

Н.Е. Щеглова, М.Н. Калинин

МИКРОРНК В СОВРЕМЕННОЙ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКЕ: ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

*Кафедра патологической физиологии
ФГБОУ ВО Тверской государственной медицинской университет Минздрава России*

В статье представлен обзор литературы о современных исследованиях различных комбинаций микроРНК в патогенезе сердечно-сосудистых заболеваний, опухолевых процессов, обменных нарушений. Изучение изменения панелей определенных микроРНК при различных патологических состояниях позволит в перспективе использовать их как специфические биомаркеры для ранней диагностики и лечения заболеваний человека.

Ключевые слова: микроРНК, биомаркеры, уровень экспрессии.

MICRORNA IN CONTEMPORARY LABORATORY DIAGNOSTICS: LITERATURE REVIEW

N.E. Shcheglova, M.N. Kalinkin

Tver State Medical University

The article presents a review of the literature on modern studies of various combinations of microRNAs in the pathogenesis of cardiovascular diseases, tumor processes and metabolic disorders. The study of changes of the sets of certain microRNAs under various pathological conditions will make it possible in the future to use them as specific biomarkers for early diagnosis and treatment of human diseases.

Key words: miRNA, biomarkers, the level of expression.

Многочисленные попытки изучить и доказать генетическую природу большинства заболеваний привели к открытию новых маркеров, в роли которых выступает класс так называемых малых рибонуклеиновых кислот (РНК) или микроРНК [1–3].

МикроРНК – класс некодирующих РНК, образуемых из более длинных РНК-предшественников, обычно имеющих длину 19–24 нуклеотида и специфическую шпильчатую структуру [4–5]. Это одноцепочечные молекулы, подавляющие экспрессию белок-кодирующих генов на посттранскрипционной стадии. Действие микроРНК опосредовано их неполной гибридизацией с 3'-нетранслируемой областью целевой матричной РНК (мРНК), имеющей комплементарные сайты [6].

Впервые микроРНК были охарактеризованы исследовательской группой V. Ambros из Гарвардского университета при изучении ретровирусов (1993) [7]. На сегодняшний день они обнаружены во всех многоклеточных организмах, включая растения, червей, насекомых и позвоночных, что свидетельствует о раннем эволюционном происхождении этого механизма регуляции генной экспрессии [5, 8].

В тканях человека обнаружено более 500 различных микроРНК [9]. Около половины из них кодируются последовательностями, локализованными в интронах белок-кодирующих генов, остальные – в межгенных участках и в некоторых других участках генома. Исследования опосредованной микроРНК-регуляции экспрессии генов на модельных животных и в культурах клеток человека показали, что эта регуляция играет ключевую роль в дифференцировке клеток и эмбриональном развитии [10].

В настоящее время обнаружено, что микроРНК регулируют экспрессию более чем 30% генов, кодирующих структуру белков человеческого организма [11]. Мишени большинства микроРНК не известны, предполагается их широкий диапазон – от одного до сотен генов-мишеней. При этом, как правило, для каждой микроРНК можно предсказать множество мишеней, и напротив, многие гены несут потенциальные сайты распознавания различных микроРНК [2]. С одной стороны, точковые мутации в генах микроРНК приводят к изменению экспрессии соответствующих им генов-мишеней и тем самым вызывают патологические изменения. С другой стороны, мутационные изменения в них могут приводить к возникновению модифицированных микроРНК, соединяющихся с другими несвойственными мРНК-мишенями [12].

В свою очередь микроРНК способны регулировать экспрессию генов на уровне как транскрипции (изменяя структуру хроматина), так и трансляции (связываясь с мРНК-мишенью). При полной комплементарности микроРНК и мРНК последняя деградирует. Однако чаще всего наблюдается неполная комплементарность, в этом случае микроРНК подавляют трансляцию, связываясь, как правило, с 3'-нетранслируемыми регионами (UTR) мРНК. Кроме того, микроРНК могут связываться и с другими участками мРНК-мишеней, в том числе с 5'-UTR или экзонами [13–14]. Однако в последнее время появились свидетельства, что микроРНК могут активировать трансляцию при аресте клеточного цикла. Известно также, что микроРНК могут взаимодействовать с белками-репрессорами, бло-

кирующими трансляцию мРНК, и модулировать их влияние [15].

МикроРНК могут высвобождаться из клеток и выявляться в сыворотке крови в любой из трех стабильных форм:

- внеклеточные микроРНК из поврежденных тканей;
- циркулирующие микроРНК, заключенные в микровезикулы;
- микроРНК в комплексе с мРНК-связывающим белком (липопротеины высокой плотности и др.) [14].

Регуляция экспрессии генов посредством микроРНК отличается высокой скоростью распознавания, обратимостью и возможностью локально изменять уровень мРНК-мишеней и белков в отдельных компартментах клетки в отличие от регуляции, осуществляемой факторами транскрипции [2, 16].

С момента открытия влияния микроРНК на биологические процессы предполагается, что мутации, поражающие микроРНК, могут играть патогенетическую роль в болезнях человека [2, 8, 17].

В 2006 г. появились первые работы, указывающие на потенциальную возможность использования в качестве перспективных биомаркеров молекул микроРНК [15].

Им присущи следующие характеристики идеального биомаркера:

- высокая стабильность в биологических жидкостях (в том числе в плазме и сыворотке крови);
- устойчивость к внешним воздействиям, что позволяет эффективно выделять циркулирующие микроРНК из биологических жидкостей;
- сопоставимость профилей микроРНК в норме у мужчин и женщин, а также у лиц разного возраста.

Существуют и недостатки микроРНК как биомаркеров, основным из которых считается высокая вариабельность уровня их экспрессии в зависимости от множества факторов [18].

В настоящее время установлена роль микроРНК в процессах гемопоэза, регуляции секреции инсулина, функционирования нервной системы, регуляции циркадных ритмов, онкогенезе, в пролиферации и дифференцировки миоцитов, а также, возможно, и в клеточном ответе на вирусные инфекции. Так, например, повышение экспрессии микроРНК-208 в биоптате эндокарда связано с неблагоприятными исходами у пациентов с дилатационной кардиомиопатией [5]. Исследованиями доказано, что изменение экспрессии специфических микроРНК связано с широким диапазоном болезней человека, включая сахарный диабет, сердечно-сосудистую патологию, опухолевый рост, аутоиммунные заболевания [1, 10].

В последнее время стали появляться данные о различных биологических эффектах микроРНК в отношении компонентов сердечно-сосудистой системы. МикроРНК присутствуют в периферических мононуклеарах у пациентов с сердечной недостаточностью [1]. Было показано, что микроРНК

могут вызывать индукцию или, наоборот, подавлять гипертрофию миокарда (например, miR-21, miR-133, miR-195) [10]. Установлено, что у пациентов с ишемическим повреждением миокарда по сравнению со здоровыми людьми наблюдается значительное повышение уровня циркулирующих miR-1, miR-208a, miR-208b, miR-499, а уровень экспрессии miR-195 повышается в ответ на стресс, что может вызвать гипертрофию сердца и сердечную недостаточность [14, 19]. Также доказана роль микроРНК в регуляции процессов ангиогенеза, индукции и редукции фиброза миокарда [20–23]. Ряд исследований показали высокий уровень экспрессии miR-24, miR-100, miR-125b, miR-195, miR-199a, miR-214 и низкий уровень экспрессии miR-18, семейств miR-19 и miR-133 при различных заболеваниях, таких как идиопатическая дилатационная кардиомиопатия, ишемическая кардиомиопатия, исходом которых является сердечная недостаточность [18].

По данным некоторых авторов, miR-126 регулирует экспрессию васкулоэндотелиального фактора роста (VEGF) и фактора роста фибробластов (FGF), которые являются индукторами ангиогенеза. Как известно, экспрессия VEGF и FGF играет определяющую роль в развитии коллатеральных сосудов при ишемии миокарда. Ингибирование miR-126 повышает адгезию лейкоцитов к стимулированным эндотелиальным клеткам фактором некроза опухоли- α (ФНО- α) [24–25]. Также описана роль miR-221 в подавлении пролиферации эндотелиальных клеток и процессах ангиогенеза. Уровень данной микроРНК повышается в интиме после повреждения стенки сосуда, поэтому может быть одним из регуляторов и маркеров пролиферативного и сократительного фенотипов гладкомышечных клеток [19, 26, 27].

Большое количество исследований посвящено изучению роли микроРНК в патогенезе атеросклероза. В подавляющем большинстве исследований в клетках нестабильных атеросклеротических бляшек наблюдалась гиперэкспрессия miR-100, miR-127, miR-133a, miR-133b, miR-145 и miR-494, тогда как для стабильных атеросклеротических бляшек характерен более высокий уровень экспрессии miR-21, miR-143 и miR-221 [13]. В то же время уровень экспрессии проангиогенных miR-126 и антиангиогенных miR-221, miR-222 у больных гипертонической болезнью и постинфарктным кардиосклерозом статистически значимо превышал аналогичные показатели здоровых людей. При этом изменение уровня экспрессии miR-155 не удалось ассоциировать с данными заболеваниями [28].

Установлено, что микроРНК могут активировать или подавить опухолевый рост в человеческом организме [6]. Исследования последних лет показали, что существует уникальный профиль экспрессии микроРНК в различных опухолевых тканях на разных стадиях развития [8, 26, 29, 30]. Существующие сегодня экспериментальные данные свидетельствуют, что для разных типов злокачественных опухолей вы-

явлены микроРНК и панели микроРНК, обладающие высокой диагностической чувствительностью и специфичностью [15, 31, 32]. Много работ посвящено изучению панелей микроРНК у пациентов, страдающих раком легких. Так, например, совокупность микроРНК, таких как miR-141, miR-193b, miR-200 и miR-301, позволяет с высокой точностью отличить больных немелкоклеточным раком легкого I стадии и больных с разными стадиями этого заболевания от здорового контроля. Определение набора из трех микроРНК (miR-21, miR-31, miR-210) позволяет разделить пациентов с доброкачественным солитарным легочным узлом и пациентов со злокачественной опухолью [15].

В работе M. Chan et al. было проведено исследование панели микроРНК (miR-1, miR-92a, miR-133a, miR-133b) как потенциальных биомаркеров рака молочной железы [32]. При наличии желудка было показано, что уровень микроРНК miR-378 в сыворотке больных как на ранних, так и на поздних стадиях заболевания значимо превышает ее уровень в сыворотке здоровых людей [15].

Заключение

Подводя итоги обзора литературы, следует подчеркнуть, что при развитии патологических состояний, как правило, изменяется уровень экспрессии не исключительно одной, а множества микроРНК. В силу данного положения регистрация изменения количества нескольких ключевых микроРНК, несомненно, может быть использована для понимания не только патофизиологических основ развития конкретного заболевания, но и поиска молекулярно-генетических подходов к его ранней диагностике и лечению.

Литература/References

1. MicroRNA signatures in total peripheral blood as novel biomarkers for acute myocardial infarction / B. Meder, A. Keller, B. Vogel [et al.]. – Text: visual // Basic Res. in Cardiol. – 2011. – Vol. 106. – № 1. – P. 13–23.
2. Meola, N. MicroRNAs and genetic diseases / N. Meola, V.A. Gennarino, S. Banfi. – Text: visual // PathoGenetics. – 2009. – Vol. 2 (7). – doi:10.1186/1755-8417-2-7.
3. Application of miRNA Technology for Atherosclerosis / H. Toba, M.L. Lindsey, R.J. Chilton [et al.]. – Text: visual // Curr Atheroscler Rep. – 2014. – Vol. 16 (2). – doi:10.1007/s11883-013-0386-9.
4. Role of microRNAs in atherosclerosis and restenosis / L. Chen, S.H. Lim, Y. Yeh [et al.]. – Text: visual // Journal of Biomedical Science. – 2012. – Vol. 19 (79). – doi: 10.1186/1423-0127-19-79.
5. Shah, A.A. Profiling of regulatory microRNA transcriptomes in various biological processes: a review / A.A. Shah, E. Meese, N. Blin. – Text: visual // J. Appl. Genet. – 2010. – Vol. 51. – № 4. – P. 501–507.
6. Mishra, P.J. MicroRNA polymorphisms: the future of pharmacogenomics, molecular epidemiology and individualized medicine / P.J. Mishra, J.R. Bertino. – Text: visual // Pharmacogenomics. – 2009. – Vol. 10. – № 3. – P. 399–416.
7. Ambros, V. MicroRNAs: Tiny Regulators with Great Potential / V. Ambros. – Text: visual // Cell. – 2001. – Vol. 107. – № 7. – P. 823–826.

8. MiRNA: Small molecules as potential novel biomarkers in cancer / A.A. Shah, P. Leidinger, N. Blin [et al.]. – Text: visual // Current Medicinal Chemistry. – 2010. – Vol. 17. – P. 4427–4432.

9. A dictionary on microRNAs and their putative target pathways / C. Backes, E. Meese, H. Lenhof [et al.]. – Text: visual // Nucleic Acids Research. – 2010. – Vol. 38. – № 13. – P. 4476–4486.

10. МикроРНК человека в норме и патологии / Е.И. Рогов, С.А. Боринская, Д.В. Исламгулов [и др.]. – Текст: непосредственный // Молекулярная биология. – 2008. – Т. 42. – № 5. – С. 751–764.

10. MikroRNK cheloveka v norme i patologii / E.I. Rogayev, S.A. Borinskaja, D.V. Islamgulov [i dr.]. – Tekst: neposredstvennyj // Molekuljarnaja biologija. – 2008. – T. 42. – № 5. – S. 751–764.

11. Kukreja, R.C. MicroRNAs: New Players in Cardiac Injury and Protection / R.C. Kukreja, C. Yin, F.N. Salloom. – Text: visual // Molecular Pharmacology. – 2011. – Vol. 80. – P. 558–564.

12. Grundtman, C. The autoimmune concept of atherosclerosis / C. Grundtman, G. Wick. – Text: visual // Curr. Opin. Lipidol. – 2011. – Vol. 22. – № 5. – P. 327–334.

13. Королева, Ю.А. Роль микроРНК в формировании нестабильности атеросклеротических бляшек / Ю.А. Королева, М.С. Назаренко, А.Н. Кучер. – Текст: непосредственный // Биохимия. – 2018. – Т. 83. – № 1. – С. 34–46.

13. Koroleva, Ju.A. Rol mikroRNK v formirovanii nestabil'nosti ateroskleroticheskikh bljashek / Ju.A. Koroleva, M.S. Nazarenko, A.N. Kucher. – Tekst: neposredstvennyj // Biohimija. – 2018. – T. 83. – № 1. – S. 34–46.

14. Кучер, А.Н. Роль микро-РНК, генов их биогенеза и функционирования в развитии патологических состояний у человека / А.Н. Кучер, Н.П. Бабушкина. – Текст: непосредственный // Медицинская генетика. – 2011. – № 1. – С. 3–13.

14. Kucher, A.N. Rol mikro-RNK, genov ih biogeneza i funkcionirovanija v razvitii patologicheskikh sostojanij u cheloveka / A.N. Kucher, N.P. Babushkina. – Tekst: neposredstvennyj // Medicinskaja genetika. – 2011. – № 1. – S. 3–13.

15. Киселева, Я.Ю. Циркулирующие микроРНК как диагностические маркеры онкологических заболеваний / Я.Ю. Киселева, С.П. Радько, Н.В. Бодоев. – Текст: непосредственный // Биомедицина. – 2015. – № 5. – С. 79–85.

15. Kiseleva, Ja.Ju. Cirkulirujushhie mikroRNK kak diagnosticheskie markery onkologicheskikh zabolevanij / Ja.Ju. Kiseleva, S.P. Rad'ko, N.V. Bodev. – Tekst: neposredstvennyj // Biomedicina. – 2015. – № 5. – S. 79–85.

16. Borel, C. Functional genetic variation of human miRNAs and phenotypic consequences / C. Borel, S.E. Antonarakis. – Text: visual // Mamm. Genome. – 2008. – Vol. 19. – P. 503–509.

17. Urbich, C. Role of microRNAs in vascular diseases, inflammation, and angiogenesis / C. Urbich, A. Kuehbacher, S. Dimmeler. – Text: visual // Cardiovascular Research. – 2008. – Vol. 79. – P. 581–588.

18. МикроРНК как биомаркеры сердечно-сосудистых заболеваний / В.В. Ромакина, И.В. Жиров, С.Н. Насонова [и др.]. – Текст: непосредственный // Кардиология. – 2018. – Т. 58. – № 1. – С. 66–71.

18. MikroRNK kak biomarkery serdechno-sosudistykh zabolevanij / V.V. Romakina, I.V. Zhiron, S.N. Nasonova [i dr.]. – Tekst: neposredstvennyj // Kardiologija. – 2018. – T. 58. – № 1. – S. 66–71.

19. Федоров, А.В. Современные методы модулирования и визуализация эндогенных микроРНК / А.В. Федоров, А.А. Костарева. – Текст: непосредственный //

Бюллетень Федерального центра сердца, крови и эндокринологии им. В.А. Алмазова. – 2012. – № 5. – С. 77–81.

Fedorov, A.V. Sovremennye metody modulirovanija i vizualizacija jendogenykh mikroRNK / A.V. Fedorov, A.A. Kostareva. – Tekst: neposredstvennyj // Bjulleten' Federal'nogo centra serdca, krvi i jendokrinologii im. V.A. Almazova. – 2012. – № 5. – S. 77–81.

20. *Ono, K.* MicroRNAs and cardiovascular diseases / K. Ono, Y. Kuwabara, J. Han. – Text: visual // FEBS. J. – 2011. – Vol. 278. – № 10. – P. 1619–1633.

21. *Port, J.D.* Role of microRNAs in cardiovascular disease: therapeutic challenges potentials / J.D. Port, C. Sucharov. – Text: visual // J. Cardiovasc. Pharmacol. – 2010. – Vol. 56. – № 5. – P. 444–453.

22. *Topkara, V.K.* Role of microRNAs in cardiac remodeling in heart failure / V.K. Topkara, D.L. Mann. – Text: visual // Cardiovasc. Drugs Ther. – 2011. – Vol. 25. – P. 171–182.

23. MicroRNAs in the Human Heart: A Clue to Fetal Gene Reprogramming in Heart Failure / T. Thum, P. Galuppo, C. Wolf [et al.]. – Text: visual // Circulation. – 2007. – Vol. 116. – P. 258–267.

24. Ишемическая болезнь сердца: регулирование с помощью микроРНК / Г.А. Коробов, М.А. Сазонова, И.А. Собенин [и др.]. – Текст: непосредственный // Кардиологический вестник. – 2011. – Т. VI (XVIII). – № 2. – С. 5–9.

«Ishemicheskaja bolezn» serdca: regulirovanie s pomoshh'ju mikroRNK / G.A. Korobov, M.A. Sazonova, I.A. Sobenin [i dr.]. – Tekst: neposredstvennyj // Kardiologicheskij vestnik. – 2011. – T. VI (XVIII). – № 2. – S. 5–9.

25. MicroRNA-10a regulation of proinflammatory phenotype in athero-susceptible endothelium *in vivo* and *in vitro* / Y. Fang, C. Shi, E. Manduchi [et al.]. – Text: visual // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2010. – Vol. 107. – № 30. – P. 13450–13455.

26. Novel Long Non-Coding RNAs Are Regulated by Angiotensin II in Vascular Smooth Muscle Cells / A. Leung, C. Trac, W. Jin [et al.]. – Text: visual // Circ. Res. – 2013. – Vol. 113. – № 3. – P. 266–278.

27. Role of microRNAs in endothelial cell pathophysiology / T. Staszal, B. Zapala, A. Polus [et al.]. – Text: visual // Pol. Arch. Med. Wewn. – 2011. – Vol. 121. – № 10. – P. 361–367.

28. Калинин, М.Н. МикроРНК и полиморфизм генов их биогенеза в патогенезе атеросклероза / М.Н. Калинин, Н.Е. Щеглова. – Текст: непосредственный // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2017. – Т. 61. – № 1. – С. 43–50.

Kalinkin, M.N. MikroRNK i polimorfizm genov ih biogeneza v patogeneze ateroskleroza / M.N. Kalinkin, N.E. Shheglova. – Tekst: neposredstvennyj // Patologicheskaja fiziologija i jeksperimental'naja terapija. – 2017. – T. 61. – № 1. – S. 43–50.

29. Stable serum miRNA profiles as potential tool for non-invasive lung cancer diagnosis / A. Keller, P. Leidinger, R. Gislefoss [et al.]. – Text: visual // RNA Biology. – 2011. – Vol. 8. – № 3. – P. 506–516.

30. MicroRNA biogenesis and cellular proliferation / D. Lenkala, E.R. Gamazon, B. LaCroix [et al.]. – Text: visual // Trans. Res. – 2015. – Vol. 166. – № 2. – P. 145–151.

31. Роль микроРНК в развитии рака предстательной железы / Г.Б. Кунсбаева, И.Р. Гилязова, В.Н. Павлов [и др.]. – Текст: непосредственный // Генетика. – 2015. – Т. 51. – № 7. – С. 737–753.

«Rol» mikroRNK v razvitii raka predstatel'noj zhelezy / G.B. Kunsbaeva, I.R. Giljazova, V.N. Pavlov [i dr.]. – Tekst: neposredstvennyj // Genetika. – 2015. – T. 51. – № 7. – S. 737–753.

32. Identification of circulating microRNA signatures for breast cancer detection / M. Chan, C.S. Liaw, M. Ji [et al.]. – Text: visual // Clin. Cancer Res. – 2013. – Vol. 19. – № 16. – P. 4477–4487.

Щеглова Наталья Евгеньевна (контактное лицо) – к. м. н., доцент кафедры патологической физиологии ФГБОУ ВО Тверской государственной медицинский университет Минздрава России; 170100, Тверь, ул. Советская, д. 4. Тел. 8-920-688-10-51; e-mail: natali.sh45@mail.ru.