

С.В. Маліборська^{1,2},
Т.В. Задворний³

DOI: <https://doi.org/10.15407/oncology.2023.03.207>

ІДЕНТИФІКАЦІЯ ТА ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ АНАЛІЗ мікроРНК ЯК ПЕРСПЕКТИВНИХ ПРОГНОСТИЧНИХ МАРКЕРІВ КОЛОРЕКТАЛЬНОГО РАКУ

¹ Івано-Франківський
національний медичний
університет, Івано-Франківськ,

² Комунальне некомерційне
підприємство “Прикарпатський
клінічний онкологічний центр
Івано-Франківської обласної
ради”, Івано-Франківськ,

³ Інститут експериментальної
патології, онкології і радіо-
біології ім. Р.Є. Кавецького
НАН України, Київ, Україна

Ключові слова: колоректаль-
ний рак, мікроРНК, hsa-mir-
100-5p, hsa-mir-125b-5p,
hsa-mir-200b-3p

Колоректальний рак (КРР) є однією із основних причин смертності від злоякісних новоутворень. Незважаючи на досягнутий прогрес в діагностиці та лікуванні КРР віддалені результати залишаються незадовільними. Саме тому актуальним є пошук специфічних біомаркерів для прогнозування перебігу пухлинного процесу та персоналізації терапії цієї форми раку. **Мета:** ідентифікувати мікроРНК та визначити їх функціональну роль у виникненні та прогресії КРР, з метою подальшого їх використання в якості прогностичних маркерів цієї онкопатології. **Матеріали та методи:** KEGG-аналіз сигнальних шляхів проведено за допомогою DIANA miRPath v.3.0. Аналіз функціональної ролі генів-мішеней досліджуваних мікроРНК, проведено за допомогою онлайн-інструменту DAVID. Дослідження показників загальної виживаності хворих на КРР залежно від рівня експресії досліджуваних мікроРНК проведено із використанням бази даних ENCORI Pan-Cancer Analysis Platform. **Результати:** на основі даних представлених у базах miR2Disease, HMDD v.3.2, PhenomiR v.2.0 ідентифіковано 3 мікроРНК, які залучені у виникнення та прогресію КРР та можуть розглядатись в якості прогностичних маркерів — hsa-mir-100-5p, hsa-mir-125b-5p, hsa-mir-200b-3p. Встановлено, що досліджувані мікроРНК залучені в регуляцію 24 сигнальних шляхів, серед яких найсильніші сигнальні асоціації були характерні для Proteoglycans in cancer (hsa05205), Fatty acid biosynthesis (hsa00061), Fatty acid metabolism (hsa01212) та ErbB signaling pathway (hsa04012). З'ясовано, що високі показники експресії hsa-mir-200b-3p у тканині КРР асоціюються із кращими показниками загальної виживаності хворих. **Висновки:** отримані результати вказують на необхідність подальшого дослідження ролі hsa-mir-100-5p, hsa-mir-125b-5p та hsa-mir-200b-3p у механізмах виникнення та прогресії КРР та свідчать про перспективність використання hsa-mir-200b-3p в якості прогностичного маркера, асоційованого з агресивністю перебігу пухлинного процесу.

Колоректальний рак (КРР) є четвертим за поширеністю типом раку у всьому світі та однією з основних причин смертності від онкопатології [1]. Відмічене зростання рівня захворюваності на КРР за останні 30 років обумовлене змінами способу життя, навколишнього середовища та старінням населення [2]. Незважаючи на досягнутий прогрес у діагностиці та терапії цієї форми раку, рівень смертності від КРР все ще залишається високим [3]. Зокрема, в розвинених країнах загальна 5-річна виживаність хворих на КРР не перевищує 60%. Варто зазначити, що показники 5-річної виживаності у хворих на КРР, який діагностований на ранніх стадіях становлять близько 90%, проте локалізовані форми виявляються у менше ніж 40% випадків [4]. Саме тому сьогодні широко впровадження набувають скринінгові програми для раннього виявлення КРР, які в основному ґрун-

туються на проведенні тесту на приховану кров у калі та колоноскопії [5]. Незважаючи на безсумнівну користь скринінгу КРР, ефективність використання та впровадження таких програм все ще залишається досить низькою [6].

В даний час прогнозування перебігу КРР базується на клініко-патологічних характеристиках пухлинного процесу, в основному на стадії раку на момент встановлення діагнозу. Впродовж останніх кількох років в якості додаткових діагностичних факторів розглядають периневральну інвазію та ступінь диференціювання новоутворень, кишкову непрохідність або перфорації та прогресуючу стадію пухлини (T4) на момент оперативного втручання, які стали загальновизнаними критеріями для визначення пацієнтів із високим ризиком прогресії КРР [7]. З огляду на сказане вище, існує нагальна потреба в пошуку нових біомаркерів, які

допоможуть підвищити ефективність ранньої діагностики та дозволять здійснювати прогнозування перебігу КРР, що забезпечить персоналізацію терапії і зростання показників виживаності цього контингенту хворих.

Розвиток молекулярно-генетичних методів досліджень дозволив значною мірою розширити уявлення про молекулярний патогенез КРР. Встановлено, що більшість випадків КРР зумовлені спорадичними генетичними та/або епігенетичними змінами, але 10–20% усіх випадків КРР характеризуються обтяженістю родоходів. Спорадичний колоректальний канцерогенез є результатом складних багатофакторних процесів, що призводять до злоякісної трансформації епітеліальних клітин товстої кишки. Існує три основні молекулярні механізми, які спричиняють порушення експресії генів, що призводить до виникнення раку товстої кишки: мікросателітна нестабільність, хромосомна нестабільність та метилування [8]. Накопичені дані, свідчать про важливу роль у виникненні та патогенезі КРР мікроРНК — коротких некодуючих РНК, довжиною 19 — 24 нуклеотиди, що забезпечують регуляцію експресії генів на посттранскрипційному рівні шляхом деградації РНК-мішеней або інгібування трансляції мРНК [9]. Продемонстровано, що такі мікроРНК як miR-224, miR-146a, miR-21, miR-106a і miR-301a беруть участь у регуляції інвазивної та міграційної активності злоякісно трансформованих клітин товстої кишки, а зміни їх співвідношення асоціюються з резистентністю до хіміотерапії [10].

Сьогодні мікроРНК розглядаються як одні з найбільш перспективних маркерів при багатьох онкопатологіях, зокрема і при КРР [11–13]. Суттєву перевагу перед іншими біомаркерами вони мають за рахунок специфічності та стабільності як в пухлинній тканині, так і в біологічних рідинах [14]. Саме тому метою роботи було ідентифікувати мікроРНК та визначити їх функціональну роль у виникненні та прогресії КРР, з метою подальшого їх використання в якості прогностичних маркерів цієї онкопатології.

ОБ'ЄКТ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Інвентаризацію мікроРНК залучених у виникнення та прогресію КРР проводили за допомогою онлайн-платформи miRNet v.2.0 на основі баз даних miR2Disease, HMDD v.3.2, PhenomiR v.2.0 (<https://www.mirnet.ca>) [15].

Ідентифікацію генів-мішеней досліджуваних мікроРНК здійснювали на основі аналізу інформації розміщеної в таких базах даних miRTarBase v8.0 (<http://miRTarBase.cuhk.edu.cn/>) [16], TarBase v.8.0 (<http://www.microrna.gr/tarbase>) [17] і miRecords (<http://mirecords.umn.edu/miRecords>) [18] та інтегрованої в онлайн-інструмент miRNet v2.0.

Визначення генів, мутації чи порушення експресії яких асоційовані з виникненням та прогресією КРР залози проводили за допомогою ресурсу DisGeNET v7.0 (<https://www.disgenet.org/>) із застосуванням алгоритму *Hypergeometric test* [19].

За допомогою веб-сервісу DIANA miRPath v.3.0. (<http://www.microrna.gr/miRPathv3>) було проведено аналіз KEGG сигнальних шляхів. Попіг значущості встановлено на рівні $p < 0,05$; Enrichment analysis method: Fisher exact test, база даних — TaRBase v7.0. Проведено коригування даних у великих масивах за коефіцієнтом хибнопозитивних результатів — FDR (false discovery rate). Ієрархічний кластер та теплова карта мікроРНК/KEGG сигнальних шляхів згенеровані за допомогою Diana Tools miRPath v.3 (<http://www.microrna.gr/miRPathv3>) [20].

Аналіз функціональної ролі генів-мішеней досліджуваних мікроРНК, проведено за допомогою онлайн-інструменту DAVID (Database for Annotation, Visualization and Integrated Discovery) (<https://david.ncifcrf.gov/>). Gene Ontology (GO) — аналіз включав три основні аспекти: молекулярні функції, біологічні процеси та клітинні компоненти. Попіг значущості встановлено на рівні $p < 0,05$. Результати проведеної класифікації за біологічними процесами та молекулярними функціями візуалізовано у вигляді хордових діаграм з використанням ресурсу Evviz (<https://evviz.com/>).

Дослідження показників загальної виживаності хворих на КРР залежно від рівня експресії мікроРНК проведено із використанням бази даних ENCORI Pan-Cancer Analysis Platform (<https://starbase.sysu.edu.cn/panCancer.php>) [21].

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ

На першому етапі роботи нами було ідентифіковано мікроРНК, порушення експресії яких асоціюються із виникненням та прогресією КРР. Згідно з результатами аналізу, проведеного на ресурсі miRNet v2.0 із використанням баз даних miR2Disease, HMDD v.3.2, PhenomiR v.2.0 станом на 20.07.2022 нами встановлено 220 таких мікроРНК (рис. 1).

Застосування алгоритму аналізу *Hypergeometric test* дозволило встановити, що 43 мікроРНК ($p = 0,0000045$) характеризуються чітко вираженими онкогенними властивостями, а 51 — онкосупресорними ($p = 0,00868$). Зазначимо, що 56 мікроРНК, залучені в регуляцію ангиогенезу ($p = 0,0000576$), 60 мікроРНК — в регуляцію клітинного циклу ($p = 0,000009$), 58 — в регуляцію проліферації клітин ($p = 0,000008$), 11 в регуляцію клітинної адгезії ($p = 0,00533$), а 8 в ремоделювання позаклітинного матриксу ($p = 0,00323$).

На основі даних літератури, а також результатів проведеного біоінформатичного аналізу нами відібрано в якості потенційних прогностичних маркерів КРР 3 мікроРНК — hsa-mir-100-5p, hsa-

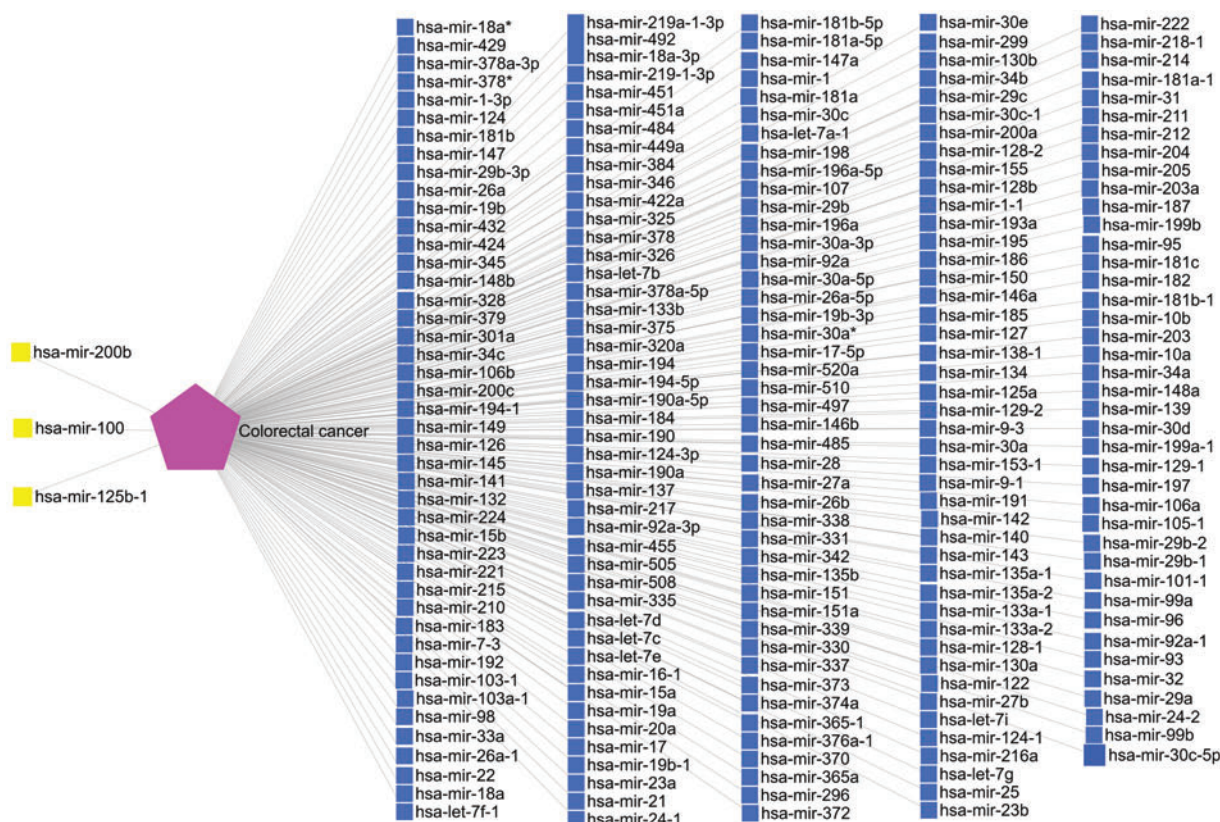


Рис. 1. Схематичне зображення мережі мікроРНК, порушення експресії яких асоційоване із виникненням та прогресією КРР (жовтим кольором виділено мікроРНК обрані для подальшого дослідження)

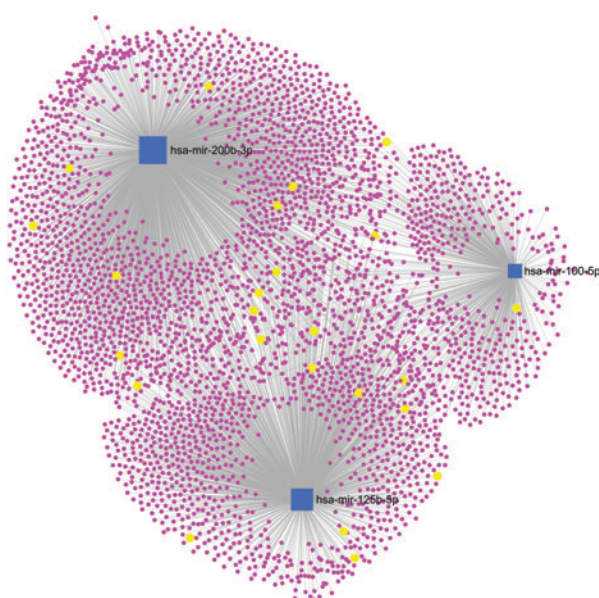


Рис. 2. Схематичне зображення регуляторної мережі hsa-mir-100-5p, hsa-mir-125b-5p та hsa-mir-200b-3p: квадратами позначено мікроРНК, колами — цільові гени (жовтим кольором виділено гени залучені у виникнення та прогресію новоутворень товстої кишки)

mir-125b-5p, hsa-mir-200b-3p (рис. 2). За даними, представленими у miRTarBase v8.0, TarBase v.8.0 та miRecords v8.0, hsa-mir-100-5p бере участь у регуляції експресії 577 генів, hsa-mir-125b-5p — 1338 генів, а hsa-mir-200b-3p — 1904 генів. Згідно з результатами аналізу генів-мішеней із використанням бази даних DisGeNET v7.0 за алгоритмом *Hypergeometric test* порушення експресії 24 генів ($p = 0,00207$) асоційовані з виникненням та розвитком новоутворень прямої кишки. До таких генів відносять: *DNMT1*, *IGF2*, *ODC1*, *JUN*, *VEGFA*, *BAP1*, *APC*, *BAK1*, *EGFR*, *STAT3*, *TP53*, *MAOB*, *ICAM1*, *OXT*, *CDKN1A*, *HMGCS2*, *MYC*, *BRD4*, *MKI67*, *TAGLN*, *CTNNB1*, *AXIN2*, *PLCB1*, *S100A4*.

За допомогою DIANA Tools miRPath v3 (доступ від 22 вересня 2023 р.) та бази даних TaRBase v7.0, проведено аналіз сигнальних шляхів, які регулюються досліджуваними мікроРНК. Отримані результати представлені у вигляді ієрархічних кластерів та теплової карти, що відображають найбільш релевантні сигнальні шляхи, в регуляцію яких залучені hsa-mir-100-5p, hsa-mir-125b-5p та hsa-mir-200b-3p. Згідно даних, представлених на рис. 3, для цих 3 мікроРНК загалом встановлена асоціація з 24 сигнальними шляхами. Зазначимо, що найсильніші сигнальні асоціації були характерні для наступних шляхів — *Proteoglycans in cancer*

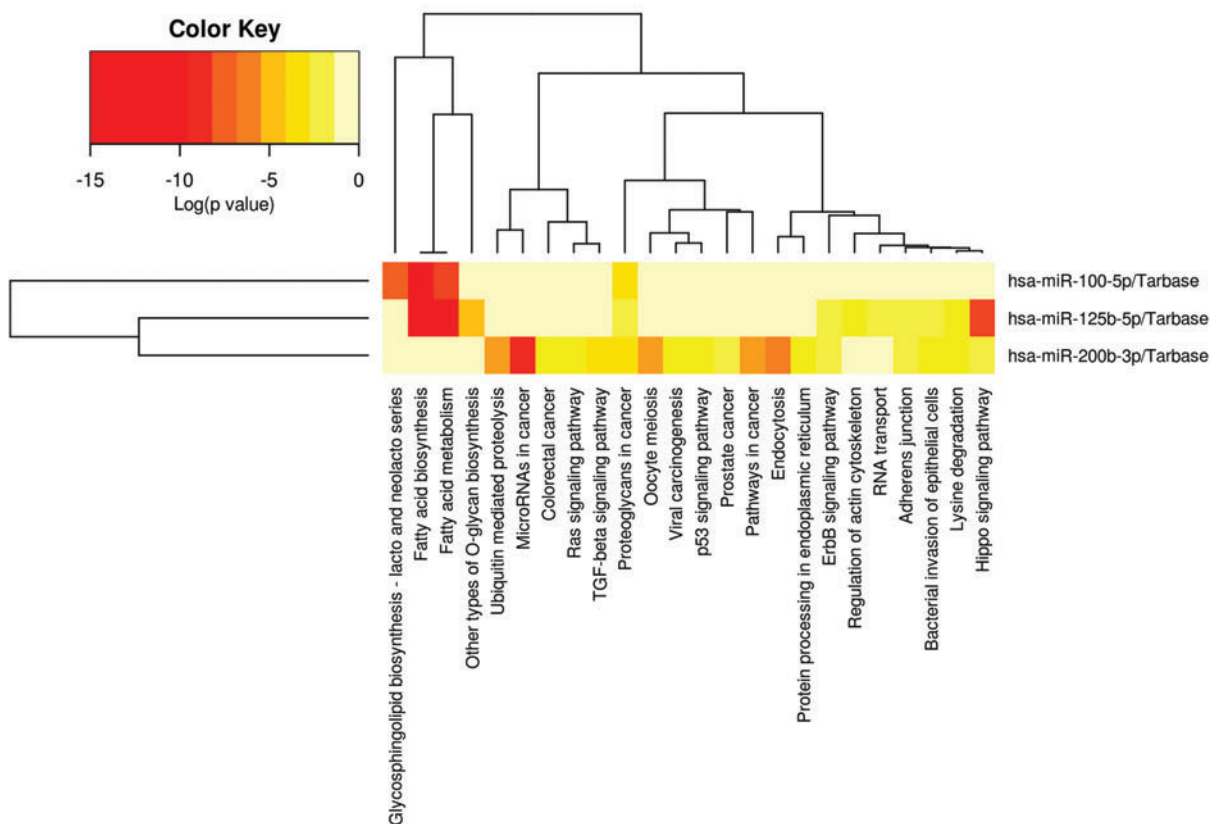


Рис. 3. Ієрархічний кластер та теплова карта мікроРНК/KEGG сигнальних шляхів, що регулюються hsa-miR-100-5p, hsa-miR-125b-5p та hsa-miR-200b-3p

(hsa05205), Fatty acid biosynthesis (hsa00061), Fatty acid metabolism (hsa01212) та ErbB signaling pathway (hsa04012).

З метою визначення функціональної ролі досліджуваних мікроРНК було проведено GO-аналіз їх генів-мішеней, відповідно до інформації роз-

міщеної в TarBase v7.0., за допомогою онлайн-інструменту DAVID. Нами отримано результати щодо трьох основних онтологічних категорій “біологічні процеси”, “клітинні компоненти”, а також “молекулярні функції”, які представлено у вигляді хордових діаграм на *рис. 4*. Встановлено, що серед

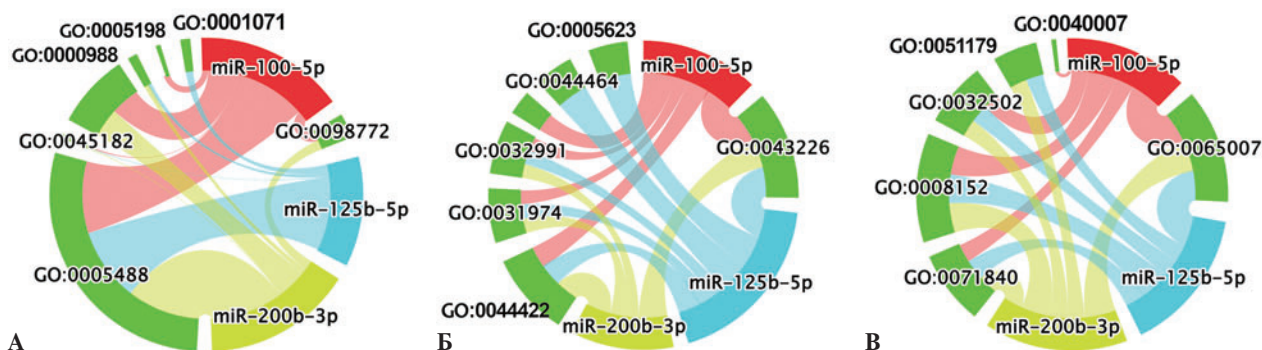


Рис. 4. Класифікація функціонального спектру продуктів цільових генів hsa-miR-100-5p, hsa-miR-125b-5p та hsa-miR-200b-3p (А — молекулярні функції, Б — клітинні компоненти, В — біологічні процеси)

Примітка: **Біологічні процеси:** GO:0065007 — біологічна регуляція, GO:0071840 — організація клітинних компонент або біогенез, GO:0008152 — метаболічний процес, GO:0032502 — процеси розвитку, GO:0051179 — локалізація, GO:0040007 — ріст; **Клітинні компоненти:** GO:0043226 — органели, GO:0044422 — частини органел, GO:0031974 — просвіти, оточені мембраною, GO:0032991 — макромолекулярні комплекси, GO:0016020 — мембрана, GO:0044464 — частина клітини, GO:0005623 — клітина; **Молекулярні функції:** GO:0098772 — регуляція молекулярних функцій, GO:0005488 — зв'язування, GO:0045182 — активність регулятора трансляції, GO:0003824 — каталітична активність, GO:0000988 — активність фактора транскрипції, зв'язування з білком, GO:0005198 — активність структурної молекули, GO:0001071 — активність фактора транскрипції, що зв'язує нуклеїнову кислоту.

біологічних процесів, які регулюються досліджуваними мікроРНК, переважають біологічна регуляція, організація клітинних компонент або біогенез, а також метаболічні процеси. Серед клітинних компонентів, які кодуються генами-мішенями ідентифікованої панелі мікроРНК, переважали органели, частини органел та просвіти, оточені мембраною. Зазначимо, що серед молекулярних функцій, які регулюються генами-мішенями досліджуваних мікроРНК основними є регуляція молекулярних функцій, зв'язування різних молекул та регуляція трансляції.

В подальшому за доцільне вбачали проаналізувати показники загальної виживаності хворих на КРР залежно від рівня експресії досліджуваних

мікроРНК. Як видно з даних, наведених на *рис. 5*, високі показники експресії hsa-miR-200b-3p у тканині КРР асоціюються із кращими показниками загальної виживаності пацієнтів. Зазначимо, що згідно отриманих результатів достовірної різниці між виживаністю хворих на КРР залежно від рівня hsa-miR-100-5p та hsa-miR-125b-5p у пухлинній тканині не виявлено.

Отже, результати проведеного нами аналізу відкритих баз даних свідчать про можливість використання показників експресії hsa-miR-200b-3p в якості перспективного прогностичного маркера КРР.

З моменту відкриття мікроРНК у 1993 р. спостерігається лавиноподібне зростання кількості наукових публікацій присвячених вивченню ролі цих регуляторних молекул у виникненні та прогресії злоякісних новоутворень. Встановлено їх участь у ангіогенезі, біології пухлинних стовбурових клітин, епітеліально-мезенхімальному переході, розвитку метастазів та резистентності до терапії. З 2008 р. мікроРНК стали розглядати в якості перспективних біомаркерів при онкологічних захворюваннях [14].

Встановлено, що при КРР мікроРНК залучені у регуляцію численних сигнальних шляхів і володіють великим діагностичним та прогностичним потенціалом, а також можуть слугувати в якості агентів таргетної терапії [22]. Саме тому поглиблення досліджень мікроРНК сприятиме розумінню механізму розвитку КРР, створить теоретичне підґрунтя для його профілактики, ранньої діагностики та лікування. За допомогою онлайн-інструменту miRNet v.2.0 нами було ідентифіковано 220 мікроРНК, порушення експресії яких асоційоване із виникненням та прогресією КРР та в подальшому сформовано панель із трьох мікроРНК — hsa-miR-100-5p, hsa-miR-125b-5p та hsa-miR-200b-3p. На основі проведеного біоінформатичного дослідження нам вдалось встановити гени-мішені кожної із цих мікроРНК. Зокрема з'ясовано, що hsa-miR-100-5p залучена в регуляцію експресії 577 генів, hsa-miR-125b-5p — 1338 генів, а hsa-miR-200b-3p — 1904 генів. Більше того, порушення експресії 24 генів, які знаходяться під контролем відібраної панелі мікроРНК, асоційовані з виникненням та розвитком новоутворень прямої кишки.

Виявлено високий рівень залученості даних мікроРНК у регуляцію таких сигнальних шляхів як Proteoglycans in cancer (hsa05205), Fatty acid biosynthesis (hsa00061), Fatty acid metabolism (hsa01212) та ErbB signaling pathway (hsa04012). Важливість порушень регуляції вказаних сигнальних шляхів підтверджується даними літератури [23]. Зокрема встановлено важливу роль протеогліканів в рості, метастазуванні та міграції злоякісно трансформованих клітин. Наприклад, біглікан у поєднанні з

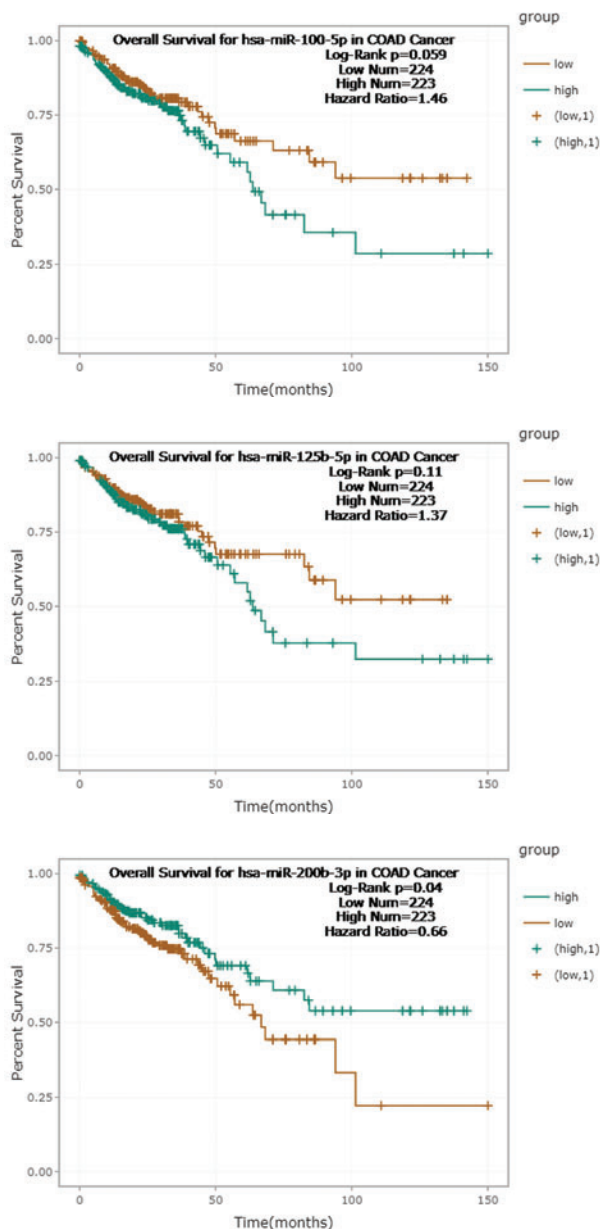


Рис. 5. Показники загальної виживаності хворих на КРР залежно від рівня експресії досліджуваних мікроРНК відповідно до даних ENCORI

фактором росту ендотелію судин може сприяти прогресуванню КРР, індукуючи збільшення щільності судин. Не менш важливим у виникненні та прогресії КРР є порушення біосинтезу та метаболізму жирних кислот. Зокрема, високий рівень синтази жирних кислот, асоціюється із прогресією КРР. Дослідження в системі *in vitro* підтвердили, що нокдаун синтази жирних кислот у різних клітинних лініях КРР інгібує інвазивну активність клітин КРР [24]. Не менш важливим у виникненні та прогресії КРР є сигнальний шлях ErbB. Так, представники родини рецепторних тирозинкіназ ErbB залучені в регуляцію клітинної проліферації, метаболізму і виживання пухлинних клітин. Продемонстровано, що у клітинах КРР ErbB2 активує ErbB3 шляхом стимуляції кількох внутрішньоклітинних сигнальних білків, таких як MAPK, PI3K/Akt і Src кіназа, що сприяє активації злоякісного росту [25].

Аналіз показників виживаності хворих на КРР залежно від показників експресії досліджуваних мікроРНК у пухлинній тканині показав, що найвищим прогностичним потенціалом володіє hsa-miR-200b-3p. Ця мікроРНК характеризується вираженими онкосупресорними властивостями при КРР, що підтверджується опублікованими результатами досліджень. Доведено, що hsa-miR-200b-3p здатна пригнічувати проліферацію та індукувати апоптоз клітин КРР шляхом інактивації Wnt/ β -катенін сигналіngu [26].

ВИСНОВОК

Отримані нами результати свідчать про необхідність подальшого дослідження ролі hsa-miR-100-5p, hsa-miR-125b-5p та hsa-miR-200b-3p у механізмах виникнення та прогресії КРР в системах *in vitro* та *ex vivo* з метою використання показників їх експресії в якості маркерів перебігу пухлинного процесу.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

- Sung H, Ferlay J, Siegel RL, *et al.* Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin* 2021; **71**: 209–49. doi: 10.3322/caac.21660.
- Hughes LAE, Simons CCJM, van den Brandt PA, *et al.* Life-style, diet, and colorectal cancer risk according to (epi)genetic instability: current evidence and future directions of molecular pathological epidemiology. *Curr Colorectal Cancer Rep* 2017; **13**: 455–69. doi: 10.1007/s11888-017-0395-0.
- Yamamoto T, Kawada K, Obama K. Inflammation-related biomarkers for the prediction of prognosis in colorectal cancer patients. *Int J Mol Sci* 2021; **22**: 8002. doi: 10.3390/ijms22158002.
- Oh HH, Joo YE. Novel biomarkers for the diagnosis and prognosis of colorectal cancer. *Intestinal Res* 2020; **18** (2): 168–83. doi: 10.5217/ir.2019.00080.
- Bonfrate L, Altomare DF, Di Lena M, *et al.* MicroRNA in colorectal cancer: new perspectives for diagnosis, prognosis and treatment. *J Gastrointest Liver Dis* 2013; **22** (3): 311–20. PMID: 24078989.
- Burt RW, Barthel JS, Dunn KB, *et al.* NCCN clinical practice guidelines in oncology. Colorectal cancer screening. *JNCCN* 2010; **8** (1): 8–61. doi: 10.6004/jnccn.2010.0003.
- Koncina E, Haan S, Rauh S, Letellier E. Prognostic and predictive molecular biomarkers for colorectal cancer: updates and challenges. *Cancers* 2020; **12** (2): 319. doi: 10.3390/cancers12020319.
- Gonzalez-Pons M, Cruz-Correa M. Colorectal cancer biomarkers: where are we now? *BioMed Res Int* 2015; **2015**: 149014. doi: 10.1155/2015/149014.
- Zhu J, Xu Y, Liu S, *et al.* MicroRNAs associated with colon cancer: new potential prognostic markers and targets for therapy. *Front Bioeng Biotechnol* 2020; **8**: 176. doi: 10.3389/fbioe.2020.00176.
- Ly Y, Duanmu J, Fu X, *et al.* Identifying a new microRNA signature as a prognostic biomarker in colon cancer. *PLoS one* 2020; **15** (2): e0228575. doi: 10.1371/journal.pone.0228575.
- Hussen BM, Hidayat HJ, Salihi A, *et al.* MicroRNA: a signature for cancer progression. *Biomed Pharmacother* 2021; **138**: 111528. doi: 10.1016/j.biopha.2021.111528.
- Xiao G, Tang H, Wei W, *et al.* Aberrant expression of microRNA-15a and microRNA-16 synergistically associates with tumor progression and prognosis in patients with colorectal cancer. *Gastroenterol Res Pract* 2014; **2014**: 364549. doi: 10.1155/2014/364549.
- Schetter AJ, Leung SY, Sohn JJ, *et al.* MicroRNA expression profiles associated with prognosis and therapeutic outcome in colon adenocarcinoma. *JAMA* 2008; **299**: 425–36. doi: 10.1001/jama.299.4.425.
- Lukianova NYu, Borikun TV, Bazas VM, *et al.* Circulating microRNAs: prospects of use for early diagnostics and monitoring of tumor process. *Oncology* 2019; **21** (3): 181–91.
- Chang L, Zhou G, Soufan O, Xia J. miRNet 2.0: network-based visual analytics for miRNA functional analysis and systems biology. *Nucleic Acids Res* 2020; **48** (W1): W244–251. doi: 10.1093/nar/gkaa467.
- Huang HY, Lin YC, Li J, *et al.* miRTarBase 2020: updates to the experimentally validated microRNA-target interaction database. *Nucleic Acids Res* 2020; **48** (D1): D148–154. doi: 10.1093/nar/gkz896.
- Karagkouni D, Paraskevopoulou MD, Chatzopoulos S, *et al.* DIANA-TarBase v8: a decade-long collection of experimentally supported miRNA-gene interactions. *Nucleic Acids Res* 2018; **46** (D1): D239–45. doi: 10.1093/nar/gkx1141.
- Xiao F, Zuo Z, Cai G, *et al.* miRecords: an integrated resource for microRNA-target interactions. *Nucleic Acids Res* 2009; **37**: D105–10. doi: 10.1093/nar/gkn851.
- Wilkinson MD, Dumontier M, Aalbersberg IJ, *et al.* The FAIR Guiding Principles for scientific data management and stewardship. *Sci Data* 2016; **3**: 160018. doi: 10.1038/sdata.2016.18.
- Vlachos IS, Zagganas K, Paraskevopoulou MD, *et al.* DIANA-miRPath v3.0: deciphering microRNA function with experimental support. *Nucleic Acids Res* 2015; **43** (W1): W460–66. doi: 10.1093/nar/gkv403.
- Li JH, Liu S, Zhou H, *et al.* starBase v2.0: decoding miRNA-ceRNA, miRNA-ncRNA and protein-RNA interaction networks from large-scale CLIP-Seq data. *Nucleic Acids Res* 2014; **42**: D92–7. doi: 10.1093/nar/gkt1248.
- Cekaite L, Eide PW, Lind GE, *et al.* MicroRNAs as growth regulators, their function and biomarker status in colorectal cancer. *Oncotarget* 2016; **7**: 6476–505. doi: 10.18632/oncotarget.6390.
- Ahrens TD, Bang-Christensen SR, Jørgensen AM, *et al.* The role of proteoglycans in cancer metastasis and circulating tumor cell analysis. *Front Cell Dev Biol* 2020; **8**: 749. doi: 10.3389/fcell.2020.00749.

24. Wang H, Xi Q, Wu G. Fatty acid synthase regulates invasion and metastasis of colorectal cancer via Wnt signaling pathway. *Cancer Med* 2016; **5** (7): 1599–606. doi: 10.1002/cam4.711.
25. Park H, Kim I, Kim J, Nam T. Induction of apoptosis and the regulation of ErbB signaling by laminarin in HT-29 human colon cancer cells. *Int J Mol Med* 2013; **32** (2): 291–5. doi: 10.3892/ijmm.2013.1409.
26. Chen L, Wang X, Zhu Y, et al. miR-200b-3p inhibits proliferation and induces apoptosis in colorectal cancer by targeting Wnt1. *Mol Med Rep* 2018; **18**: 2571–80. doi: 10.3892/mmr.2018.9287.

IDENTIFICATION AND FUNCTIONAL ANALYSIS OF microRNA AS PROSPECTIVE PROGNOSTIC MARKERS OF COLORECTAL CANCER

S.V. Maliborska^{1,2}, T.V. Zadovnyi³

¹ Department of Oncology, Ivano-Frankivsk National Medical University, Ivano-Frankivsk,

² Communal non-profit enterprise “Prykarpatsky Clinical Oncology Center of the Ivano-Frankivsk Regional Council”, Ivano-Frankivsk,

³ R.E. Kavetsky Institute of Experimental Pathology, Oncology and Radiobiology, NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine

Summary. Colorectal cancer (CRC) is one of the main causes of death from malignant neoplasms. Despite the progress achieved in the diagnosis and treatment of CRC, long-term results still remain unsatisfactory. That is why the search for specific biomarkers for predicting the course of the tumor process and personalizing the therapy of this form of cancer is relevant. **Aim:** to identify microRNAs and determine their functional role in the occurrence and progression of CRC, with the aim of further using them as prognostic markers of this oncopathology. **Object and methods:** KEGG analysis of signaling pathways was performed using DIANA miRPath v.3.0. Analysis of the functional role of the target genes of the microRNAs was carried out using the DAVID online tool. The study of overall survival rates of patients with CRC depending on the expression level of the miRNAs was conducted using the ENCORI Pan-Cancer Analysis Platform databases. **Results:** based on the data presented in the databases

miR2Disease, HMDD v.3.2, PhenomiR v.2.0, we identified that 3 microRNAs are involved in the occurrence and progression of CRC and can be considered as prognostic markers — hsa-mir-100-5p, hsa-mir-125b-5p, hsa-mir-200b-3p. It was established that the studied microRNAs are involved in the regulation of 24 signaling pathways, among which the strongest signaling associations were characteristic of Proteoglycans in cancer (hsa05205), Fatty acid biosynthesis (hsa00061), Fatty acid metabolism (hsa01212) and ErbB signaling pathway (hsa04012). It was found that high expression rates of hsa-mir-200b-3p in CRC tissue are associated with better rates of overall patient survival. **Conclusions:** the results obtained by us indicate the need for further research of the role of hsa-mir-100-5p, hsa-mir-125b-5p and hsa-mir-200b-3p in the mechanisms of the occurrence and progression of CRC and indicate the perspective of using hsa-mir-200b-3p as a prognostic marker associated with the aggressiveness of the tumor process.

Keywords: colorectal cancer, microRNA, hsa-mir-100-5p, hsa-mir-125b-5p, hsa-mir-200b-3p.

Адреса для листування:

С.В. Маліборська
76018, Івано-Франківськ,
вул. Галицька, 2,
Івано-Франківський національний
медичний університет,
Івано-Франківськ
E-mail: svetamaliborska13@gmail.com

Одержано: 08.11.2023