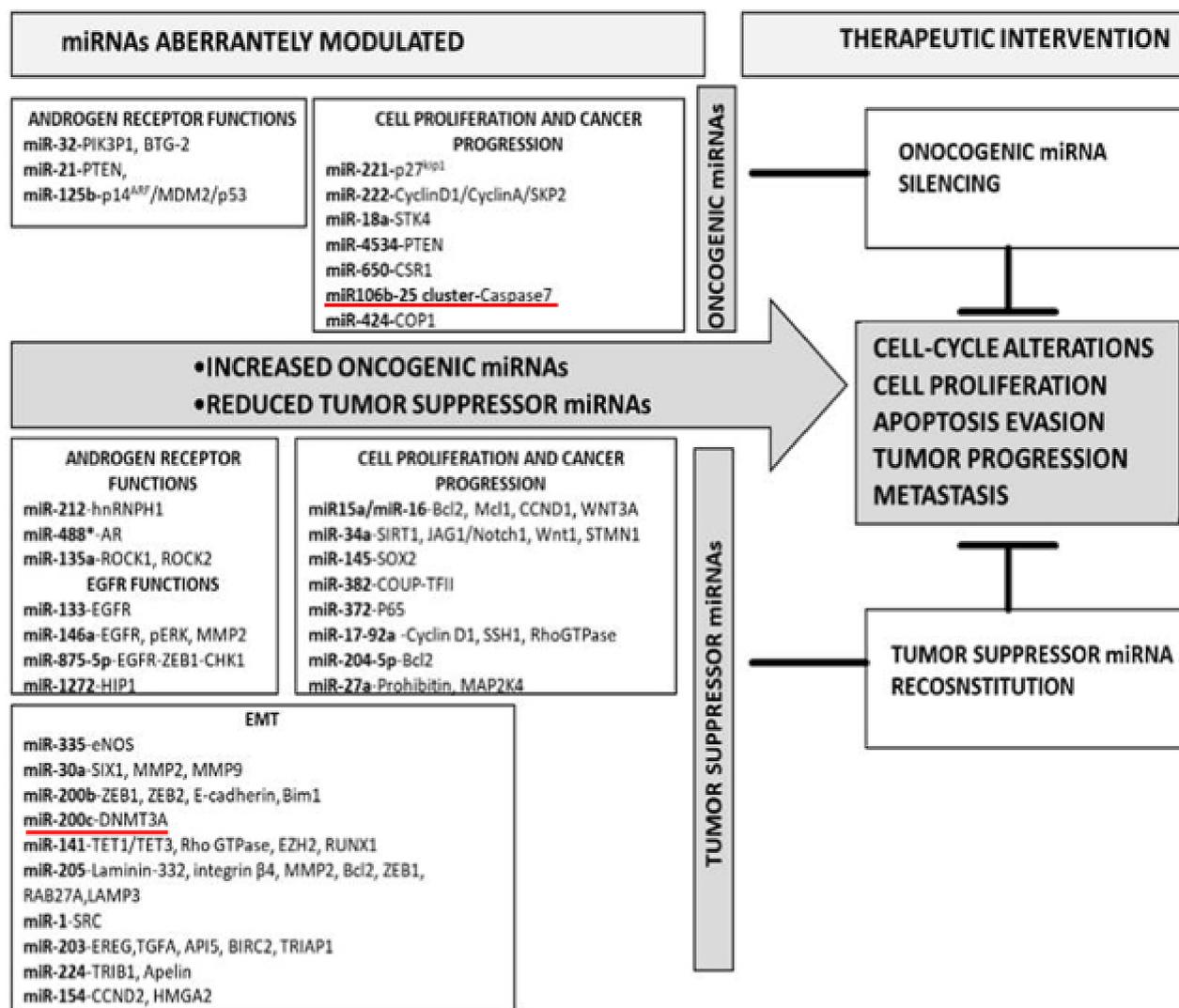
более «широкий» анализ, например, с использованием технологии секвенирования «нового поколения» (NGS, next generation sequencing).

Основным результатом заключительного *in vitro* этапа (рис. 1; этап 3) исследования явилось описание изменений экспрессии miR-106b и miR-200c в клетках РПЖ, индуцированных воздействием паклитаксела. Так, изменения экспрессии этих молекул в клетках РПЖ пациентов, получивших курс ХГТ, и в клетках трех линий (LNCap, PC-3, DU145) после воздействия паклитаксела, имели аналогичный характер. Это указывает на высокую вероятность участия miR-106b и miR-200c в реакции клеток РПЖ на воздействие таксанов. Интересно, что в недавнем обзоре исследований микроРНК в качестве терапевтических мишеней и маркеров РПЖ [23], итальянские авторы (N. Arrighetti и G.L. Beretta) также отметили разнонаправленный характер участия miR-106b и miR-200c в развитии РПЖ (рис. 4).

Так, «канцерогенный характер» miR-106b был показан в контексте развития различных онкологических заболеваний, включая гепатоцеллюлярную карциному [24], рак молочной железы [25] и РПЖ. Причём в последнем случае эффект miR-106b ассоциировался с регуляцией адгезивных характеристик [25] и метастатического потенциала клеток [26]. Можно предполагать, что противоопухолевый эффект таксанов при РПЖ выражен не только в непосредственном влиянии на динамику микротрубочек, но и ассоциирован с угнетением экспрессии miR-106b и снижением злокачественного потенциала клеток РПЖ.

В электронной библиотеке PubMed Национальных Американских Институтов Здоровья (NIH, National Institute of Health) содержится более 4000 научных статей, в которых отражена роль miR-200c в развитии РПЖ. Эти исследования описывают различные механизмы участия miR-200c в регуляции биологии клеток, но в большинстве случаев эта молекула рассматривается как «онкосуппрессор»: miRNA prostate guardian [27]. В этом контексте активация экспрессии miR-200c на фоне / в результате цитостатического действия таксанов представляется закономерным явлением.

В заключение имеет смысл отметить, что из 12 молекул, исследованных в рамках двух первых этапов работы, для десяти на-



**Рисунок 4.** Схема участия в канцерогенезе и потенциал терапевтической модификации микроРНК в клетках рака предстательной железы (адаптировано из N. Arrighetti и G.L. Beretta [23])  
**Figure 4.** Scheme of involvement in carcinogenesis and potential for therapeutic modification of miRNAs in PCa cells (adapted from N. Arrighetti and G.L. Beretta [23])

блюдалось отсутствие эффекта паклитаксела в условиях *in vitro* эксперимента. Поэтому можно предполагать, что причиной изменения экспрессии этих десяти молекул в клетках РПЖ пациентов послужила медикаментозная кастрация. Таким образом, в контексте как минимум 12 исследуемых молекул эффект снижения стимулирующего влияния тестостерона представляется более выраженным по сравнению с эффектами доцетаксела. Известно, что дегареликс оказывает непосредственное воздействие на клетки РПЖ [28]. Это воздействие затрагивает механизмы регуляции пролиферации, клеточной адгезии и запрограммированной клеточной гибели, и может служить объяснением более значимого эффекта дегаре-

ликса (чем доцетаксела) на экспрессионный статус микроРНК клеток РПЖ, наблюдавшийся в рамках данной работы. Для более детального исследования этого феномена необходимо проведение дополнительных *in vitro* исследований и оценки изолированного воздействия дегареликса на линии клеток РПЖ.

### Заключение

Научный поиск возможностей и разработка эффективных и мульти-модальных методов терапии пациентов с раком предстательной железы высокого риска является нерешённой задачей. Эта группа пациентов требует активной терапевтической тактики, которая может быть реализована

либо путём эффективного сочетания существующих методов (химиотерапия, гормонотерапия, иммунотерапия, лучевая терапия, хирургия), либо путём разработки и внедрения новых методов.

МикроРНК — эндогенные регуляторы многих клеточных процессов, эти молекулы активно участвуют в неопластической трансформации клеток и в реакции клеток рака предстательной железы на любые терапевтические воздействия [29]. Терапевтическая модификация состава

микроРНК в клетках опухоли является перспективной стратегией повышения эффективности стандартных методов терапии, как это, например, было доказано для сочетания miR-124 и паклитаксела [30]. Поэтому исследование участия этих молекул в формировании ответа на терапию рака предстательной железы высокого риска может создать основание для разработки инновационных лечебных технологий, особенно актуальных для этой группы пациентов.

#### Список литературы | References

- 1 Злокачественные новообразования в России в 2020 году (заболеваемость и смертность). Под ред. Каприна А.Д., Старинского В.В., Шохзадова А.О. Москва: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России; 2021. ISBN 978-5-85502-268-1. Kaprin A.D., Starinsky V.V., Shokhzadov A.O., eds. *Malignant neoplasms in Russia in 2020 (morbidity and mortality)*. Moscow: P. Hertsen Moscow Oncology Research Institute – branch of the FSBI «National medical research radiological centre» of the Ministry of Health of Russia; 2021. ISBN 978-5-85502-268-1. (In Russ.)  
URL: [https://glavonco.ru/cancer\\_register/](https://glavonco.ru/cancer_register/)
- 2 Cimadamore A, Mazzucchelli R, Lopez-Beltran A, Massari F, Santoni M, Scarpelli M, Cheng L, Montironi R. Prostate Cancer in 2021: Novelty in Prognostic and Therapeutic Biomarker Evaluation. *Cancers (Basel)*. 2021;13(14):3471. <https://doi.org/10.3390/cancers13143471>
- 3 Parry MG, Cowling TE, Sujenthiran A, Nossiter J, Berry B, Cathcart P, Aggarwal A, Payne H, van der Meulen J, Clarke NW, Gnanaprasam VJ. Risk stratification for prostate cancer management: value of the Cambridge Prognostic Group classification for assessing treatment allocation. *BMC Med*. 2020;18(1):114. <https://doi.org/10.1186/s12916-020-01588-9>
- 4 Srivatsa N, Nagaraja H, Shweta S, Raghunath SK. Radical Prostatectomy for Locally Advanced Prostate Cancers-Review of Literature. *Indian J Surg Oncol*. 2017;8(2):175-180. <https://doi.org/10.1007/s13193-016-0599-9>
- 5 Mikkilineni N, Hyams ES. Neoadjuvant therapies for surgical management of high-risk, localized prostate cancer. *Transl Cancer Res*. 2018;7(S6):S662-S675. <https://doi.org/10.21037/tcr.2018.05.36>
- 6 Беркут М.В., Артемьева А.С., Рева С.А., Толмачев С.С., Петров С.Б., Носов А.К. Онкологические результаты неoadъювантной химиогормональной терапии у больных раком предстательной железы высокого и очень высокого риска. *Онкоурология*. 2020;16(1):54-63. Berkut M.V., Artemjeva A.S., Reva S.A., Tolmachev S.S., Petrov S.B., Nosov A.K. Oncological results of neoadjuvant chemohormonal therapy in patients with high and very high-risk prostate cancer. *Cancer Urology*. 2020;16(1):54-63. (In Russ.)  
<https://doi.org/10.17650/1726-9776-2020-16-1-54-63>
- 7 Cui SY, Wang R, Chen LB. MicroRNAs: key players of taxane resistance and their therapeutic potential in human cancers. *J Cell Mol Med*. 2013;17(10):1207-17. <https://doi.org/10.1111/jcmm.12131>
- 8 Kopczyńska E. Role of microRNAs in the resistance of prostate cancer to docetaxel and paclitaxel. *Contemp Oncol (Pozn)*. 2015;19(6):423-7. <https://doi.org/10.5114/wo.2015.56648>
- 9 Samli H, Samli M, Vatansever B, Ardicli S, Aztopal N, Dincel D, Sahin A, Balci F. Paclitaxel resistance and the role of miRNAs in prostate cancer cell lines. *World J Urol*. 2019;37(6):1117-1126. <https://doi.org/10.1007/s00345-018-2501-6>
- 10 Gao Q, Zheng J. microRNA-323 upregulation promotes prostate cancer growth and docetaxel resistance by repressing p73. *Biomed Pharmacother*. 2018;97:528-534. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.10.040>
- 11 Huang Y, Chen G, Wang Y, He R, Du J, Jiao X, Tai Q. Inhibition of microRNA-16 facilitates the paclitaxel resistance by targeting IKK $\beta$  via NF- $\kappa$ B signaling pathway in hepatocellular carcinoma. *Biochem Biophys Res Commun*. 2018;503(2):1035-1041. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2018.06.113>
- 12 Zhao B, Zhang J, Chen X, Xu H, Huang B. Mir-26b inhibits growth and resistance to paclitaxel chemotherapy by silencing the CDC6 gene in gastric cancer. *Arch Med Sci*. 2019;15(2):498-503. <https://doi.org/10.5114/aoms.2018.73315>
- 13 Zedan AH, Osther PJS, Assenholt J, Madsen JS, Hansen TF. Circulating miR-141 and miR-375 are associated with treatment outcome in metastatic castration resistant prostate cancer. *Sci Rep*. 2020;10(1):227. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-57101-7>
- 14 Xu B, Niu X, Zhang X, Tao J, Wu D, Wang Z, Li P, Zhang W, Wu H, Feng N, Wang Z, Hua L, Wang X. miR-143 decreases prostate cancer cells proliferation and migration and enhances their sensitivity to docetaxel through suppression of KRAS. *Mol Cell Biochem*. 2011;350(1-2):207-13. <https://doi.org/10.1007/s11010-010-0700-6>
- 15 Fei BY, Wang XY, Fang XD. MicroRNA-143 replenishment re-sensitizes colorectal cancer cells harboring mutant, but not wild-type, KRAS to paclitaxel treatment. *Tumour Biol*. 2016;37(5):5829-35. <https://doi.org/10.1007/s13277-015-4354-6>
- 16 Guan X, Guan Y. miR-145-5p attenuates paclitaxel resistance and suppresses the progression in drug-resistant breast cancer cell lines. *Neoplasma*. 2020;67(5):972-981. [https://doi.org/10.4149/neo\\_2020\\_190622N536](https://doi.org/10.4149/neo_2020_190622N536)
- 17 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):910-8.  
<https://doi.org/10.3892/or.2013.2897>
- 18 Puhr M, Hoefler J, Schäfer G, Erb HH, Oh SJ, Klocker H, Heidegger I, Neuwirt H, Culig Z. Epithelial-to-mesenchymal transition leads to docetaxel resistance in prostate cancer and is mediated by reduced expression of miR-200c and miR-205. *Am J Pathol.* 2012;181(6):2188-201.  
<https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2012.08.011>
- 19 Wang Y, Lieberman R, Pan J, Zhang Q, Du M, Zhang P, Nevalainen M, Kohli M, Shenoy NK, Meng H, You M, Wang L. miR-375 induces docetaxel resistance in prostate cancer by targeting SEC23A and YAP1. *Mol Cancer.* 2016;15(1):70.  
<https://doi.org/10.1186/s12943-016-0556-9>
- 20 Wang W, Zhang L, Wang Y, Ding Y, Chen T, Wang Y, Wang H, Li Y, Duan K, Chen S, Yang Q, Chen C. Involvement of miR-451 in resistance to paclitaxel by regulating YWHAZ in breast cancer. *Cell Death Dis.* 2017;8(10):e3071.  
<https://doi.org/10.1038/cddis.2017.460>
- 21 Karahalil B, Yardim-Akaydin S, Nacak Baytas S. An overview of microtubule targeting agents for cancer therapy. *Arh Hig Rada Toksikol.* 2019;70(3):160-172.  
<https://doi.org/10.2478/aiht-2019-70-3258>
- 22 Doehn C, Sommerauer M, Jocham D. Degarelix and its therapeutic potential in the treatment of prostate cancer. *Clin Interv Aging.* 2009;4():215-23.  
<https://doi.org/10.2147/cia.s3503>
- 23 Arrighetti N, Beretta GL. miRNAs as Therapeutic Tools and Biomarkers for Prostate Cancer. *Pharmaceutics.* 2021;13(3):380.  
<https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13030380>
- 24 Shi DM, Bian XY, Qin CD, Wu WZ. miR-106b-5p promotes stem cell-like properties of hepatocellular carcinoma cells by targeting PTEN via PI3K/Akt pathway. *Onco Targets Ther.* 2018;11:571-585.  
<https://doi.org/10.2147/OTT.S152611>
- 25 Wang Z, Li TE, Chen M, Pan JJ, Shen KW. miR-106b-5p contributes to the lung metastasis of breast cancer via targeting CNN1 and regulating Rho/ROCK1 pathway. *Aging (Albany NY).* 2020;12(2):1867-1887.  
<https://doi.org/10.18632/aging.102719>
- 26 Yin W, Chen J, Wang G, Zhang D. MicroRNA-106b functions as an oncogene and regulates tumor viability and metastasis by targeting LARP4B in prostate cancer. *Mol Med Rep.* 2019;20(2):951-958.  
<https://doi.org/10.3892/mmr.2019.10343>
- 27 Andl T, Ganapathy K, Bossan A, Chakrabarti R. MicroRNAs as Guardians of the Prostate: Those Who Stand before Cancer. What Do We Really Know about the Role of microRNAs in Prostate Biology? *Int J Mol Sci.* 2020;21(13):4796.  
<https://doi.org/10.3390/ijms21134796>
- 28 Sakai M, Martinez-Arguelles DB, Patterson NH, Chaurand P, Papadopoulos V. In search of the molecular mechanisms mediating the inhibitory effect of the GnRH antagonist degarelix on human prostate cell growth. *PLoS One.* 2015;10(3):e0120670.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0120670>
- 29 Doldi V, El Bezawy R, Zaffaroni N. MicroRNAs as Epigenetic Determinants of Treatment Response and Potential Therapeutic Targets in Prostate Cancer. *Cancers (Basel).* 2021;13(10):2380.  
<https://doi.org/10.3390/cancers13102380>
- 30 Chen C, Shen M, Liao H, Guo Q, Fu H, Yu J, Duan Y. A paclitaxel and microRNA-124 coloaded stepped cleavable nanosystem against triple negative breast cancer. *J Nanobiotechnology.* 2021;19(1):55.  
<https://doi.org/10.1186/s12951-021-00800-z>

## Сведения об авторах | Information about the authors

**Даниил Сергеевич Плевако** — аспирант, лаборант-исследователь научной лаборатории субклеточных технологий ФГБУ «НМИЦ онкологии имени Н.Н. Петрова» Минздрава России  
г. Санкт-Петербург, Россия

**Daniil S. Plevako** — Postgrad. Student; Research Laboratory Assistant, Laboratory of Subcellular Technologies, Petrov National Medical Research Center of Oncology  
St. Petersburg, Russian Federation  
<https://orcid.org/0000-0002-5657-130X>  
[plevako.daniil@yandex.ru](mailto:plevako.daniil@yandex.ru)

**Маргарита Сергеевна Князева** — младший научный сотрудник научной лаборатории субклеточных технологий ФГБУ «НМИЦ онкологии имени Н.Н. Петрова» Минздрава России  
г. Санкт-Петербург, Россия

**Margarita S. Knyazeva** — Junior Researcher, Laboratory of Subcellular Technologies, Petrov National Medical Research Center of Oncology  
St. Petersburg, Russian Federation  
<https://orcid.org/0000-0002-2079-5061>  
[margo9793@gmail.com](mailto:margo9793@gmail.com)

**Елена Игоревна Сидина** — младший научный сотрудник научной лаборатории субклеточных технологий с группой онкоэндокринологии ФГБУ «НМИЦ онко-

гии имени Н.Н. Петрова» Минздрава России  
г. Санкт-Петербург, Россия

**Elena I. Sidina** — Junior Researcher, Laboratory of Subcellular Technologies with the Endocrine Oncology Unit, Petrov National Medical Research Center of Oncology  
St. Petersburg, Russian Federation  
<https://orcid.org/0000-0003-4174-2839>  
[sidina@mail.ru](mailto:sidina@mail.ru)

**Мария Владимировна Беркут** — кандидат медицинских наук; врач отделения онкоурологии ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России  
г. Санкт-Петербург, Россия

**Maria V. Berkut** — M.D., Cand.Sc.(Med); Urologist, Oncological Urology Division, Petrov National Medical Research Institute of Oncology  
St. Petersburg, Russian Federation  
<https://orcid.org/0000-0002-6276-1716>  
[berkutv91@gmail.com](mailto:berkutv91@gmail.com)

**Сергей Александрович Рева** — кандидат медицинских наук; научный сотрудник ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России; заведующий онкологическим отделением №6 (андрологии и онкоурологии) НИЦ урологии ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова Минздрава России  
г. Санкт-Петербург, Россия

**Sergey A. Reva** — M.D., Cand.Sc.(Med); Researcher, Petrov National Medical Research Center of Oncology; Head, Oncology Division No. 6 (Andrology and Oncological Urology), Research Center of Urology, Pavlov First Saint-Petersburg State Medical University (Pavlov University)  
*St. Petersburg, Russian Federation*  
<https://orcid.org/0000-0001-5183-5153>  
[sgreva79@mail.ru](mailto:sgreva79@mail.ru)

**Толмачев Станислав Сергеевич** — врач патологоанатомического отделения ФГБУ «НМИЦ онкологии имени Н.Н. Петрова» Минздрава России  
*г. Санкт-Петербург, Россия*

**Stanislav S. Tolmachev** — M.D.; Pathologist, Pathology Division, Petrov National Medical Research Center of Oncology  
*St. Petersburg, Russian Federation*  
<https://orcid.org/0000-0002-6542-2074>  
[stas@tolmachyov.me](mailto:stas@tolmachyov.me)

**Анна Сергеевна Артемьева** — кандидат медицинских наук; руководитель научной лаборатории морфологии опухолей ФГБУ «НМИЦ онкологии имени Н.Н. Петрова» Минздрава России  
*г. Санкт-Петербург, Россия*

**Anna S. Artemyeva** — M.D., Cand.Sc.(Med); Head, Research Laboratory of Tumor Morphology, Petrov National Medical Research Center of Oncology  
*St. Petersburg, Russian Federation*  
<https://orcid.org/0000-0002-2948-397X>  
[oinochoya@mail.ru](mailto:oinochoya@mail.ru)

**Александр Константинович Носов** — кандидат медицинских наук; заведующий отделением онкоурологии, старший научный сотрудник отделения общей онкологии и урологии, доцент методического аккредитационно-симуляционного центра ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России  
*г. Санкт-Петербург, Россия*

**Aleksander K. Nosov** — M.D., Cand.Sc.(Med); Head, Oncological Urology Division, Senior Researcher, Dept. of General Oncology and Urology, Assoc.Prof., Methodological Accreditation and Simulation Centre, Petrov National Medical Research Institute of Oncology  
*St. Petersburg, Russian Federation*  
<https://orcid.org/0000-0003-3850-7109>  
[naku-ro@yandex.ru](mailto:naku-ro@yandex.ru)

**Анастасия Валерьевна Малек** — доктор медицинских наук; заведующая научной лабораторией субклеточных технологий ФГБУ «НМИЦ онкологии имени Н.Н. Петрова» Минздрава России  
*г. Санкт-Петербург, Россия*

**Anastasia V. Malek** — M.D., Dr.Sc.(Med); Head, Laboratory of Subcellular Technologies with Endocrine Oncology Unit, Petrov National Medical Research Center of Oncology  
*St. Petersburg, Russian Federation*  
<https://orcid.org/0000-0001-5334-7292>  
[anastasia@malek.com.ru](mailto:anastasia@malek.com.ru)