

Дослідження асоціації поліморфного локусу rs4977574 гена довгої некодуючої РНК *ANRIL* із розвитком раку сечового міхура

А.Д. Волкогон, О.А. Обухова, В.Ю. Гарбузова, О.В. Атаман

Сумський державний університет; e-mail: volkogon_andrei@ukr.net

У роботі наведені результати визначення поліморфізму rs4977574 гена довгої некодуючої РНК ANRIL у 141 хворого із перехідноклітинним раком сечового міхура (ПКРСМ) та 100 осіб без онкопатологій в анамнезі (контрольна група). Генотипування виконано за допомогою методу полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) у режимі реального часу. Встановлено, що у загальній групі частота генотипів за rs4977574-локусом гена ANRIL достовірно не відрізнялася між хворими із ПКРСМ та особами контрольної групи. Стратифікований аналіз показав, що значуща різниця у розподілі генотипів також не спостерігалась окремо у жінок, у чоловіків, в осіб, які не курять та у курців. За результати бінарної логістичної регресії продемонстровано, що у загальній групі асоціація rs4977574-сайту із ризиком ПКРСМ була відсутньою. В умовах поправки на стать, вік, індекс маси тіла та звичку курити також не виявлено достовірного зв'язку. Схожі результати були отримані і під час аналізу окремо в осіб різної статі та пацієнтів зі звичкою курити і без такої. Отже, в українській популяції не виявлено зв'язку rs4977574-поліморфного сайту гена ANRIL із ризиком розвитку ПКРСМ.

Ключові слова: довга некодуюча РНК; ANRIL; однонуклеотидний поліморфізм; рак сечового міхура.

ВСТУП

За даними GLOBOCAN (Global cancer statistics) рак сечового міхура (PCM) посідає 12-те місце у переліку найпоширеніших форм злоякісних пухлин в усьому світі, спричинюючи щорічно 549000 нових випадків захворювання та 200000 смертей [1]. Тому перед сучасною медико-біологічною наукою стоїть суттєва задача розкриття конкретних молекулярних механізмів розвитку PCM та виявлення нових біомаркерів та терапевтичних мішеней для успішного клінічного ведення хворих.

Результати досліджень останніх років показали, що довгі некодуючі РНК (long non-coding RNA, lncRNAs) відіграють важливу роль у виникненні та прогресуванні злоякісних пухлин сечостатевої системи, зокрема і PCM [2]. lncRNAs являють собою транскрипти довжиною понад 200 нуклеотидів, які

не кодують амінокислотну структуру білків, виконуючи при цьому широкий спектр біологічних регуляторних функцій. Нині в контексті участі в канцерогенезі активно вивчається lncRNA ANRIL (Antisense Non-coding RNA in the INK4 Locus, також відома як CDKN2B-AS1) – довга некодуюча РНК довжиною у 3834 нуклеотиди, що транскрибується з антисенсового ланцюга генного кластеру INK4b-ARF-INK4a [3]. У генах цього кластеру закодована структура трьох білкових супресорів пухлин: p14ARF, p15INK4b і p16INK4a, які мають велике значення у затримці клітинного циклу [4]. Основною функцією ANRIL вважається епігенетична інактивація генів кластеру INK4b-ARF-INK4a через взаємодію із білками інгібіторного комплексу-1 (PRC1) та -2 (PRC2) [3].

Підвищена експресія ANRIL є фактором ризику злоякісних пухлин різної локалізації,

© А.Д. Волкогон, О.А. Обухова, В.Ю. Гарбузова, О.В. Атаман

включно з гепатоцелюлярною карциномою [5], раком легень [6], раком шлунка [7] та раком молочної залози [8]. Крім цього, нещодавно було показано, що у клітинах РСМ також спостерігається значне підвищення активності транскрипції ANRIL, яка в свою чергу посилює проліферацію та пригнічує апоптоз пухлинних клітин [9].

Відомо, що структура та функція як білок-кодуючих, так і некодуючих РНК залежить від структури їх власних генів. Ген *ANRIL* (офіційна назва – CDKN2B-AS1; Gene ID: 100048912) складається із 126307 пар нуклеотидів (NC_000009.12) та містить 32759 поліморфних сайтів (за даними NCBI: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/?term=CDKN2B-AS1>). Для деяких із них був доведений зв'язок із розвитком різних злоякісних пухлин [10–13], зокрема і пухлин сечостатевої системи [14]. При цьому роботи щодо пошуку асоціації генетичного поліморфізму *ANRIL* із ризиком настання РСМ відсутні.

Водночас уже опубліковано дані дослідження зв'язку генетичного поліморфізму інших lncRNAs із ризиком виникнення та характером прогресії РСМ. Враховуючи те, що приблизно 90% від усіх випадків РСМ становить перехідноклітинний рак сечового міхура (ПКРСМ) [15], здебільшого такий пошук виконують саме для цього виду пухлин. Так, нещодавно було показано, що носії мінорного G-алеля за поліморфним сайтом rs4759314 гена lncRNAs *HOTAIR* мають вищий ризик настання ПКРСМ та менший показник виживаності, ніж гомозиготи за основним A-алелем [16]. Разом із цим Yang та співавт. [17] встановили, що мінорні алелі за локусами rs217727 і rs2107425 гена lncRNAs H19 пов'язані із підвищеним ризиком інвазії пухлини в м'язовий шар у пацієнтів із ПКРСМ.

Одним із найбільш вивчених поліморфних сайтів гена lncRNAs *ANRIL* є rs4977574, що має високу частоту мінорного алеля в різних популяціях [14, 18–21]. Кілька широкогеномні аналізи (GWAS) показали, що поліморфізм rs4977574 гена *ANRIL* пов'язаний із високим

ризиком розвитку ішемічної хвороби серця (ІХС) та інфаркту міокарда у різних етнічних груп [18, 22]. Мета-аналіз 23 досліджень виявив міцну асоціацію rs4977574-сайту із настанням ІХС [23], а Taheri та співавт. [14] встановили зв'язок цього локусу із ризиком виникнення раку простати. Таким чином, rs4977574-поліморфізм має велику клінічну значимість, проте його роль у виникненні та прогресуванні РСМ лишається невідомою.

Метою нашої роботи був пошук можливої асоціації rs4977574-локусу гена lncRNAs *ANRIL* із розвитком ПКРСМ у представників української популяції.

МЕТОДИКА

Використовували цільну венозну кров 141 хворого із перехідноклітинним раком сечового міхура (ПКРСМ) та 100 осіб без онкопатологій в анамнезі. Усі пацієнти із ПКРСМ знаходились на лікуванні та/або спостереженні у Сумському обласному клінічному онкологічному диспансері з 2005 по 2016 р. Кінцевий морфологічний діагноз ПКРСМ верифікували відповідно до рекомендацій Європейської асоціації урологів (European Association of Urology Guidelines). Усі хворі мали II клінічну стадію раку відповідно до TNM-класифікації злоякісних пухлин, яку встановлювали за результатами гістології або МРТ. Осіб із наявністю пухлин іншої локалізації, спадковими патологіями та хворобами нез'ясованої етіології виключали із дослідної групи.

Протокол дослідження затверджений етичним комітетом Медичного інституту Сумського державного університету (№3/05.12.11), відповідає Наказу МОЗ України №690 від 23.09.2009 р. та Гельсінській декларації Всесвітньої медичної асоціації про етичні принципи проведення наукових медичних досліджень за участю людини. Всі учасники дослідження надали письмову інформовану згоду на забір крові та участь у генетичному аналізі.

Забір венозної крові здійснювали в стерильних умовах у моновети об'ємом 2,4 мл. Останні містили калієву сіль ЕДТА («Sargstedt», Німеччина) як антикоагулянт. ДНК із лейкоцитів крові виділяли за допомогою наборів GeneJET Whole Blood Genomic DNA Purification Mini Kit («Thermo Fisher Scientific», США).

Генотипування за поліморфним локусом rs4977574 гена *ANRIL* проводили за допомогою методу полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) у режимі реального часу і TaqMan assays (TaqMan® SNP Assay C_31720978_30) на приладі Quant Studio 5 DX Real-Time («Applied Biosystems», США) із застосуванням набору для PCR Real-Time («Thermo Fisher Scientific», США). Ампліфікація складалась із початкової денатурації при 95°C протягом 10 хв із подальшими 45 циклами при 95°C протягом 15 с і 60°C упродовж 30 с. Отримані криві аналізували за допомогою програмного забезпечення, прикладеного до Quant Studio 5 DX Real-Time.

Статистичне опрацювання результатів виконували за допомогою пакету програм SPSS (версія 17.0). Категоріальні змінні наведені у вигляді абсолютних та відсоткових значень; кількісні результати представлені у вигляді $M \pm s.d.$ (нормальність розподілу підтверджували за допомогою тесту Шапіро–Уїлка). Порівняння показників середніх значень між двома групами проводили за допомогою критерію t Стьюдента. Відповідність розподілу генотипів за rs4977574-локусом рівновазі Харді-Вайнберга та аналіз

розподілу rs4977574-генотипів між групами порівняння здійснювали за допомогою χ^2 -критерію Пірсона. Для визначення ризику настання ПКРСМ залежно від конкретного rs4977574-генотипу за допомогою бінарної логістичної регресії розраховували відношення шансів (OR) та 95%-й довірчий інтервал (CI) у рамках трьох моделей успадкування: домінантної (AG+GG vs AA), рецесивної (GG vs AA+AG) та супердомінантної (AG vs AA+GG). Щоб проаналізувати зв'язок rs4977574-локусу із ризиком настання ПКРСМ в умовах поправки на стать, вік, індекс маси тіла (ІМТ) пацієнтів і наявність у них звички курити застосовували мультиваріабельну логістичну регресію. Усі тести були двобічними. Значення $P < 0,05$ вважали вірогідними.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У табл. 1 наведено клінічну характеристику осіб груп порівняння. Виявлено, що вік у представників контрольної групи був значно вищим, ніж у хворих із ПКРСМ ($P < 0,001$). Така обставина зумовлює високу надійність контролю, оскільки значно зменшується ймовірність настання онкологічних захворювань в осіб цієї групи у наступних періодах їх життя. Разом із тим у дослідній групі було значно більше чоловіків ($P = 0,009$) та осіб зі звичкою курити ($P < 0,001$). При цьому середнє значення ІМТ та частота осіб із надмірною масою достовірно не відрізнялися між групами

Таблиця 1. Характеристика осіб груп порівняння ($M \pm s.d.$)

Показник	Рак сечового міхура (n = 141)	Контрольна група (n = 100)	P
Вік, роки	67,6 ± 12,1	77,4 ± 8,5	< 0,001
Стать, жінки/чоловіки	27/114	34/66	0,009
Курці, n (%)	70 (49,6)	27 (27,0)	< 0,001
Індекс маси тіла, кг/м ²	26,9 ± 4,3	27,1 ± 4,3	0,749
Індекс маси тіла ≥ 25 кг/м ² , n (%)	91 (64,5)	70 (70,0)	0,375

Примітка: категоріальні змінні порівняні за допомогою χ^2 -тесту, кількісні змінні – за допомогою t -тесту.

порівняння ($P = 0,749$ і $P = 0,375$ відповідно).

Генотипування дало змогу встановити, з якою частотою зустрічаються різні генотипи (AA, GA, GG) за поліморфним локусом rs4977574 гена ANRIL в осіб груп порівняння. Виявлено, що в осіб контрольної групи розподіл rs4977574-генотипів (частота мінорного G-алеля – 0,460) не відхилявся від рівноваги Харді–Вайнберга ($P = 0,252$). У табл. 2 представлений розподіл генотипів за досліджуваним сайтом та порівняльний аналіз між дослідною та контрольною групами загалом та стратифікований за статтю і звичкою курити. Встановлено, що в загальній групі частота генотипів за rs4977574-локусом гена ANRIL не відрізнялася між особами контрольної групи та хворими із РСМ ($P = 0,809$). Відповідний аналіз окремо в осіб різної статі показав, що істотна різниця відсутня як у жінок ($P = 0,537$), так і в осіб чоловічої статі (0,994). Разом із цим розподіл rs4977574-генотипів між групами порівняння також не відрізнявся окремо в осіб, які не курять ($P = 0,452$) та у курців ($P = 0,435$).

Завершальним кроком у пошуку можливого зв'язку поліморфного варіанту rs4977574 гена ANRIL із ризиком розвитку ПКРСМ

став аналіз за допомогою логістичної регресії в рамках домінантної, рецесивної та наддомінантної моделей успадкування (табл. 3). Результати бінарної логістичної регресії показали, що в загальній групі асоціація різних генотипних варіантів за rs4977574-сайтом із ризиком настання ПКРСМ є відсутньою ($P_c > 0,05$). Мультиваріабельна логістична регресія (в умовах поправки на стать, вік, ІМТ та звичку курити) також не дала змоги виявити статистично значущого зв'язку ($P_n > 0,05$). Подібні результати були отримані окремо в осіб різної статі та осіб без та зі звичкою курити. Встановлено, що у жінок і чоловіків зв'язок різних rs4977574-варіантів із ризиком настання ПКРСМ був відсутнім як до поправки на коваріанти ($P_c > 0,05$), так і після врахування віку, ІМТ та звички курити ($P_n > 0,05$). Не виявлено асоціації rs4977574-локусу із ризиком розвитку ПКРСМ і окремо в курців та не курців за допомогою бінарної логістичної регресії ($P_c > 0,05$) та у разі поправки на стать, вік та ІМТ ($P_n > 0,05$).

Ген довгої некодуючої РНК ANRIL розташований на короткому плечі 9-ї хромосоми (9p21.3) в межах генного кластеру INK4b-

Таблиця 2. Частота генотипів за поліморфним сайтом rs4977574 гена ANRIL у групах обстежених

Група	Генотип			P
	AA (%)	AG (%)	GG (%)	
Загалом				
Контроль (n = 100)	32 (32,0)	44 (44,0)	24 (24,0)	0,809
Дослід (n = 141)	44 (31,2)	58 (41,1)	39 (27,7)	
Жінки				
Контроль (n = 34)	11 (32,4)	18 (52,9)	5 (14,7)	0,537
Дослід (n = 27)	7 (25,9)	13 (48,1)	7 (25,9)	
Чоловіки				
Контроль (n = 66)	21(31,8)	26 (39,4)	19 (28,8)	0,994
Дослід (n = 114)	37 (32,5)	45 (39,5)	32 (28,1)	
Не курці				
Контроль (n = 73)	25 (34,2)	36 (49,3)	12 (16,4)	0,452
Дослід (n = 71)	25 (35,2)	29 (40,8)	17 (23,9)	
Курці				
Контроль (n = 27)	7 (25,9)	8 (29,6)	12 (44,4)	0,435
Дослід (n = 70)	19 (27,1)	29 (41,4)	22 (31,4)	

ARF-INK4a. Нині показано міцну кореляцію генетичного поліморфізму *ANRIL* із розвитком злоякісних пухлин. Так, встановлено, що алель rs3731257-G підвищує ризик раку яєчників [10], алель rs1063192-C – ризик гліоми, алель rs1011970-T – ризик меланоми [11] і раку легень [12], а локус rs564398 [13] асоційований із виникненням лімфобластної лейкемії. Вважається, що вказані поліморфні сайти можуть впливати на експресію різних варіантів сплайсингу *ANRIL* і змінювати таким чином експресію генів локусу *INK4b-ARF-INK4a*.

Відомо, що поліморфний локус rs4977574 розташований в інтронній ділянці гена *ANRIL* (16-й інтрон, 103785-ме положення у гені). Функціональні дослідження щодо оцінки його ролі у розвитку різних патоло-

гічних фенотипових проявів наразі відсутні, проте біоінформативний аналіз дав змогу встановити, що поліморфізм rs4977574 може змінювати нуклеотидну послідовність сайтів зв'язування транскрипційного фактора *C-ets-1* та глюкокортикоїдного рецептора. Дані останніх років показали вагому роль вказаних білків у виникненні та прогресуванні РСМ [24]. Таким чином, можна припустити, що rs4977574-локус пов'язаний із розвитком онкологічних захворювань саме через зміну ступеня впливу наведених транскрипційних факторів на експресію *ANRIL*.

Результати генотипування, виконаного у нашому дослідженні, показали, що мінорний алель G за поліморфним локусом rs4977574 гена *ANRIL* серед осіб умовно здорового

Таблиця 3. Аналіз генотипної асоціації поліморфізму rs4977574 гена *ANRIL* із ризиком настання раку сечового міхура

Модель	P _c	OR _c (95% CI)	P _п	OR _п (95% CI)
Загалом				
AG+GG vs AA	0,896	1,037 (0,598-1,800)	0,251	0,693 (0,370-1,297)
GG vs AA+AG	0,524	1,211 (0,672-2,182)	0,709	0,880 (0,451-1,719)
AG vs AA+GG	0,657	0,889 (0,530-1,493)	0,443	0,794 (0,440-1,433)
Жінки				
AG+GG vs AA	0,585	1,366 (0,445-4,193)	0,787	0,841 (0,239-2,962)
GG vs AA+AG	0,279	2,030 (0,564-7,310)	0,374	2,078 (0,414-10,431)
AG vs AA+GG	0,710	0,825 (0,300-2,270)	0,361	0,568 (0,169-1,911)
Чоловіки				
AG+GG vs AA	0,930	0,971 (0,507-1,860)	0,250	0,653 (0,316-1,350)
GG vs AA+AG	0,918	0,965 (0,493-1,889)	0,434	0,741 (0,350-1,571)
AG vs AA+GG	0,992	1,003 (0,540-1,866)	0,686	0,868 (0,436-1,728)
Не курці				
AG+GG vs AA	0,903	0,958 (0,483-1,903)	0,321	0,678 (0,314-1,461)
GG vs AA+AG	0,264	1,600 (0,701-3,651)	0,628	1,248 (0,510-3,056)
AG vs AA+GG	0,308	0,710 (0,367-1,372)	0,185	0,610 (0,294-1,267)
Курці				
AG+GG vs AA	0,903	0,939 (0,342-2,577)	0,472	0,667 (0,221-2,011)
GG vs AA+AG	0,231	0,573 (0,230-1,425)	0,267	0,562 (0,203-1,555)
AG vs AA+GG	0,286	1,680 (0,648-4,357)	0,663	1,265 (0,439-3,647)

Примітки: 95% CI – довірчий інтервал; P_c – спостереже значення P (без поправки на коваріанти); OR_c – спостережене відношення шансів; P_п – значення P після поправки на стать, вік, індекс маси тіла та куріння; OR_п – відношення шансів після поправки на коваріанти.

контролю зустрічається з частотою 0,460, тоді як у групі хворих із ПКРСМ – 0,482. Слід зазначити, що частоти алелів за rs4977574-поліморфним сайтом мають деякі популяційні відмінності. Відповідно до результатів Taheri та співавт. [14] в іранській популяції G-алель виступає не мінорним, а основним. Так, його частота серед умовно здорових чоловіків становить 0,727, а серед хворих із раком простати – 0,606. При цьому у представників населення Китаю G-алель зустрічається із частотою 0,439 [18], а в турецькій популяції – 0,339 [19]. Стосовно країн Європи, то відомо, що у відносно здорових представників Швеції алель G має частоту 0,448 [20], а серед фінського населення – 0,355 [21]. Таким чином, частота G-алеля за локусом rs4977574 гена ANRIL у вітчизняній популяції відрізняється від такої в інших досліджених популяціях та етнічних групах, і нині найбільше збігається з популяцією Швеції.

Отримані нами результати під час порівняння осіб дослідної та контрольної груп показали відсутність зв'язку rs4977574-локусу гена ANRIL із ризиком виникнення ПКРСМ у загальній когорті. Це перша робота щодо вивчення ролі генетичного поліморфізму ANRIL у виникненні РСМ. При цьому існує лише одне повідомлення про дослідження ролі поліморфних локусів ANRIL у розвитку онкоурологічної патології. Показано, що сайти rs4977574, rs1333048 та rs10757278 гена ANRIL асоційовані із настанням раку простати та її доброякісної гіперплазії в іранських чоловіків [14]. Зокрема було встановлено, що алель rs4977574-G пов'язаний зі зменшенням ризику розвитку раку передміхурової залози.

Згідно з даними світової статистики, РСМ приблизно в 4 рази частіше зустрічається у чоловіків, ніж у жінок, із відповідними показниками захворюваності 9,6 та 2,4 на 100 000 осіб [1]. Подібну картину виявлено і в нашій дослідній групі, де серед хворих із ПКРСМ кількість осіб чоловічої статі була в 4,2 рази вищою, ніж у жінок. Враховуючи,

що стать є таким сильним фактором ризику РСМ ми вирішили провести аналіз зв'язку rs4977574-сайту гена ANRIL із розвитком ПКРСМ окремо в осіб різної статі. При цьому навіть у чоловіків асоціацію досліджуваного локусу із ПКРСМ не виявлено.

Головним фактором ризику розвитку РСМ нині вважають куріння [25]. У нашій дослідній групі також частка курців була на 22,6% вищою, ніж у контрольній групі. Це спонукало нас до окремого аналізу асоціації локусу rs4977574 із ризиком виникнення ПКРСМ у курців та осіб, які не мають цієї звички. Проте достовірного зв'язку rs4977574-поліморфізму гена ANRIL із досліджуваною патологією в обох групах не виявлено.

Таким чином, уперше вивчено частоту розподілу генотипів за rs4977574-поліморфним сайтом гена ANRIL у представників української популяції. При цьому не встановлено зв'язку цього локусу із ризиком розвитку ПКРСМ.

All authors of presented study confirm that the research and publication of data were not associated with any conflicts regarding commercial or financial relations, relations with organizations and/or individuals who may have been related to the study, and interrelations of coauthors of manuscript.

А. Д. Волкогон, А.А. Обухова, В. Ю. Гарбузова, А. В. Атаман

ИССЛЕДОВАНИЕ АССОЦИАЦИИ ПОЛИМОРФНОГО ЛОКУСА RS4977574 ГЕНА ДЛИННОЙ НЕКОДИРУЮЩЕЙ РНК ANRIL С РАЗВИТИЕМ РАКА МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ

В работе представлены результаты определения полиморфизма rs4977574 гена длинной некодирующей РНК ANRIL у 241 представителя украинской популяции: у 141 больного с переходноклеточным раком мочевого пузыря (ПКРМП) и 100 человек без онкопатологий в анамнезе (контрольная группа). Генотипирование выполнено с помощью метода полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени. Установлено, что в общей группе частота генотипов по rs4977574-

локусу гена *ANRIL* достоверно не отличалась между больными с ПКРМП и лицами контрольной группы. Стратифицированный анализ показал, что значительная разница в распределении генотипов также отсутствовала отдельно у женщин, у мужчин, у лиц, которые не курят и у курильщиков. Результаты бинарной логистической регрессии продемонстрировали, что в общей группе ассоциации rs4977574-сайта с риском ПКРМП не было. В условиях поправки на пол, возраст, индекс массы тела и привычку курить также не выявлено достоверной связи. Похожие результаты были получены и при анализе отдельно у лиц разного пола и у пациентов с привычкой курить и без таковой. Итак, в украинской популяции не выявлено связи rs4977574-полиморфного сайта гена *ANRIL* с риском развития ПКРМП.

Ключевые слова: длинная некодирующая РНК; ANRIL; однонуклеотидный полиморфизм; рак мочевого пузыря.

**A. D. Volkogon, O.A. Obukhova,
V. Yu. Harbuzova, A.V. Ataman**

ANALYSIS OF ASSOCIATION BETWEEN LONG NON-CODING RNA *ANRIL* GENE RS4977574 POLYMORPHISM AND BLADDER CANCER DEVELOPMENT

Herein the results of long non-coding RNA *ANRIL* gene rs4977574 polymorphism determination in 241 representatives of Ukrainian population: 141 patients with transitional cell carcinoma of urinary bladder (TCCUB) and 100 patients without oncological history (control group) have been submitted. Genotyping was performed using real-time polymerase chain reaction (Real-time PCR) method. The genotypes frequency of *ANRIL* gene rs4977574 locus in general group was not significantly different between control subjects and TCCUB patients. Stratified analysis revealed no significant difference between women, men, nonsmokers and smokers. The results of binary logistic regression showed no association between rs4977574 site and TCCUB risk in general group. Significant association was not found even after adjusting for gender, age, body mass index, and smoking habit. Analysis in male, female subjects, in individuals without and with smoking habit demonstrated similar results. Thus, no link between *ANRIL* gene rs4977574 polymorphism and TCCUB development in Ukrainian population was established.

Keywords: long non-coding RNA; ANRIL; single-nucleotide polymorphism; bladder cancer.

Sumy State University, Ukraine;
e-mail: volkogon_andrei@ukr.net

REFERENCES

1. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide

- for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin.* 2018;68(6):394-424.
2. Wang L, Fu D, Qiu Y, Xing X, Xu F, Han C et al. Genome-wide screening and identification of long noncoding RNAs and their interaction with protein coding RNAs in bladder urothelial cell carcinoma. *Cancer Lett.* 2014;349(1):77-86.
3. Congrains A, Kamide K, Ohishi M, Rakugi H. ANRIL: molecular mechanisms and implications in human health. *Int J Mol Sci.* 2013;14(1):1278-92.
4. Gil J, Peters G. Regulation of the INK4b-ARF-INK4a tumour suppressor locus: all for one or one for all. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2006;7(9):667-77.
5. Ma J, Li T, Han X, Yuan H. Knockdown of LncRNA ANRIL suppresses cell proliferation, metastasis, and invasion via regulating miR-122-5p expression in hepatocellular carcinoma. *J Cancer Res Clin Oncol.* 2018;144:205-14.
6. Lu Y, Zhou X, Xu L, Rong C, Shen C, Bian W. Long noncoding RNA ANRIL could be transactivated by c-Myc and promote tumor progression of non-small-cell lung cancer. *OncoTargets Ther.* 2016;9:3077-84.
7. Zhang E, Kong R, Yin DD, You L, Sun M, Han L, et al. Long noncoding RNA ANRIL indicates a poor prognosis of gastric cancer and promotes tumor growth by epigenetically silencing of miR-99a/miR-449a. *Oncotarget.* 2014;5(8):2276-92.
8. Meseure D, Vacher S, Alsibai KD, Nicolas A, Chemlali W, Caly M, et al. Expression of ANRIL-polycomb complexes-CDKN2A/B/ARF genes in breast tumors: identification of a two-gene (EZH2/CBX7) signature with independent prognostic value. *Mol Cancer Res.* 2016;14:623-33.
9. Zhu H, Li X, Song Y, Zhang P, Xiao Y, Xing Y. Long non-coding RNA ANRIL is up-regulated in bladder cancer and regulates bladder cancer cell proliferation and apoptosis through the intrinsic pathway. *Biochem Biophys Res Commun.* 2015;467(2):223-8.
10. Gayther S, Song H, Ramus S, Kjaer S, Whittmore A, Quaye L, et al. Tagging single nucleotide polymorphisms in cell cycle control genes and susceptibility to invasive epithelial ovarian cancer. *Cancer Res.* 2007;67(7):3027-35.
11. Yeh I, Bastian B. Genome-wide associations studies for melanoma and nevi. *Pigment Cell Melanoma Res.* 2009;22:527-8.
12. Gong WJ, Yin J, Li XP, Fang C, Xiao D, Zhang W, et al. Association of well-characterized lung cancer lncRNA polymorphisms with lung cancer susceptibility and platinum-based chemotherapy response. *Tumour Biol.* 2016;37(6):8349-58.
13. Iacobucci I, Sazzini M, Garagnani P, Ferrari A, Boattini A, Lonetti A, et al. A polymorphism in the chromosome 9p21 ANRIL locus is associated to Philadelphia positive acute lymphoblastic leukemia. *Leuk Res.* 2011;35(8):1052-9.
14. Taheri M, Pouresmaeili F, Omrani MD, Habibi M, Sarrafzadeh S, Noroozi R, et al. Association of ANRIL gene polymorphisms with prostate cancer and benign prostatic hyperplasia in an Iranian population. *Biomark*

- Med. 2017;11(5):413-22.
15. DeGeorge K, Holt H, Hodges S. Bladder cancer: Diagnosis and treatment. *Am Fam Physician*. 2017;96(8):507-14.
 16. Tung M, Wen Y, Wang S, Lin Y, Chow J, Yang S, et al. Impact of long non-coding RNA hotair genetic variants on the susceptibility and clinicopathologic characteristics of patients with urothelial cell carcinoma. *J Clin Med*. 2019;8(3):E282.
 17. Yang P, Hsieh M, Hung T, Wang S, Chen S, Lee M, et al. Effects of long noncoding RNA H19 polymorphisms on urothelial cell carcinoma development. *Int J Environ Res Publ Health*. 2019;16(8):E1322.
 18. Wang Y, Wang L, Liu X, Zhang Y, Yu L, Zhang F, et al. Genetic variants associated with myocardial infarction and the risk factors in Chinese population. *PloS One*. 2014;9:e86332.
 19. Sakalar C, Gurbuz E, Kalay N, Kaya M. Higher frequency of rs4977574 (the G Allele) on chromosome 9p21.3 in patients with myocardial infarction as revealed by PCR-RFLP analysis. *Tohoku J Exp Med*. 2013;230(3):171-6.
 20. Hindy G, Ericson U, Hamrefors V, Drake I, Wirfält E, Melander O, et al. The chromosome 9p21 variant interacts with vegetable and wine intake to influence the risk of cardiovascular disease: a population based cohort study. *BMC Med Genet*. 2014;15:1220.
 21. Kunnas T, Piesanen J, Nikkari S, et al. Association of a chromosome locus 9p21.3 CDKN2B-AS1 variant rs4977574 with hypertension: The TAMRISK study. *Genet Test Mol Biomarkers*. 2018;22(5):327-30.
 22. Schunkert H, König IR, Kathiresan S, Reilly MP, Assimes TL, Holm H, et al. Large-scale association analysis identifies 13 new susceptibility loci for coronary artery disease. *Nat Genet* 2011;43:333-8.
 23. Huang Y, Ye H, Hong Q, Xu X, Jiang D, Xu L, et al. Association of CDKN2BAS polymorphism rs4977574 with coronary heart disease: a case-control study and a meta-analysis. *Int J Mol Sci*. 2014;15:17478-92.
 24. Ide H, Inoue S, Miyamoto H. The role of glucocorticoid receptor signaling in bladder cancer progression. *Cancers (Basel)*. 2018;10(12):484.
 25. Rink M, Crivelli JJ, Shariat SF, Chun FK, Messing EM, Soloway MS. Smoking and bladder cancer: A systematic review of risk and outcomes. *Eur Urol Focus*. 2015;1(1):17-27.

*Матеріал надійшов
до редакції 01.10.2019*