



Сравнительный анализ профиля циркулирующих микроРНК в плазме крови пациентов с глиальными опухолями мозга

Д. Ю. Гвалдин, Н. А. Петрусенко✉, Э. Е. Росторгуев, С. Н. Димитриади,
С. Э. Кавицкий, Н. Н. Тимошкина

Национальный медицинский исследовательский центр онкологии Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация

✉ petrusenko-natulya@mail.ru

Аннотация

На фоне скромных успехов в разработке новых диагностических и терапевтических инструментов для повышения выживаемости пациентов с глиальными опухолями головного мозга остается актуальной ранняя диагностика этой патологии. Эндогенные некодирующие микроРНК, регулирующие экспрессию мРНК-мишеней, стали привлекательными целями для разработки тестов на базе циркулирующих биомаркеров, поскольку получение образца не требует инвазивного отбора проб, такого как биопсия.

Цель исследования. С помощью высокопроизводительного секвенирования определить уровни циркулирующих микроРНК в плазме крови пациентов с глиальными опухолями, менингиомами и условно здоровыми донорами.

Материалы и методы. Из биобанка, функционирующего на базе ФГБУ «НМИЦ онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, были отобраны 26 образцов плазмы крови, тотальную РНК которых исследовали с помощью метода NGS-секвенирования. В выборку были включены: 2 случая олигодендроглиомы 2–3-й степени злокачественности; 6 – астроцитомы 2–4-й степени злокачественности, 7 – глиобластомы 4-й степени злокачественности; 7 – доброкачественных новообразований (менингиомы), 4 – контрольных (условно здоровые доноры).

Результаты. В ходе первичного анализа выявлен пул из 71 дифференциально экспрессирующейся подтипспецифичной микроРНК: 20 микроРНК для глиобластомы, 4 микроРНК для астроцитомы, 23 микроРНК для олигодендроглиомы, 24 микроРНК для менингиомы. При этом 47 микроРНК демонстрировали повышенный уровень в плазме крови по сравнению с контрольной группой, 15 – соответственно снижение уровня. В ходе сравнительного анализа определены микроРНК, специфично дифференцирующие каждый тип опухоли.

Заключение. Полученные результаты представляются перспективными и задают вектор для дальнейших исследований, который будет включать расширение выборки и валидацию идентифицированных биомаркеров для определения их диагностической ценности.

Ключевые слова:

микроРНК, глиальные опухоли, менингиомы, высокопроизводительное секвенирование, циркулирующие биомаркеры

Для цитирования: Гвалдин Д. Ю., Петрусенко Н. А., Росторгуев Э. Е., Димитриади С. Н., Кавицкий С. Э., Тимошкина Н. Н. Сравнительный анализ профиля циркулирующих микроРНК в плазме крови пациентов с глиальными опухолями мозга. Research and Practical Medicine Journal (Исследования и практика в медицине). 2024; 11(2): 36–45. <https://doi.org/10.17709/2410-1893-2024-11-2-3> EDN: LEHTGP

Для корреспонденции: Петрусенко Наталья Александровна – младший научный сотрудник лаборатории молекулярной онкологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация
Адрес: 344037, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, ул. 14-я линия, д. 63

E-mail: petrusenko-natulya@mail.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7919-6111>, SPIN: 5577-3805, AuthorID: 960639, Scopus Author ID: 57216917933, ResearcherID: AGE-9461-2022

Соблюдение этических стандартов: в работе соблюдались этические принципы, предьявляемые Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации (World Medical Association Declaration of Helsinki, 1964, ред. 2013). Информированное согласие на обработку персональных данных и передачу сведений, составляющих врачебную тайну, и биологического материала получено от всех участников исследования.

Финансирование: финансирование данной работы проводилось в рамках госзадания «Разработка малоинвазивной диагностической панели опухолей головного мозга на основе циркулирующих микроРНК в плазме крови».

Конфликт интересов: все авторы заявляют об отсутствии явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Статья поступила в редакцию 28.02.2024; одобрена после рецензирования 27.03.2024; принята к публикации 20.05.2024.

© Гвалдин Д. Ю., Петрусенко Н. А., Росторгуев Э. Е., Димитриади С. Н., Кавицкий С. Э., Тимошкина Н. Н., 2024

Comparative analysis of the profile of circulating microRNAs in the blood plasma of patients with gliomas

D. Yu. Gvaldin, N. A. Petrusenko✉, E. E. Rostorguev, S. N. Dimitriadi, S. E. Kavitskiy, N. N. Timoshkina

National Medical Research Centre for Oncology, Rostov-on-Don, Russian Federation

✉ petrusenko-natulya@mail.ru

Abstract

Against the background of modest successes in the development of new diagnostic and therapeutic tools to improve the survival of patients with glial brain tumors, early diagnosis of this pathology remains relevant. Endogenous non-coding miRNAs that regulate the expression of target mRNAs have become attractive targets for the development of circulating biomarker-based assays, because sample acquisition does not require invasive sampling such as biopsy.

Purpose of the study. To determine the levels of circulating microRNAs in the blood plasma of patients with glial tumors, meningiomas and apparently healthy donors, using high-output sequencing.

Material and methods. 26 blood plasma samples were selected from the biobank data base of the National Medical Research Center for Oncology, and the total RNA was studied using the NGS sequencing method. The sample included: 2 cases of oligodendroglioma (grades 2–3), 6 – astrocytomas of 2–4 degrees of malignancy, 7 – glioblastomas of 4 degrees of malignancy, 7 – benign neoplasms (meningiomas), 4 – control (conditionally healthy donors).

Results. During the primary analysis, a pool of 71 differentially expressed microRNAs was identified, the expression of which was tumor-specific: 20 microRNAs for glioblastoma, 4 microRNAs for astrocytoma, 23 microRNAs for oligodendroglioma, 24 microRNAs for meningioma. At the same time, 47 microRNAs showed increased levels in the blood plasma compared to the control group, 15 showed a corresponding decrease in levels. A comparative analysis identified microRNAs that specifically differentiate each tumor type.

Conclusion. The results obtained seem promising and set the vector for further research, which will include expanding the sample and validating the identified biomarkers to determine their diagnostic value.

Keywords:

microRNA, gliomas, meningiomas, high-output sequencing, circulating biomarkers

For citation: Gvaldin D. Yu., Petrusenko N. A., Rostorguev E. E., Dimitriadi S. N., Kavitskiy S. E., Timoshkina N. N. Comparative analysis of the profile of circulating microRNAs in the blood plasma of patients with gliomas. Research and Practical Medicine Journal (Issled. prakt. med.). 2024; 11(2): 36-45. (In Russ.).

<https://doi.org/10.17709/2410-1893-2024-11-2-3> EDN: LEHTGP

For correspondence: Natalia A. Petrusenko – Junior Research Associate at the Laboratory of Molecular Oncology, National Medical Research Centre for Oncology, Rostov-on-Don, Russian Federation

Address: 63 14 line str., Rostov-on-Don, 344037, Russian Federation

E-mail: petrusenko-natulya@mail.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2937-0470>, SPIN: 8487-9157, AuthorID: 794808, Scopus Author ID: 57196005138, ResearcherID: AAK-6852-2020

Compliance with ethical standards: the work followed the ethical principles set forth by the World Medical Association Declaration of Helsinki, 1964, ed. 2013. Informed consent to the processing of personal data and the transfer of information constituting a medical secret and to the transfer of biological material was received from all participants in the study.

Funding: the financial support of this work was provided within the framework of the state task "Development of a minimally invasive diagnostic panel for brain tumors based on circulating microRNAs in blood plasma".

Conflict of interest: the authors declare that there are no obvious and potential conflicts of interest associated with the publication of this article.

The article was submitted 28.02.2024; approved after reviewing 27.03.2024; accepted for publication 20.05.2024.

АКТУАЛЬНОСТЬ

Глиальные опухоли являются наиболее распространенными первичными опухолями головного мозга, при этом в более чем 50 % случаев диагностируют мультиформную глиобластому, которая имеет самую высокую степень злокачественности (WHO Grade 4) и наименьшую 5-летнюю выживаемость (6,8 % по сравнению с пилоцитарной астроцитомой 94,7 %) [1, 2]. Несмотря на огромные усилия по разработке новых диагностических и терапевтических инструментов для повышения выживаемости пациентов с опухолями головного мозга, на данный момент не достигнуты значительные результаты. Основной подход в арсенале лечения глиом – оперативное вмешательство, которое для глиом высокой степени злокачественности дополняется лучевой терапией и стандартной химиотерапией на базе темозоломида [3, 4].

Открытие эндогенных некодирующих микроРНК, регулирующих экспрессию мРНК-мишеней, стало прорывом в начале 2000-х годов. Изменение уровня экспрессии этих регуляторных молекул наблюдается при различных типах опухолей, в том числе при злокачественных новообразованиях головного мозга по сравнению со здоровым мозгом, более того, в опухоли на различных стадиях ее развития уровень отдельных микроРНК претерпевает динамические изменения [5, 6]. Функциональный анализ отдельных GBM-специфичных микроРНК показывает, что они могут играть роль онкогенов и супрессоров опухолей, участвуют в развитии устойчивости к химио- и лучевой терапии, стимулируют неоангиогенез и пролиферацию клеток, а также регулируют клеточный цикл и апоптоз [7–13]. Было продемонстрировано, что микроРНК могут секретироваться в кровь, стабильны в системе кровообращения и присутствуют в плазме или сыворотке, в том числе и в составе экзосом, что указывает на то, что диагностика глиом возможна также с помощью анализа микроРНК из крови и спинномозговой жидкости пациентов [8, 9].

Биомаркеры, обнаруживаемые в крови, ликворе, слюне, все чаще используются для ранней диагностики и мониторинга опухолей как важное дополнение к тканевой биопсии и методам визуализации. Преимуществом неинвазивной жидкостной биопсии, в которой выявляют циркулирующие биомаркеры, является простота взятия образцов, возможность повторного забора, обеспечивающего динамическое наблюдения во время терапии [14]. Предполагается, что источником биологических анализов может выступать опухолевая ткань и, следовательно, выделенные молекулы могут представлять собой ее подлинный и репрезентативный образец. В текущих

клинических исследованиях пациентов с глиальными опухолями используется широкий спектр циркулирующих биомаркеров, таких как метаболический профиль крови и ликвора (NCT03865355), бесклеточная опухолевая ДНК (цДНК) в ликворе (NCT05934630, NCT05934630), микроРНК (NCT01849952). Однако до сих пор ни один тест на основе жидкостной биопсии не получил одобрения для диагностики глиальных опухолей, что связано с рядом особенностей этих злокачественных новообразований по сравнению с другими солидными видами рака. Например, локализация глиом преимущественно в головном мозге ограничивает высвобождение в кровь многих анализов (цДНК, кодирующая цРНК, полипептиды) из-за гематоэнцефалического барьера. Кроме того, гетерогенность глиом и их схожий генетический профиль с другими опухолями головного мозга и неопухолевыми неврологическими заболеваниями осложняет специфическую идентификацию заболевания [15]. Тем не менее, поиск эффективных циркулирующих маркеров глиом продолжается, что дополнительно стимулируется положительным опытом по внедрению тестов на базе жидкостной биопсии в диагностику и мониторинг рака легкого, рака молочной железы, колоректального рака и рака предстательной железы [16].

Наше исследование было запланировано для идентификации циркулирующих микроРНК, которые будут отобраны в качестве биомаркеров ранней диагностики глиальных опухолей.

Цель исследования – с помощью высокопроизводительного секвенирования определить уровни циркулирующих микроРНК в плазме крови пациентов с глиальными опухолями, менингиомами и условно здоровыми донорами.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В период с января по ноябрь 2023 г. были депонированы образцы плазмы пациентов, проходивших лечение на базе ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России и подписавших информированное согласие на участие в исследовании. Характеристика группы приведена в таблице 1.

Для первичного скрининга исследования были сформированы пять групп: пациенты с диагнозом олигодендроглиома 2–3-й степени злокачественности ($n = 2$), астроцитома 2–4-й степени злокачественности ($n = 6$), глиобластома 4-й степени злокачественности ($n = 7$), менингиомы ($n = 7$), группа сравнения – доноры без онкопатологии (контрольная группа) ($n = 4$). Диагноз выбранных 22 пациентов был подтвержден морфологически на операционном материале.

Объект исследования кровь отбирали у пациентов натошак в пробирки вакуумные с КЭДТА. В течение 30 мин. из образцов крови выделяли плазму путем последовательного двойного центрифугирования в режиме: 2000 об./мин. 10 мин. и 5000 об./мин. 10 мин. Плазму хранили в криопробирках при минус 75 °С. В дальнейшем образцы плазмы размораживали и использовали 200 мкл для выделения фракции микроРНК с помощью набора miRNeasy Serum/Plasma Kit (Qiagen, Germany) по этапам, описанным в инструкции производителя. Для нормализации выделения использовали контроль синтетический спайк-ин miScript miRNeasy.

Для прецизионного секвенирования нового поколения (NGS) зрелых микроРНК на приборе MiSeq Dx (Illumina) готовили библиотеки кДНК на базе набора QIAseq miRNA Library Kit (Qiagen, Germany). На финальном этапе объединенный образец библиотек загружали в картридж и настраивали цикл секвенирования, используя параметры, указанные в руководстве пользователя системы MiSeq. Согласно рекомендациям, на одну выборку планировали 5–10 миллионов прочтений. Рекомендуемый протокол – однократное чтение 75 п.н.

Первичный и вторичный анализ данных секвенирования осуществляли на сайте Geneglobe.qiagen.com/analyze согласно рекомендациям производителя. С помощью пакета «DESeq2» программной вычислительной среды R 4.3.2 осуществляли анализ дифференциальной экспрессии микроРНК [17]. При анализе дифференциально экспрессирующихся (ДЭ) микроРНК применялся тест Вальда. В дальнейшем учитывались значения, удовлетворявшие двум условиям $|\log_2 FC| > 1$ и $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для всех пациентов, вошедших в исследование, были получены данные NGS секвенирования плазмы крови.

По результатам высокопроизводительного секвенирования было обнаружено 20 дифференциально экспрессирующихся микроРНК в плазме крови больных с глиобластомами, 4 дифференциально экспрессирующихся микроРНК – больных с астроцитомами, 23 дифференциально экспрессирующихся микроРНК – больных с олигодендроглиомами, 24 дифференциально экспрессирующихся микроРНК – больных с менингиомами. Затем из пула микроРНК, экспрессия которых отличалась от контрольной группы, были извлечены биомаркеры, которые удовлетворяли условиям $p < 0,05$ и $|\log_2 FC| > 1$ (рис. 1).

Визуализированные данные уровня экспрессии в плазме (рис. 1) наглядно демонстрируют преобладание во всех исследуемых группах потенциально онкогенных микроРНК (с повышенной экспрессией). Например, в группе астроцитом все четыре микроРНК, со статистически значимыми изменениями, характеризовались повышенным уровнем экспрессии.

При сравнении экспрессионных профилей были отобраны микроРНК, экспрессионные изменения которых, предположительно, позволяют дифференцировать исследуемые группы. Так, для больных с глиобластомой были описаны уникальные экспрессионные профили из 6 микроРНК, для больных с астроцитомой – 1 микроРНК, для больных с олигодендроглиомой – 14 микроРНК, для больных с менингиомой – 7 микроРНК (рис. 2, табл. 2).

Таблица 1. Характеристика группы пациентов и условно здоровых доноров
Table 1. Characteristics of the group of patients and conditionally healthy donors

Показатели / Indicators	Пациенты / Patients	Условная норма / Relative norm
Пол / Sex		
Женский / Female	10	3
Мужской / Male	12	1
Возраст, лет/ Age, years old		
Медиана / Median	55	52
Диапазон/ Range	19–91	50–55
Олигодендроглиома 2–3 ст. / Oligodendroglioma grades 2-3	2	–
Астроцитома 2–4 ст. / Astrocytoma grades 2-4	6	
Глиобластома 4 ст. / Glioblastoma grade 4	7	
Доброкачественные новообразования / Benign neoplasms	7	

ОБСУЖДЕНИЕ

Данные литературы о цРНК, ассоциированных с глиальными опухолями, довольно обширны: объектами исследования стали фракции циркулирующей бесклеточной РНК, экзосомы, тромбоциты и циркулирующие опухолевые клетки, концентрированные из периферической крови, ликвора, слюны и мочи [11, 12, 16]. В ходе нашего исследования выявлен пул из 67 дифференциально экспрессирующихся микроРНК в плазме крови пациентов с подтвержденным диагно-

зом глиальной опухоли или менингиомы по сравнению с плазмой доноров без онкопатологии (рис. 1, 2, табл. 2). Количество циркулирующих маркеров, выявленное в плазме, ожидаемо было ниже разнообразия ДЭ микроРНК в опухолевой ткани, которое мы наблюдали при анализе данных базы The Cancer Genome Atlas [5]. Из 49 маркеров, обнаруженных исключительно в плазме больных с глиомами, 41 микроРНК дифференциально экспрессируется в опухолях. Этот факт связан как с биологическим материалом, так и с небольшим объемом выборки. Отметим сохране-

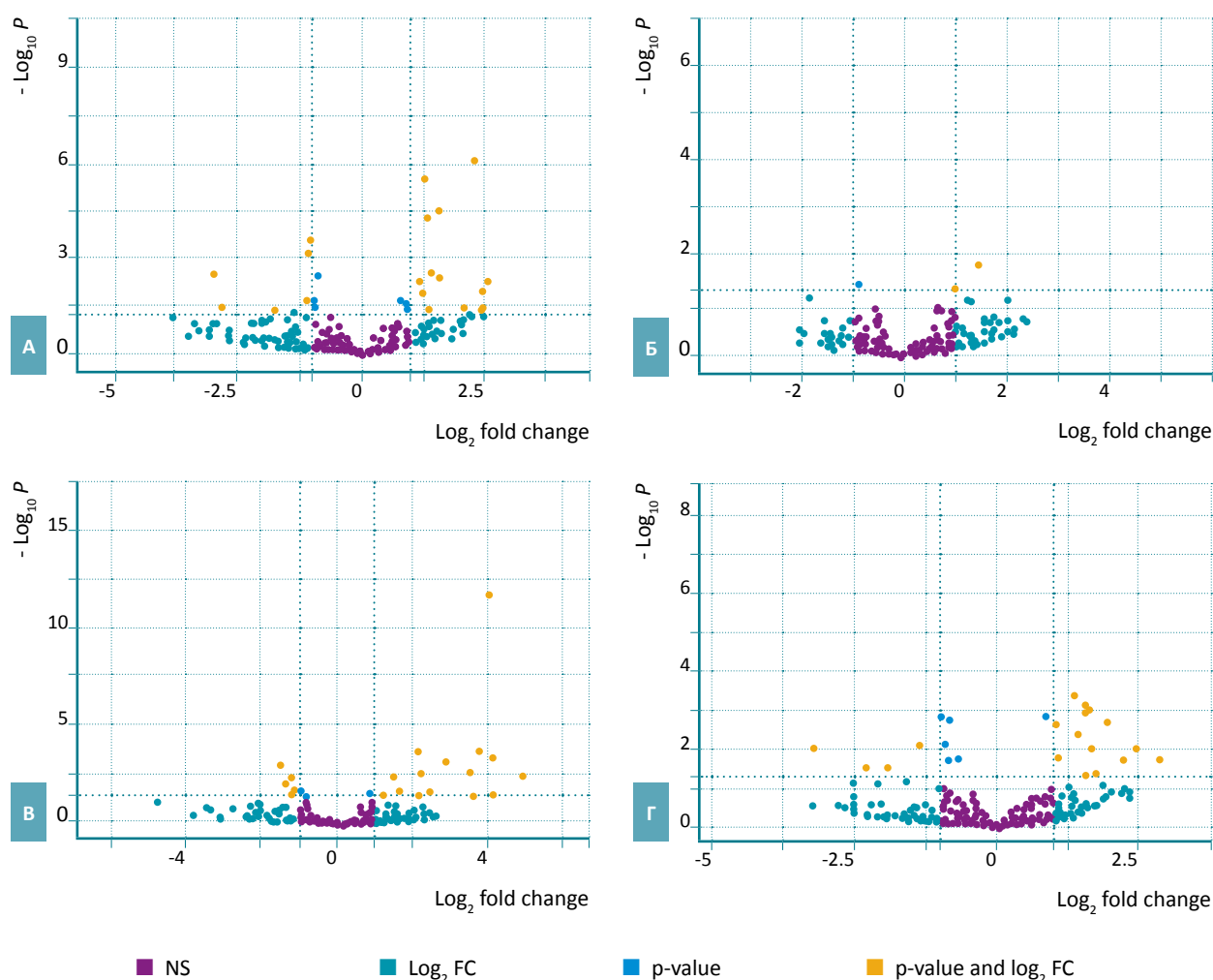


Рис. 1. График рассеивания, демонстрирующий ДЭ микроРНК в плазме крови в группах: А – глиобластомы; Б – астроцитомы, В – олигодендроглиомы, Г – менингиомы. Фиолетовым цветом выделены микроРНК со статистически не значимыми изменениями экспрессии ($|\log_2 FC| \leq 1$ и $p \geq 0,05$); бирюзовым цветом выделены микроРНК, изменения экспрессии которых удовлетворяет условию $|\log_2 FC| > 1$; синим цветом выделены микроРНК, изменения экспрессии которых удовлетворяет условию $p < 0,05$; оранжевым цветом выделены микроРНК, изменения экспрессии которых удовлетворяет обоим условиям $|\log_2 FC| > 1$ и $p < 0,05$.

Fig. 1. A scatter plot showing blood plasma DE microRNAs in groups: A – glioblastomas; Б – astrocytomas, В – oligodendrogliomas, Г – meningiomas.

MicroRNAs with statistically insignificant expression changes ($|\log_2 FC| \leq 1$ and $p \geq 0.05$) are highlighted in purple; microRNAs with expression changes satisfying the condition $|\log_2 FC| > 1$ are highlighted in turquoise; microRNAs with expression changes satisfying the condition $p < 0.05$ are highlighted in blue; microRNAs with expression changes satisfying both $|\log_2 FC| > 1$ and $p < 0.05$ conditions are highlighted in orange.

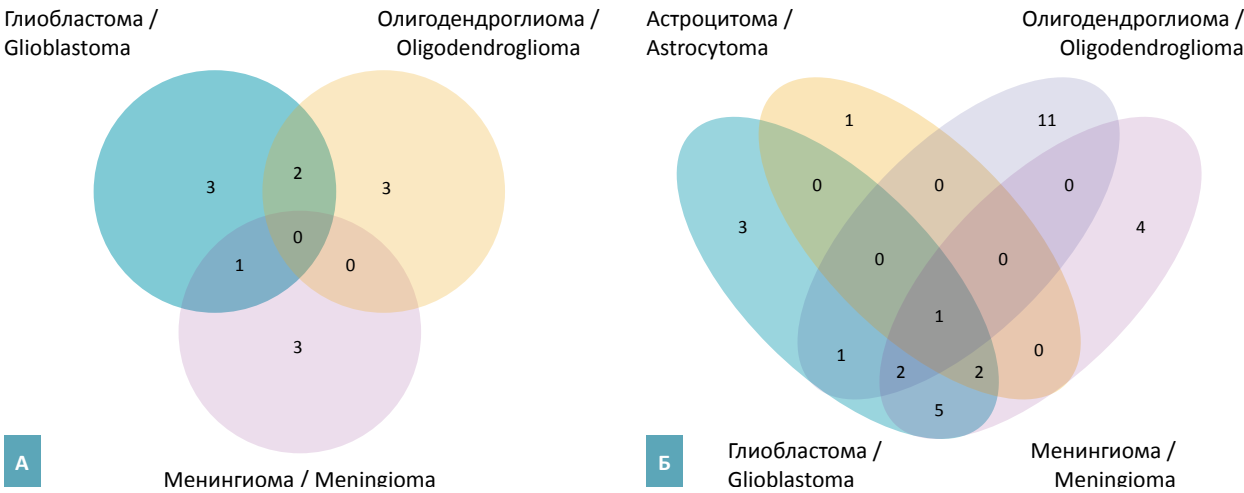


Рис. 2. Диаграммы Венна, демонстрирующие сходства и различия между исследуемыми группами в А) пулах микроРНК со сниженной экспрессией и Б) пулах микроРНК с повышенной экспрессией

Fig. 2. The Venn diagrams demonstrating similarities and differences between the study groups in A: pools of microRNAs with reduced expression and B: pools of microRNAs with increased expression.

Таблица 2. Дифференциально экспрессирующиеся микроРНК, специфичные для различных типов опухолей головного мозга			
Table 2. Differentially expressed microRNAs specific to different types of brain tumors			
Глиобластома / Glioblastoma	Астроцитомы / Astrocytoma	Олигодендроглиомы / Oligodendroglioma	Менингиомы / Meningioma
МикроРНК со сниженной экспрессией / microRNA of decreased expression			
hsa-miR-196a-5p		hsa-let-7b-5p	hsa-miR-1294
hsa-let-7f-5p		hsa-let-7i-5p	hsa-miR-143-3p
hsa-miR-483-3p		hsa-miR-199a-3p	hsa-miR-432-5p
МикроРНК с повышенной экспрессией / microRNA of increased expression			
hsa-miR-197-3p	hsa-miR-24-3p	hsa-let-7c-5p	hsa-miR-17-5p
hsa-miR-576-5p		hsa-miR-122-5p	hsa-miR-186-5p
hsa-miR-942-5p		hsa-miR-148a-3p	hsa-miR-320b
		hsa-miR-193a-5p	hsa-miR-126-5p
		hsa-miR-193b-5p	
		hsa-miR-27b-3p	
		hsa-miR-375-3p	
		hsa-miR-483-3p	
		hsa-miR-483-5p	
		hsa-miR-574-3p	
		hsa-miR-885-3p	

ние корреляции между пулами ДЭ микроРНК, идентифицированными в парных образцах плазмы и опухоли, которую мы наблюдали ранее [18].

Ряд ДЭ микроРНК, выделенных в настоящем исследовании, были валидированы в более ранних работах, включавших пациентов с глиобластомами: сверхэкспрессию hsa-miR-576–5p отмечали в сыворотке больных [19]; hsa-miR-193b–5p – в ликворе [20].

Нами отмечено разнонаправленное изменение в плазме уровня биомаркеров семейства hsa-miR-483: для глиобластом было характерно снижение уровня hsa-miR-483–3p, для олигодендроглиом – повышение уровня hsa-miR-483–3p и hsa-miR-483–5p (табл. 2). В недавней работе Lu S. и соавт. показано снижение экспрессии данного биомаркера в 40 тканевых образцах глиом (без уточнения степени злокачественности) и в опухолевых клеточных линиях. Кроме того, понижающаяся экспрессия hsa-miR-483 коррелировала со сверхэкспрессией предполагаемой мишени SOX3, а также была ассоциирована с общей выживаемостью пациентов [21].

Для некоторых некодирующих РНК довольно полно установлены биологические функции и показаны механизмы участия в онкогенезе. В этом отношении примечательно семейство микроРНК let-7 (miRNA), продемонстрировавшее изменение уровня в плазме больных с глиобластомой, олигодендроглиомой, но не в группе менингиом (табл. 2). Установлено, что члены семейства функционируют как сигнальные молекулы, индуцируя высвобождение микроглией воспалительных цитокинов, модулируя презентацию антигена и ослабляя TLR7-зависимую миграцию клеток [22]. На глиобластомах человека и мыши продемонстрировано значимое изменение уровня микроРНК семейства и торможение роста глиомы мыши GL261 через регуляцию TLR7 [22]. На примере плоскоклеточного рака полости рта с помощью биоинформационного анализа и в эксперименте было показана онкосупрессивная роль hsa-miR-196a [23], для которой выявлено снижение уровня в плазме при глиобластомах (табл. 2). Комплексное исследование подтвердило, что hsa-miR-196a через мишень

аннексин-A1 моделирует активность MAPK-сигналинга и регулирует клеточную миграцию, инвазию и образование колоний [23].

В работе Figueroa J. и соавт. была предложена диагностическая панель для глиом из девяти микроРНК (miR-21, miR-218, miR-193b, miR-331, miR374a, miR548c, miR520f, miR27b и miR-30b), которая проявляла ассоциацию с объемом опухоли и демонстрировала чувствительность 67 % и специфичность 80 % [24]. Отметим в нашем исследовании только одно совпадение с этой панелью для онкогенной miR-193b–5p, специфичной для профиля олигодендроглиом.

При разработке тестов на базе микроРНК предполагалось, что спинномозговая жидкость имеет лучшую диагностическую ценность (чувствительность – 84 % и специфичность – 92 %), чем их уровни в сыворотке [25]. Тем не менее, по мере накопления данных, полученных высокопроизводительными методами [6, 13], надежность и специфичность возможностей малоинвазивного тестирования плазмы могут быть повышены за счет идентификации более чувствительных маркеров и увеличения их количества.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Наши знания о генетических и эпигенетических нарушениях, возникающих при различных типах и степенях злокачественности глиомы, резко возросли за последние годы, и многие изменения (подтвержденные гистопатологическим анализом) теперь могут дополнить основные диагностические методы. Клиническая роль анализа циркулирующих микроРНК, вероятно, может также иметь значение в мониторинге рецидива глиом после лечения.

Полученные на данном этапе нашего исследования результаты представляются перспективными и задают вектор для дальнейшего расширения выборки и валидации полученных данных с целью определения диагностической ценности выбранных биомаркеров и разработки малоинвазивной диагностической тест-системы.

Список источников

1. Pellerino A, Caccese M, Padovan M, Cerretti G, Lombardi G. Epidemiology, risk factors, and prognostic factors of gliomas. Clin Transl Imaging. 2022;10:467–475. <https://doi.org/10.1007/s40336-022-00489-6>
2. Mathew EN, Berry BC, Yang HW, Carroll RS, Johnson MD. Delivering Therapeutics to Glioblastoma: Overcoming Biological Constraints. Int J Mol Sci. 2022 Feb 2;23(3):1711. <https://doi.org/10.3390/ijms23031711>
3. Fisher JP, Adamson DC. Current FDA-Approved Therapies for High-Grade Malignant Gliomas. Biomedicines. 2021 Mar 22;9(3):324. <https://doi.org/10.3390/biomedicines9030324>
4. Кузнецова Н. С., Гурова С. В., Гончарова А. С., Заикина Е. В., Гусарева М. А., Зинькович М. С. Современные подходы к терапии глиобластомы. Южно-Российский онкологический журнал. 2023;4(1):52–64. <https://doi.org/10.37748/2686-9039-2023-4-1-6> EDN: IICMMC

5. Gvaldin DY, Pushkin AA, Timoshkina NN, Rostorguev EE, Nalgiev AM, Kit OI. Integrative analysis of mRNA and miRNA sequencing data for gliomas of various grades. *Egyptian Journal of Medical Human Genetics*. 2020;21:73 <https://doi.org/10.1186/s43042-020-00119-8>
6. Пушкин А. А., Тимошкина Н. Н., Гвалдин Д. Ю., Дженкова Е. А. Анализ данных высокопроизводительного секвенирования и микрочипов для идентификации ключевых сигнатур микроРНК в глиобластоме. *Research and Practical Medicine Journal (Исследования и практика в медицине)*. 2021;8(3):21–33. <https://doi.org/10.17709/2410-1893-2021-8-3-2>
7. Sati ISE, Parhar I. MicroRNAs Regulate Cell Cycle and Cell Death Pathways in Glioblastoma. *Int J Mol Sci*. 2021 Dec 17;22(24):13550. <https://doi.org/10.3390/ijms222413550>
8. Mahinfar P, Mansoori B, Rostamzadeh D, Baradaran B, Cho WC, Mansoori B. The Role of microRNAs in Multidrug Resistance of Glioblastoma. *Cancers (Basel)*. 2022 Jun 30;14(13):3217. <https://doi.org/10.3390/cancers14133217>
9. Ahmed SP, Castresana JS, Shahi MH. Role of Circular RNA in Brain Tumor Development. *Cells*. 2022 Jul 6;11(14):2130. <https://doi.org/10.3390/cells11142130>
10. Пушкин А. А., Гвалдин Д. Ю., Тимошкина Н. Н., Росторгуйев Э. Е., Владимиров Л. Ю., Дженкова Е. А. Анализ данных высокопроизводительного секвенирования базы Gene Expression Omnibus для идентификации микроРНК в плазме крови пациентов с глиобластомой. *Research and Practical Medicine Journal (Исследования и практика в медицине)*. 2022;9(1):54–64. <https://doi.org/10.17709/2410-1893-2022-9-1-5>
11. Kit OI, Pushkin AA, Alliluyev IA, Timoshkina NN, Gvaldin DY, Rostorguev EE, Kuznetsova NS. Differential expression of microRNAs targeting genes associated with the development of high-grade gliomas. *Egyptian Journal of Medical Human Genetics*. 2022;23(31). <https://doi.org/10.1186/s43042-022-00245-5>
12. Valihrach L, Androvic P, Kubista M. Circulating miRNA analysis for cancer diagnostics and therapy. *Mol Aspects Med*. 2020 Apr;72:100825. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2019.10.002>
13. Пушкин А. А., Кит О. И., Росторгуйев Э. Е., Новикова И. А., Дженкова Е. А., Тимошкина Н. Н., и др. Способ малоинвазивной диагностики менингиом и опухолей глиального ряда с уточнением степени злокачественности. Патент на изобретение 2788814 C1, 24.01.2023.
14. Müller Bark J, Kulasinghe A, Chua B, Day BW, Punyadeera C. Circulating biomarkers in patients with glioblastoma. *Br J Cancer*. 2020 Feb;122(3):295–305. <https://doi.org/10.1038/s41416-019-0603-6>
15. Yi Z, Qu C, Zeng Y, Liu Z. Liquid biopsy: early and accurate diagnosis of brain tumor. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2022 Sep;148(9):2347–2373. <https://doi.org/10.1007/s00432-022-04011-3>
16. Caputo V, Ciardiello F, Corte CMD, Martini G, Troiani T, Napolitano S. Diagnostic value of liquid biopsy in the era of precision medicine: 10 years of clinical evidence in cancer. *Explor Target Antitumor Ther*. 2023;4(1):102–138. <https://doi.org/10.37349/etat.2023.00125>
17. Licursi V, Conte F, Fiscon G, Paci P. MIENTURNET: an interactive web tool for microRNA-target enrichment and network-based analysis. *BMC Bioinformatics*. 2019 Nov 4;20(1):545. <https://doi.org/10.1186/s12859-019-3105-x>
18. Пушкин А. А., Гвалдин Д. Ю., Петрусенко Н. А., Росторгуйев Э. Е., Кавицкий С. Э., Тимошкина Н. Н. Уровень опухолевых и внеклеточных микроРНК у пациентов с глиальными опухолями головного мозга. *Современные проблемы науки и образования*. 2023;5. <https://doi.org/10.17513/spno.32954>
19. Dong L, Li Y, Han C, Wang X, She L, Zhang H. miRNA microarray reveals specific expression in the peripheral blood of glioblastoma patients. *Int J Oncol*. 2014 Aug;45(2):746–756. <https://doi.org/10.3892/ijo.2014.2459>
20. Akers JC, Hua W, Li H, Ramakrishnan V, Yang Z, Quan K, et al. A cerebrospinal fluid microRNA signature as biomarker for glioblastoma. *Oncotarget*. 2017 Jun 1;8(40):68769–68779. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.18332>
21. Lu S, Yu Z, Zhang X, Sui L. MiR-483 Targeted SOX3 to Suppress Glioma Cell Migration, Invasion and Promote Cell Apoptosis. *Onco Targets Ther*. 2020 Mar 9;13:2153–2161. <https://doi.org/10.2147/ott.s240619>
22. Buonfiglioli A, Efe IE, Guneykaya D, Ivanov A, Huang Y, Orlowski E, et al. let-7 MicroRNAs Regulate Microglial Function and Suppress Glioma Growth through Toll-Like Receptor 7. *Cell Rep*. 2019 Dec 10;29(11):3460–3471.e7. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2019.11.029>
23. Duan ML, Du XM. The Crosstalk between MicroRNA-196a and Annexin-A1: A Potential Mechanism for Oral Squamous Cell Carcinoma Progression. *Indian J Pharm Sci*. 2022;84(5):144–151. <https://doi.org/10.36468/pharmaceutical-sciences.spl.581>
24. Akers JC, Hua W, Li H, Ramakrishnan V, Yang Z, Quan K, et al. A cerebrospinal fluid microRNA signature as biomarker for glioblastoma. *Oncotarget*. 2017 Jun 1;8(40):68769–68779. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.18332>
25. Gao F, Cui Y, Jiang H, Sui D, Wang Y, Jiang Z, et al. Circulating tumor cell is a common property of brain glioma and promotes the monitoring system. *Oncotarget*. 2016 Nov 1;7(44):71330–71340. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.11114>

References

1. Pellerino A, Caccese M, Padovan M, Cerretti G, Lombardi G. Epidemiology, risk factors, and prognostic factors of gliomas. *Clin Transl Imaging*. 2022;10:467–475. <https://doi.org/10.1007/s40336-022-00489-6>
2. Mathew EN, Berry BC, Yang HW, Carroll RS, Johnson MD. Delivering Therapeutics to Glioblastoma: Overcoming Biological Constraints. *Int J Mol Sci*. 2022 Feb 2;23(3):1711. <https://doi.org/10.3390/ijms23031711>
3. Fisher JP, Adamson DC. Current FDA-Approved Therapies for High-Grade Malignant Gliomas. *Biomedicines*. 2021 Mar 22;9(3):324. <https://doi.org/10.3390/biomedicines9030324>
4. Kuznetsova NS, Gurova SV, Goncharova AS, Zaikina EV, Gusareva MA, Zinkovich MS. Modern approaches to glioblastoma therapy. *South Russian Journal of Cancer*. <https://doi.org/10.37748/2686-9039-2023-4-1-6> EDN: IICMMC
5. Gvaldin DY, Pushkin AA, Timoshkina NN, Rostorguev EE, Nalgiev AM, Kit OI. Integrative analysis of mRNA and miRNA sequencing data for gliomas of various grades. *Egyptian Journal of Medical Human Genetics*. 2020;21:73 <https://doi.org/10.1186/s43042-020-00119-8>
6. Pushkin AA, Dzenkova EA, Timoshkina NN, Gvaldin DY. Data analysis of high-throughput sequencing and microarray to identify key signatures of microribonucleic acids in glioblastoma. *Research and Practical Medicine Journal*. 2021;8(3):21–33. (In Russ.). <https://doi.org/10.17709/2410-1893-2021-8-3-2>
7. Sati ISEE, Parhar I. MicroRNAs Regulate Cell Cycle and Cell Death Pathways in Glioblastoma. *Int J Mol Sci*. 2021 Dec 17;22(24):13550. <https://doi.org/10.3390/ijms222413550>
8. Mahinfar P, Mansoori B, Rostamzadeh D, Baradaran B, Cho WC, Mansoori B. The Role of microRNAs in Multidrug Resistance of Glioblastoma. *Cancers (Basel)*. 2022 Jun 30;14(13):3217. <https://doi.org/10.3390/cancers14133217>
9. Ahmed SP, Castresana JS, Shahi MH. Role of Circular RNA in Brain Tumor Development. *Cells*. 2022 Jul 6;11(14):2130. <https://doi.org/10.3390/cells11142130>
10. Pushkin AA, Gvaldin DY, Timoshkina NN, Rostorguev EE, Vladimirova LY, Dzenkova EA. Analysis of Gene Expression Omnibus high-throughput sequencing data for the determination of microribonucleic acids in the blood plasma of patients with glioblastomas. *Research and Practical Medicine Journal*. 2022;9(1):54–64. (In Russ.). <https://doi.org/10.17709/2410-1893-2022-9-1-5>
11. Kit OI, Pushkin AA, Alliluyev IA, Timoshkina NN, Gvaldin DY, Rostorguev EE, Kuznetsova NS. Differential expression of microRNAs targeting genes associated with the development of high-grade gliomas. *Egyptian Journal of Medical Human Genetics*. 2022;23(31). <https://doi.org/10.1186/s43042-022-00245-5>
12. Valihrach L, Androvic P, Kubista M. Circulating miRNA analysis for cancer diagnostics and therapy. *Mol Aspects Med*. 2020 Apr;72:100825. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2019.10.002>
13. Pushkin AA, Kit OI, Rostorguev EE, Novikova IA, Dzenkova EA, Timoshkina NN, et al. A method for minimally invasive diagnosis of meningiomas and glial tumors with clarification of the grade of malignancy. A patent for an invention 2788814 C1, 01.24.2023. (In Russ.).
14. Müller Bark J, Kulasinghe A, Chua B, Day BW, Punyadeera C. Circulating biomarkers in patients with glioblastoma. *Br J Cancer*. 2020 Feb;122(3):295–305. <https://doi.org/10.1038/s41416-019-0603-6>
15. Yi Z, Qu C, Zeng Y, Liu Z. Liquid biopsy: early and accurate diagnosis of brain tumor. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2022 Sep;148(9):2347–2373. <https://doi.org/10.1007/s00432-022-04011-3>
16. Caputo V, Ciardiello F, Corte CMD, Martini G, Troiani T, Napolitano S. Diagnostic value of liquid biopsy in the era of precision medicine: 10 years of clinical evidence in cancer. *Explor Target Antitumor Ther*. 2023;4(1):102–138. <https://doi.org/10.37349/etat.2023.00125>
17. Licursi V, Conte F, Fiscon G, Paci P. MIENTURNET: an interactive web tool for microRNA-target enrichment and network-based analysis. *BMC Bioinformatics*. 2019 Nov 4;20(1):545. <https://doi.org/10.1186/s12859-019-3105-x>
18. Pushkin AA, Gvaldin DY, Petrusenko NA, Rostorguev EE, Kavitskiy SE, Timoshkina NN. miRNA levels of tumours and plasma in glioma patients. *Modern Problems of Science and Education*. 2023;5. (In Russ.). <https://doi.org/10.17513/spno.32954>
19. Dong L, Li Y, Han C, Wang X, She L, Zhang H. miRNA microarray reveals specific expression in the peripheral blood of glioblastoma patients. *Int J Oncol*. 2014 Aug;45(2):746–756. <https://doi.org/10.3892/ijo.2014.2459>
20. Akers JC, Hua W, Li H, Ramakrishnan V, Yang Z, Quan K, et al. A cerebrospinal fluid microRNA signature as biomarker for glioblastoma. *Oncotarget*. 2017 Jun 1;8(40):68769–68779. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.18332>
21. Lu S, Yu Z, Zhang X, Sui L. MiR-483 Targeted SOX3 to Suppress Glioma Cell Migration, Invasion and Promote Cell Apoptosis. *Onco Targets Ther*. 2020 Mar 9;13:2153–2161. <https://doi.org/10.2147/ott.s240619>
22. Buonfiglioli A, Efe IE, Guneykaya D, Ivanov A, Huang Y, Orłowski E, et al. let-7 MicroRNAs Regulate Microglial Function and Suppress Glioma Growth through Toll-Like Receptor 7. *Cell Rep*. 2019 Dec 10;29(11):3460–3471.e7. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2019.11.029>
23. Duan ML, Du XM. The Crosstalk between MicroRNA-196a and Annexin-A1: A Potential Mechanism for Oral Squamous Cell Carcinoma Progression. *Indian J Pharm Sci*. 2022;84(5):144–151 <https://doi.org/10.36468/pharmaceutical-sciences.spl.581>

24. Akers JC, Hua W, Li H, Ramakrishnan V, Yang Z, Quan K, et al. A cerebrospinal fluid microRNA signature as biomarker for glioblastoma. *Oncotarget*. 2017 Jun 1;8(40):68769–68779. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.18332>
25. Gao F, Cui Y, Jiang H, Sui D, Wang Y, Jiang Z, et al. Circulating tumor cell is a common property of brain glioma and promotes the monitoring system. *Oncotarget*. 2016 Nov 1;7(44):71330–71340. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.11114>

Информация об авторах:

Гвалдин Дмитрий Юрьевич – к.б.н., научный сотрудник лаборатории молекулярной онкологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8633-2660>, SPIN: 8426-9283, AuthorID: 1010353, Scopus Author ID: 57215777880, ResearcherID: AAA-9894-2020

Петрусенко Наталья Александровна ✉ – младший научный сотрудник лаборатории молекулярной онкологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7919-6111>, SPIN: 5577-3805, AuthorID: 960639, Scopus Author ID: 57216917933, ResearcherID: AGE-9461-2022

Росторгуев Эдуард Евгеньевич – д.м.н., врач-нейрохирург отделения нейроонкологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2937-0470>, SPIN: 8487-9157, AuthorID: 794808, Scopus Author ID: 57196005138, ResearcherID: AAK-6852-2020

Димитриади Сергей Николаевич – д.м.н., старший научный сотрудник отделения онкоурологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2565-1518>, SPIN: 8337-8141, AuthorID: 692389, Scopus Author ID: 57076760200

Кавицкий Сергей Эммануилович – врач-нейрохирург консультативно-диагностического отделения ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6924-8974>, SPIN: 6437-0420, AuthorID: 734582

Тимошкина Наталья Николаевна – к.б.н., заведующая лабораторией молекулярной онкологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6358-7361>, SPIN: 9483-4330, AuthorID: 633651, Scopus Author ID: 24077206000, ResearcherID: D-3876-2018

Information about authors:

Dmitry Yu. Gvaldin – Cand. Sci. (Biology), Researcher at the Laboratory of Molecular Oncology, National Medical Research Centre for Oncology, Rostov-on-Don, Russian Federation
ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-8633-2660>, SPIN: 8426-9283, AuthorID: 1010353, Scopus Author ID: 57215777880, ResearcherID: AAA-9894-2020

Natalia A. Petrusenko ✉ – Junior Research Associate at the Laboratory of Molecular Oncology, National Medical Research Centre for Oncology, Rostov-on-Don, Russian Federation
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7919-6111>, SPIN: 5577-3805, AuthorID: 960639, Scopus Author ID: 57216917933, ResearcherID: AGE-9461-2022

Eduard E. Rostorguev – Dr. Sci. (Medicine), neurosurgeon, Department of Neuro-Oncology, National Medical Research Centre for Oncology, Rostov-on-Don, Russian Federation
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2937-0470>, SPIN: 8487-9157, AuthorID: 794808, Scopus Author ID: 57196005138, ResearcherID: AAK-6852-2020

Sergey N. Dimitriadis – Dr. Sci. (Medicine), Senior Researcher, Department of Oncourology, National Medical Research Centre for Oncology, Rostov-on-Don, Russian Federation
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2565-1518>, SPIN: 8337-8141, AuthorID: 692389, Scopus Author ID: 57076760200

Sergey E. Kavitskiy – neurosurgeon, consultative and diagnostic department, National Medical Research Centre for Oncology, Rostov-on-Don, Russian Federation
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6924-8974>, SPIN: 6437-0420, AuthorID: 734582

Natalia N. Timoshkina – Cand. Sci. (Biology), Head of the Laboratory of Molecular Oncology, National Medical Research Centre for Oncology, Rostov-on-Don, Russian Federation
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6358-7361>, SPIN: 9483-4330, AuthorID: 633651, Scopus Author ID: 24077206000, ResearcherID: D-3876-2018

Участие авторов:

Гвалдин Д. Ю. – концепция и дизайн исследования, проведение генетического исследования, статистическая обработка данных, написание текста;
Петрусенко Н. А. – сбор и анализ данных, проведение генетического исследования;
Росторгуев Э. Е. – сбор клинической информации, ведение пациентов;
Димитриади С. Н. – научное редактирование;
Кавицкий С. Э. – сбор биологического материала и клинической информации, ведение пациентов;
Тимошкина Н. Н. – научное редактирование, написание текста статьи.
Все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку статьи и утвердили окончательный вариант, одобренный к публикации.

Contribution of the authors:

Gvaldin D. Yu. – development of research concept and design, genetic research, carrying out statistical data processing, text writing;
Petrusenko N. A. – carrying out data collection and analysis, performing genetic research;
Rostorguev E. E. – carrying out collection of clinical information, patient management;
Dimitriadis S. N. – carrying out scientific editing;
Kavitskiy S. E. – collection of biological material and clinical information, patient management;
Timoshkina N. N. – performing scientific editing, writing the text of the article.
All authors made equivalent contributions to the preparation of the article and approved the final version for publication.