

Геномные технологии в пульмонологии: роль микроРНК в развитии бронхиальной астмы и хронической обструктивной болезни легких

Ж.А.Миронова¹, Н.А.Дьяченко¹, А.С.Улитина¹, В.И.Трофимов¹, С.Н.Пчелина¹, М.В.Дубина^{1,2}

1 – ГБОУ ВПО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П.Павлова» Минздрава России: 197022, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, 6 / 8;

2 – ФГБУ ВОиН «Санкт-Петербургский национальный исследовательский академический университет Российской академии наук» Минобрнауки России: 194021, Санкт-Петербург, ул. Хлопина 8 / 3

Резюме

МикроРНК — это малые некодирующие молекулы РНК, которые влияют на экспрессию генов и таким образом участвуют в эпигенетической регуляции практически всех физиологических и патологических процессов. Примерно 1 800 микроРНК человека на сегодняшний день открыты, однако биологическая функция и белки-мишени для большинства из них остаются неизвестными. В рамках дыхательной системы микроРНК необходимы для развития легких и поддержания легочного гомеостаза на протяжении всей жизни. В последние годы была открыта главнейшая роль микроРНК в патогенезе различных заболеваний, в т. ч. бронхиальной астмы (БА), хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ) и рака легкого. Благодаря значительному прогрессу в изучении взаимодействий между генами и их продуктами с факторами окружающей среды стала очевидной огромная роль эпигенетической изменчивости — изменений экспрессии генов, не связанных с нарушением структуры ДНК, однако способных устойчиво передаваться в ряду поколений. Существуют 3 уровня эпигенетической регуляции и соответственно — 3 ее основных механизма: геномный (метилирование ДНК), протеомный (модификация гистонов) и транскриптомный (регуляция посредством РНК, в первую очередь микроРНК). Успехи в понимании роли микроРНК в дыхательной системе помогут пролить свет на новые перспективы в поиске терапевтических мишеней и диагностических маркеров для заболеваний респираторной системы, в частности БА и ХОБЛ.

Ключевые слова: эпигенетический контроль, микроРНК, бронхиальная астма, хроническая обструктивная болезнь легких, сигаретный дым, окружающая среда, иммунный ответ.

DOI: 10.18093/0869-0189-2016-26-1-5-11

Genome technologies in pulmonology: a role of microRNA in asthma and COPD development

Zh.A.Mironova¹, N.A.D'yachenko¹, A.S.Ulitina¹, V.I.Trofimov¹, S.N.Pchelina¹, M.V.Dubina^{1,2}

1 – Academician I.P.Pavlov First Saint-Petersburg State Medical University, Healthcare Ministry of Russia: 6 / 8, L'va Tolstogo str., Saint-Petersburg, 197089, Russia;

2 – Saint-Petersburg Federal National Research Academic University of Russian Science Academy; Ministry of Education and Science of Russia: 8 / 3, Khlopina str., Saint-Petersburg, 194021, Russia

Summary

MicroRNAs (miRNAs) are small noncoding RNA molecules that affect gene expression and thus take part in the epigenetic regulation of almost all physiological and pathological processes. About 1,800 human miRNAs have been discovered to date; however, biological functions and protein targets for the majority remain to be unknown. Within the respiratory system, miRNAs contribute to the lung growth and lifelong maintenance of pulmonary homeostasis. Recently, the leading role of miRNAs in pathogenesis of various pulmonary diseases has been found, including asthma, chronic obstructive pulmonary disease (COPD) and lung cancer. Due to a significant progress in studying interactions between genes and their products and environmental factors, a great role of epigenetic variability, which is gene expression change not related to DNA damage, but could be inherited consistently, became apparent. There are three levels of epigenetic regulation corresponding to three main mechanisms: genomic (DNA methylation), proteomic (histone modification) and transcriptomic (regulation through RNA, primarily miRNA). Extending our knowledge on a role of miRNAs for the respiratory system could open new therapeutic targets and diagnostic markers for respiratory diseases, particularly asthma and COPD.

Key words: epigenetic regulation, microRNAs, asthma, chronic obstructive pulmonary disease, cigarette smoke, environment, immune response.

Механизмы эпигенетической регуляции

В последние годы произошел значительный прогресс в изучении взаимодействий между генами, их продуктами и факторами окружающей среды. Стала очевидной огромная роль эпигенетической изменчивости — изменений экспрессии генов, не связанных с нарушением структуры ДНК, однако способных устойчиво передаваться в ряду поколений. Эпигенетические модификации генома в комплексе составляют эпигеном. Важным направлением эпигенетики является изучение особенностей эпигенома в различных тканях организма в норме и при патологических состояниях.

Многие гены специфичны: они экспрессируются только в определенных тканях и на определенных этапах клеточной дифференцировки. В большинстве клеток у взрослого человека одновременно работают ≤ 20 % всех генов.

Необходимый уровень активности каждого гена в нужное время и в определенном месте во многом обеспечивается за счет эпигенетических механизмов. Существуют 3 уровня эпигенетической регуляции и, соответственно, 3 ее основных механизма: геномный (метилирование ДНК), протеомный (модифика-

ция гистонов) и транскриптомный (регуляция посредством РНК, в первую очередь микроРНК) [1, 2].

Метилирование ДНК

Метилирование ДНК заключается в присоединении метильной группы к цитозину и обычно происходит в составе CpG-динуклеотида [3].

5'-нетранслируемые области генов содержат CpG-островки — последовательности, богатые CpG-динуклеотидами. Метильные группы нарушают взаимодействия ДНК с белками, препятствуя связыванию транскрипционных факторов. Метилированные участки ДНК могут взаимодействовать с репрессорами транскрипции, а также влиять на структуру хроматина. Таким образом, *метилирование CpG-островков снижает экспрессию гена*, причем метилированное состояние может поддерживаться в течение многих поколений клеток.

Метилирование ДНК играет важную роль в дифференцировке клеток, старении, канцерогенезе и ключевую роль — в развитии легких и дифференцировке их клеток в ходе эмбриогенеза. Лабораторные животные, утратившие способность метилировать ДНК, не развиваются во взрослых особей. Метилирование ДНК важно и для иммунного ответа, поскольку регулирует экспрессию генов главного комплекса гистосовместимости, влияет на презентацию антигенов, врожденный и приобретенный иммунный ответ. Метилирование ДНК вносит вклад в патогенез рака легкого: опухолевыми клеткам свойственно гипометилирование, приводящее к избыточной экспрессии генов. При раке также встречается aberrантное метилирование ДНК: гиперметилирование промоторов генов-супрессоров опухолей приводит к повышенной пролиферации раковых клеток в легких.

Нарушение метилирования ДНК, в т. ч. гипометилирование генов-иммуномодуляторов, ассоциировано с развитием хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ). У больных ХОБЛ с ранним развитием эмфиземы выявлено гипометилирование гена SERPINA1, кодирующего α_1 -антитрипсин — ингибитор сериновых протеаз [1].

У пациентов с бронхиальной астмой (БА) также выявлены нарушения метилирования ДНК. В первую очередь это касается гена транскрипционного фактора STAT5A, участвующего в дифференцировке лимфоцитов Th2 [4].

В отличие от мутаций, метилирование — обратимый процесс, поэтому степень метилирования ДНК можно рассматривать как потенциальный диагностический и прогностический биомаркер, а сайты метилирования — как потенциальные мишени для новых лекарственных препаратов.

Модификация гистонов

Второй механизм эпигенетической регуляции связан с ДНК-гистоновыми взаимодействиями, которые влияют на конформацию хроматина и, соответственно, на доступность определенных участков ДНК для

транскрипции. Наиболее хорошо изученными модификациями гистонов являются ацетилирование и деацетилирование, которые осуществляются ацетилтрансферазами гистонов и деацетилазами гистонов (HDAC).

Деацетилирование гистонов приводит к более плотному упаковыванию ДНК в ядре (конденсация хроматина, образование гетерохроматина). В результате затрудняется присоединение к ДНК транскрипционных факторов и полимеразы и подавляется экспрессия генов. Гиперацетилирование гистонов, напротив, приводит к разрыхлению хроматина (образование эухроматина) и гиперэкспрессии генов.

Обнаружено, что сниженная активность деацетилазы гистонов-2 (HDAC2) связана с хроническим воспалением в легких, поэтому восполнение функции этого фермента — перспективная стратегия лечения БА и ХОБЛ. При ХОБЛ и БА тяжелого течения окислительный и нитративный стресс, возникающий в результате воздействия внешних факторов, таких как курение, воздушные irritants, через формирование пероксинитритов приводит к снижению деацетилирования гистонов ДНК и развитию стероидрезистентности [5]. Помимо влияния на воспаление в легких, модификация гистонов регулирует экспрессию генов, обеспечивающих репарацию ДНК и клеточную репликацию; нарушения этих процессов приводят к раку легкого. Ацетилазы гистонов при раке легкого задействованы как в супрессии, так и в активации опухолевого роста. Повышенная активность HDAC может приводить к сайленсингу (подавлению активности) генов-супрессоров опухолей, в результате чего возрастает риск развития рака легкого. Подавление HDAC, наоборот, активирует гены-супрессоры опухолей и препятствует опухолевому росту [1].

Общие сведения о структуре, биогенезе и функциях микроРНК

Все молекулы РНК по их функциям можно разделить на кодирующие и не кодирующие. К кодирующим относятся информационные, или матричные РНК (мРНК), которые являются матрицами для синтеза белков. Но большая часть транскриптома человека представлена не кодирующими РНК, которые выполняют регуляторные функции, в т. ч. участвуют в синтезе белков (тРНК и рРНК) и регулируют экспрессию генов (микроРНК).

МикроРНК — малые не кодирующие молекулы РНК (длиной 18–25 нуклеотидов), которые оказывают влияние на экспрессию генов, участвуя в эпигенетической регуляции практически всех физиологических и патологических процессов.

МикроРНК были открыты в 1993 г. Они обнаружены во всех многоклеточных организмах растений и животных, что свидетельствует о раннем эволюционном происхождении этого механизма регуляции генной экспрессии. МикроРНК сыграли важную роль в эволюции эукариот. В отличие от мРНК, у не кодирующих РНК общее количество молекул в орга-

низме прямо коррелирует со сложностью организации вида. Возникновение и эволюция системы микроРНК привели к значительному росту пластичности ДНК-РНК-белковых взаимодействий. Появилась возможность образования множественных опосредованных РНК-сигналами контактов между разными генами, а также между генами и их продуктами, что и привело к появлению многофункциональных взаимоинтегрированных белковых комплексов и экспоненциальному росту сложности организации различных форм жизни на планете [2].

Международная электронная база данных *miRBase* (www.mirbase.org) в настоящее время содержит сведения о примерно 1 800 микроРНК человека.

Согласно общепринятой номенклатуре, в полное название микроРНК входят указание на ее видовую принадлежность (трехбуквенный префикс, для человека — *hsa*), степень зрелости молекулы (*pri-mir* и *pre-mir* — предшественники, *miR* — зрелая микроРНК), порядковый номер в базе данных и другие характеристики.

Около 50 % генов, кодирующих микроРНК, представлены самостоятельными транскрипционными единицами, в то время как другая половина локализуется в интронах белок-кодирующих генов. Некоторые гены микроРНК расположены рядом друг с другом и формируют кластеры.

В ядре клетки с помощью РНК-полимеразы синтезируется *при-микроРНК* — первичный транскрипт длиной до нескольких тысяч нуклеотидов. Затем он расщепляется ядерной РНКазой *Drosha* с образованием шпилькообразных *пре-микроРНК*. Эти молекулы-предшественники при помощи белка-переносчика экспортина-5 перемещаются из ядра в цитоплазму, где происходит следующий этап процессинга: цитоплазматическая РНКазы *Dicer* расщепляет *пре-микроРНК* на *дуплексы* — двухцепочечные фрагменты по 18–25 нуклеотидов. В дальнейшем одна из цепей дуплекса (пассажирская) подвергается деградации, а другая (ведущая) в качестве *зрелой микроРНК* встраивается в ферментативный комплекс RISC (РНК-индуцированный сайленсинговый комплекс). В составе RISC микроРНК регулирует экспрессию генов путем комплементарного связывания с 3'-нетранслируемыми областями мРНК. В результате происходит разрушение молекулы мРНК или угнетение процесса трансляции.

Поскольку соответствие микроРНК и мРНК обычно неполное (комплементарность не достигает 100 %), то большинство микроРНК не являются строго специфичными: один вид микроРНК может вызывать деградацию или дестабилизацию многих мРНК-мишеней и, соответственно, изменять экспрессию до нескольких сотен генов [6].

В здоровом организме микроРНК вовлечены практически во все процессы развития тканей и органов, дифференцировки клеток и апоптоз [7, 8].

Регуляция экспрессии микроРНК осуществляется на разных уровнях: в процессе транскрипции молекул микроРНК, их процессинга и взаимодействия с мишенями [9]. На уровне транскрипции регуляторные

факторы связываются с промотором гена микроРНК и контролируют его экспрессию. После транскрипции созревание микроРНК находится под контролем большого количества регуляторных факторов, в т. ч. зависит от уровня активности *Dicer* [9, 10].

Во время иммунного ответа также происходит регуляция активности микроРНК. Например, бактериальный эндотоксин усиливает экспрессию *miR-147*, после чего эта микроРНК угнетает макрофагальную реакцию и таким образом предотвращает чрезмерный воспалительный ответ. Интерлейкин (IL)-13 способен угнетать экспрессию *miR-133a* в бронхиальных гладкомышечных клетках, приводя к изменению фенотипа этих клеток.

На активность микроРНК могут также оказывать влияние факторы внешней среды: сигаретный дым, прочие поллютанты, диета и т. п. Например, повышенное содержание жиров в рационе крыс приводит к нарушению экспрессии микроРНК у их потомства [10].

Методы изучения микроРНК

МикроРНК в тех или иных количествах содержатся во всех тканях и биологических жидкостях организма. Разработаны протоколы выделения микроРНК из различных типов образцов, в т. ч. из клеточных культур, биоптатов, мочи, сыворотки крови [11]. МикроРНК могут циркулировать в организме в микровезикулах (экзосомах, микрочастицах и апоптотических тельцах), в комплексах с липопротеидами во внеклеточной жидкости или с устойчивыми РНК-связывающими белками, такими как Ago2. Механизмы появления молекул микроРНК в кровотоке до конца не изучены. Возможно, микроРНК секретируются из клеток и выходят в кровоток из разрушенных клеток ткани или клеток крови [12]. С точки зрения пульмонолога важно, что конденсат выдыхаемого воздуха содержит достаточное количество микроРНК для анализа, причем преимущественно в стабильной форме (в составе мембранных пузырьков — экзосом). Таким образом, детекция микроРНК в конденсате выдыхаемого воздуха (в частности, методом количественной полимеразной цепной реакции — ПЦР) является перспективным направлением диагностики респираторной патологии [13].

При большинстве заболеваний происходят системные изменения в работе многих генов и изменяются концентрации многих микроРНК, поэтому все чаще применяется *микроРНК-профайлинг* (*оценка профиля микроРНК*) — анализ одновременно большого числа разных микроРНК.

Существуют различные методы количественной детекции микроРНК: обратная транскрипция с последующей количественной ПЦР; анализ на микрочипах; проточная флуоресциметрия с использованием микросфер; РНК-секвенирование и т. п. [11].

Анализ на микрочипах сейчас широко распространен, однако его нельзя использовать для поиска новых молекул, поскольку чип содержит набор зондов для уже известных микроРНК. Для выявления

ния новых, еще не описанных микроРНК разработан метод микроРНК-профайлинга с использованием 454-секвенирования (высокопроизводительного пиро-секвенирования), который включает в себя электрофоретическое разделение коротких РНК, обратную транскрипцию, конструирование библиотек кДНК и их секвенирование.

Возможности использования микроРНК для диагностики и лечения заболеваний

МикроРНК могут использоваться как диагностические и прогностические биомаркеры заболеваний, а также как лекарства и мишени для лекарств. Разрабатываются 2 основные терапевтические стратегии для нормализации содержания конкретных микроРНК в организме: антагомиры (*antagomiRs*) и микроРНК-имитаторы (*miR-mimics*).

В первом случае лекарственный препарат представляет собой искусственно синтезированный олигонуклеотид, комплементарный определенной микроРНК. В организме это вещество связывается с микроРНК и препятствует ее функционированию. Антагомиры действуют как конкурентные ингибиторы эндогенных микроРНК и приводят к снижению эффекта, вызванного избыточной экспрессией определенных микроРНК [12].

Во втором случае лекарственный препарат имеет структуру, сходную с микроРНК (искусственно синтезированная короткая двунитевая нуклеотидная последовательность), и в организме берет на себя ее функции, что позволяет проводить заместительную терапию в случаях, когда при патологическом процессе наблюдается дефицит определенных микроРНК.

В настоящее время лекарственные препараты, влияющие на микроРНК, находятся на этапе разработки, а некоторые из них уже проходят клинические испытания.

Роль микроРНК в дыхательной системе здорового человека

МикроРНК необходимы для развития легких и поддержания легочного гомеостаза на протяжении всей жизни. Глобальное удаление «легочных» микроРНК с помощью специфичной для легких делеции *Dicer* приводит к аномальному апоптозу и нарушению ветвления воздушных путей в процессе развития легких. Полагают, что развитие легких контролируется кластером miR-17-92, в состав которого входят miR-17, miR-18, miR-19, miR-20 и miR-92. У мышей без кластера miR-17-92 развивается гипоплазия легких, в то время как гиперэкспрессия этого кластера обуславливает отсутствие терминальных бронхиол [10].

МикроРНК и врожденный иммунный ответ

Ряд микроРНК, в т. ч. miR-155, miR-146 и miR-223, регулируют острую воспалительную реакцию после распознавания патогенов с помощью TLR-рецепторов.

Например, в макрофагальных клеточных линиях экспрессия miR-132, miR-146 и miR-155 увеличивается в ответ на добавление эндотоксина; miR-146 индуцируется благодаря TLR-рецепторам и IL-1 β , который является провоспалительным цитокином.

В макрофагах под действием медиаторов воспаления и токсинов увеличивается экспрессия miR-155, которая регулирует выброс медиаторов воспаления и усиливает продукцию фактора некроза опухоли (TNF)- α , а также модулирует созревание дендритных клеток и влияет на способность этих профессиональных антиген-презентирующих клеток связывать патогены путем угнетения экспрессии специфической для дендритных клеток межклеточной адгезивной молекулы-3 без интегрин; miR-223 играет важную роль в регуляции пролиферации и активации гранулоцитов, причем может выступать и как позитивный, и как негативный регулятор гранулоцитарной дифференцировки [10].

МикроРНК и приобретенный иммунный ответ

Профиль экспрессии микроРНК варьируется в зависимости от стадии развития Т-клеток. МикроРНК также модулируют дифференцировку Т-клеток после их контакта с антигеном. Выявлено, что miR-181 регулирует чувствительность и селекцию Т-лимфоцитов и контролирует интенсивность Т-клеточного ответа на антигены путем модулирования способности Т-клеточного рецептора передавать сигнал; miR-155 также вовлечена в дифференцировку и активацию Т-клеток и играет важную роль в генерации регуляторных Т-лимфоцитов и их функционировании. В-клеткам требуется miR-155 для нормальной продукции изотипных высокоаффинных антител и для реализации иммунологической памяти [10].

МикроРНК и БА

БА — это хроническое воспалительное заболевание дыхательных путей, в котором принимают участие многие клетки и клеточные элементы. Хроническое воспаление обуславливает развитие бронхиальной гиперреактивности и эпизодов обструкции дыхательных путей. Выявлено значительное число факторов риска развития БА; их можно разделить на внешние и внутренние (преимущественно генетические, в т. ч. нарушения работы системы микроРНК). Профиль экспрессии микроРНК у больных БА отличается от такового у лиц без БА [13].

Показано, что ингибирование miR-155 приводит к повышению активности транскрипционных факторов, вовлеченных в развитие микроокружения лимфоцитов-хелперов Th-2, что наводит на мысль об участии этой микроРНК в патогенезе БА.

У больных БА наблюдается гипокспрессия miR-133a. Полагают, что IL-13 модулирует фенотип бронхиальных гладкомышечных клеток путем угнетения miR-133a, вследствие чего возрастает экспрессия гена RhoA. RhoA — это ключевой белок, обеспечивающий сократимость гладких миоцитов; повышение

его концентрации ассоциировано с усиленным сокращением гладкомышечных клеток бронхов [10]. Гипоэкспрессия miR-1 также может вносить вклад в гипертрофию гладких миоцитов и ремоделирование бронхов при БА.

У мышей с искусственно вызванной гиперэкспрессией IL-13 специфично в легких определялась гиперэкспрессия miR-21, что сопровождалось угнетением IL-12 и способствовало развитию иммунного ответа, ассоциированного с лимфоцитами-хелперами Th2 и IL-13. В то же время у мышей с гипоэкспрессией miR-21 при введении овальбумина наблюдался иммунный ответ, ассоциированный с лимфоцитами-хелперами Th1 [10, 14].

В другом исследовании в результате введения let-7 мышам с моделью БА у животных снижался уровень IL-13 [14].

У мышей с моделью аллергии на клещей домашней пыли были гиперэкспрессированы miR-16, miR-21 и miR-126. При назначении этим животным ингибиторов miR-145 снижались выработка IL-13 и IL-5 и симптомы БА, причем противовоспалительный эффект был сопоставим с действием глюкокортикостероидов (ГКС) [10].

У крыс с БА, нокаутированных по miR-106a, уровень противовоспалительного IL-10 был увеличен [14].

Некоторые исследователи полагают, что у больных БА при гиперэкспрессии miR-146 снижается IL-1 β -индуцированный выброс IL-6 и IL-8 гладкомышечными клетками дыхательных путей и альвеолоцитами [10].

МикроРНК и ХОБЛ

ХОБЛ — это гетерогенное заболевание, характеризующееся неполностью обратимой бронхообструкцией и аномальным воспалительным ответом легких на ингалируемые частицы или газы, особенно на сигаретный дым.

При ХОБЛ у курильщиков по сравнению с некурящими в основном наблюдается гипоэкспрессия микроРНК [14]. В частности, экспрессия 8 микроРНК (miR-34c, miR-218, miR-34b, let-7c, miR-342-3p, miR-125a-5p, miR-30e-3p и miR-125b) значительно снижена у курильщиков с ХОБЛ по сравнению с лицами, никогда не курившими.

Выявлена обратная корреляция экспрессии let-7c с концентрацией белков TNF-рецепторов II типа (TNFR-II), которые вовлечены в патогенез ХОБЛ. По сравнению с никогда не курившими лицами экспрессия let-7c была снижена только у курящих с ХОБЛ, но не у бывших курильщиков с ХОБЛ или курильщиков без ХОБЛ, что наводит на мысль о вовлеченности let-7c в развитие ХОБЛ в связи с курением, а не в связи с персистирующим воспалением после прекращения курения.

При сравнении профилей экспрессии микроРНК в легочной ткани у больных ХОБЛ и курильщиков без ХОБЛ выявлены различия по 70 микроРНК, включая miR-223, miR-127a, miR-424 и miR-15b [14].

Выявлено несколько микроРНК, экспрессия которых коррелирует со степенью тяжести ХОБЛ. В частности, экспрессия miR-15b и miR-146a коррелирует с результатами спирометрии при ХОБЛ [10]. При этом у больных с эмфиземой и фиброзом повышена экспрессия miR-15b, miR-10/107, miR-424, miR-107 [14]. Гипоэкспрессия miR-146a в фибробластах у пациентов с ХОБЛ в ответ на воспалительные цитокины приводит к гиперэкспрессии циклооксигеназы-2 и, следовательно, к избытку PGE2 — медиатора воспаления и ингибитора репарации легочных фибробластов [10].

Гипоэкспрессия miR-452 в альвеолярных макрофагах у курильщиков ассоциирована с гиперэкспрессией матриксной металлопротеиназы-12 — фермента, задействованного в патогенезе эмфиземы.

Примером регуляторной роли микроРНК является действие miR-146a в легочных фибробластах у курильщиков с ХОБЛ, подвергнутых хирургическому лечению. У таких пациентов экспрессию miR-146a можно рассматривать как механизм обратной связи для ограничения воспалительной реакции, поскольку эта микроРНК угнетает экспрессию циклооксигеназы-2, в результате чего снижается концентрация простагландина E2, являющегося медиатором воспаления [14].

При анализе сыворотки крови больных ХОБЛ было обнаружено нарушение по 5 микроРНК по сравнению со здоровыми субъектами: гиперэкспрессия miR-7 и гипоэкспрессия miR-20, miR-28-3p, miR-34c-5p, miR-100 [14].

МикроРНК, окружающая среда и сигаретный дым

Способность окружающей среды изменять экспрессию генов через эпигенетический контроль помогает постичь сложные взаимоотношения организма и окружающей среды в норме и при патологии, в т. ч. при респираторных заболеваниях. Диета может оказывать выраженное воздействие на эпигеном. Например, генетически идентичные мыши *agouti* рождаются с разным цветом шерсти, если их матерей по-разному кормили. Потомки матерей, получавших с пищей достаточное количество фолиевой кислоты, имеют нормальный цвет шерсти, что является маркером хорошего здоровья мышей. В данном эксперименте было выявлено, что цвет шерсти ассоциирован со степенью метилирования CpG-островков гена *agouti* [1].

Эпителиальные клетки органов дыхания модулируют Th2-ответ через продукцию таких цитокинов, как IL-25, IL-33 и TSLP. При воздействии вдыхаемых поллютантов (различные твердые частицы, продукты сгорания топлива) увеличивается экспрессия miR-375, которая модулирует экспрессию гена TSLP. При этом мишенью miR-375 является арилгидрокарбонный рецептор (AHR) — транскрипционный фактор, способный связывать экзогенные поллютанты [4].

У больных БА снижена экспрессия miR-203 — микроРНК, угнетающей экспрессию IL-8. Выявле-

ны различия экспрессии 4 микроРНК из семейства miR-34/449 у больных БА при терапии ингаляционными ГКС или без таковой. У больных БА гипоксепрессированы miR-34/449, а также miR-21 и let-7.

Сигаретный дым и прочие загрязнения воздуха являются причиной окислительного стресса и, следовательно, «поломок» ДНК и гипометилирования. При воздействии сигаретного дыма также уменьшается экспрессия HDAC2 и активность HDAC2 на уровне белка, обеспечивая хроническое воспаление при ХОБЛ [5].

Отмечено, что в случае пренатального воздействия курения нарушается функция легких, повышается риск стридорозного дыхания и БА у ребенка. Курение женщины в последнем триместре беременности ассоциировано с развитием БА у детей к 1-му году жизни, что объясняется нарушением метилирования ДНК через окислительный стресс [1].

Табачный дым оказывает влияние на экспрессию микроРНК в бронхиальном эпителии. При сравнении экспрессии 28 микроРНК у курильщиков и никогда не куривших лиц обнаружено, что большинство исследованных микроРНК у курильщиков гипоксепрессированы.

MiR-218, miR-15a, miR-199b и miR-125b гипоксепрессированы также при раке легкого, что указывает на участие этих микроРНК в патогенезе рака, связанного с курением.

При воздействии сигаретного дыма снижается экспрессия семейства микроРНК let-7, что приводит к усиленному делению раковых клеток легких *in vitro* и плохой послеоперационной выживаемости у пациентов. В исследованиях на крысах при воздействии сигаретного дыма снижается экспрессия нескольких микроРНК, влияющих на транскрипционный фактор NF-κB, активирует NF-κB и усиливает воспаление [10].

Заключение

Эпигенетическая регуляция обеспечивает взаимодействия между генами, их продуктами и факторами окружающей среды, необходимые для роста и развития организма и его функционирования на протяжении всей жизни.

Система микроРНК является важным механизмом эпигенетического контроля и задействована практически во всех процессах человеческого организма, как физиологических (эмбриогенез, дифференцировка, пролиферация, передача сигналов, апоптоз), так и патологических (развитие различных заболеваний, включая канцерогенез). Не вызывает сомнений значимость микроРНК в патогенезе болезней органов дыхания, в т. ч. таких социально значимых, как ХОБЛ, БА, рак легкого.

Очень перспективным представляется использование микроРНК для диагностики и лечения различных заболеваний, в т. ч. респираторных. Профили микроРНК имеют свои особенности в норме и при патологии, а также при разных нозологических формах и вариантах течения заболевания, поэто-

му определенные микроРНК могут выступать в роли ценных диагностических и прогностических биомаркеров. Возможна коррекция работы системы микроРНК путем введения в организм искусственно синтезированных молекул, которые возмещают недостаток определенных микроРНК (микроРНК-имитаторы) или наоборот, предотвращают нежелательные эффекты определенных микроРНК (антагомиры).

Разработан ряд методов количественной оценки микроРНК в тканях и биологических жидкостях. Поскольку микроРНК не являются строго специфичными (1 микроРНК может действовать на множество генов-мишеней), важной задачей является выбор конкретных микроРНК для диагностического и лечебного применения.

Изучение микроРНК важно как для фундаментальной науки, так для практической медицины. Болезни органов дыхания (ХОБЛ, БА, рак легкого и т. п.) представляют собой глобальную проблему человечества. Разработка диагностических и терапевтических подходов с использованием микроРНК позволит внести вклад в решение этой медицинской и социальной проблемы.

Конфликт интересов отсутствует.

There is no conflict of interest.

Литература

1. Durham A.L., Adcock I.M. Basic science: Epigenetic programming and the respiratory system. *Breathe*. 2013; 9 (4): 279–288.
2. Горбунова В.Н., Пчелина С.Н., Шварцман А.Л. Введение в молекулярную медицину: учебное пособие. СПб: Издательство Политехнического университета; 2011: 214.
3. Pinney S.E. Mammalian Non-CpG Methylation: Stem Cells and Beyond. *Biology* (Basel). 2014; 3 (4): 739–751.
4. Tsiropoulos A., de Nadai P., Glineur C. Environmental and genetic contribution in airway epithelial barrier in asthma pathogenesis. *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.* 2013; 13 (5): 495–499.
5. Barnes P.J., Corticosteroid resistance in patients with asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2013; 131 (3): 636–645.
6. Lu T.X., Rothenberg M.E. Diagnostic, functional, and therapeutic roles of microRNA in allergic diseases. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2013; 132 (1): 3–13.
7. Chen Y., Verfaillie C.M. MicroRNAs: the fine modulators of liver development and function. *Liver Int.* 2014; 34 (7): 976–990.
8. Hata A., Kang H. Functions of the bone morphogenetic protein signaling pathway through microRNAs (review). *Int. J. Mol. Med.* 2015; 35 (3): 563–568.
9. Oglesby I.K., McElvaney N.G., Greene C.M. MicroRNAs in inflammatory lung disease-master regulators or target practice? *Respir. Res.* 2010; 11: 148.
10. Rupani H., Sanchez-Elsner T., Howarth P. MicroRNAs and respiratory diseases. *Eur. Respir. J.* 2013; 41 (3): 695–705.
11. Pritchard C.C., Cheng H.H., Tewari M. MicroRNA profiling: approaches and considerations. *Nat. Rev. Genet.* 2012; 13 (5): 358–369.
12. Кочетов А.Г., Жиров И.В., Масенко В.П. и др. Перспективы применения микроРНК в диагностике и терапии сердечной недостаточности. *Кардиологический вестник*. 2014; 10 (2): 62–67.

13. Sinha A., Yadav A.K., Chakraborty S. et al. Exosome-enclosed microRNAs in exhaled breath hold potential for biomarker discovery in patients with pulmonary diseases. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2013; 132 (1): 219–222.
14. Sessa R., Hata A. Role of microRNAs in lung development and pulmonary diseases. *Pulm. Circ.* 2013; 3 (2): 315–328.

14. Sessa R., Hata A. Role of microRNAs in lung development and pulmonary diseases. *Pulm. Circ.* 2013; 3 (2): 315–328.

Received November 12, 2015

UDC [616.248+616.24-036.12]-056.7

Поступила 12.11.15
УДК [616.248+616.24-036.12]-056.7

References

1. Durham A.L., Adcock I.M. Basic science: Epigenetic programming and the respiratory system. *Breathe.* 2013; 9 (4): 279–288.
2. Gorbunova V.N., Pchelina S.N., Shvartsman A.L. Introduction into molecular medicine: A study guide. Saint-Petersburg: Izdatel'stvo Politekhicheskogo universiteta; 2011: 214 (in Russian).
3. Pinney S.E. Mammalian Non-CpG Methylation: Stem Cells and Beyond. *Biology* (Basel). 2014; 3 (4): 739–751.
4. Tsicopoulos A., de Nadai P., Glineur C. Environmental and genetic contribution in airway epithelial barrier in asthma pathogenesis. *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.* 2013; 13 (5): 495–499.
5. Barnes P.J., Corticosteroid resistance in patients with asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2013; 131 (3): 636–645.
6. Lu T.X., Rothenberg M.E. Diagnostic, functional, and therapeutic roles of microRNA in allergic diseases. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2013; 132 (1): 3–13.
7. Chen Y., Verfaillie C.M. MicroRNAs: the fine modulators of liver development and function. *Liver Int.* 2014; 34 (7): 976–990.
8. Hata A., Kang H. Functions of the bone morphogenetic protein signaling pathway through microRNAs (review). *Int. J. Mol. Med.* 2015; 35 (3): 563–568.
9. Oglesby I.K., McElvaney N.G., Greene C.M. MicroRNAs in inflammatory lung disease-master regulators or target practice? *Respir. Res.* 2010; 11: 148.
10. Rupani H., Sanchez-Elsner T., Howarth P. MicroRNAs and respiratory diseases. *Eur. Respir. J.* 2013; 41 (3): 695–705.
11. Pritchard C.C., Cheng H.H., Tewari M. MicroRNA profiling: approaches and considerations. *Nat. Rev. Genet.* 2012; 13 (5): 358–369.
12. Kochetov A.G., Zhirov I.V., Masenko V.P. et al. Perspectives of microRNA use for diagnosis and therapy of heart failure. *Kardiologicheskii vestnik.* 2014; 10 (2): 62–67 (in Russian).
13. Sinha A., Yadav A.K., Chakraborty S. et al. Exosome-enclosed microRNAs in exhaled breath hold potential for biomarker discovery in patients with pulmonary diseases. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2013; 132 (1): 219–222.

Информация об авторах

Миронова Жанна Александровна – д. м. н., профессор кафедры госпитальной терапии им. акад. М.В.Черноруцкого ГБОУ ВПО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П.Павлова» Минздрава России; тел.: (812) 338-78-98; e-mail: zhanmir@mail.ru

Дьяченко Николай Александрович – клинический ординатор кафедры госпитальной терапии им. акад. М.В.Черноруцкого ГБОУ ВПО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П.Павлова» Минздрава России; тел.: (905) 272-20-35; e-mail: diyachenko_nickolay@hotmail.com

Улитина Анна Сергеевна – старший научный сотрудник лаборатории медицинской генетики отдела молекулярно-генетических и нанобиологических технологий НИЦ ГБОУ ВПО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П.Павлова» Минздрава России; тел.: (921) 312-55-84; e-mail: row-an@yandex.ru

Трофимов Василий Иванович – д. м. н., профессор, зав. кафедрой госпитальной терапии им. акад. М.В.Черноруцкого ГБОУ ВПО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П.Павлова» Минздрава России; тел.: (812) 338-67-46; e-mail: trofvi@mail.ru

Пчелина Софья Николаевна – д. б. н., зав. лабораторией медицинской генетики отдела молекулярно-генетических и нанобиологических технологий НИЦ ГБОУ ВПО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П.Павлова» Минздрава России; тел.: (921) 304-81-87; e-mail: sopchelina@hotmail.com

Дубина Михаил Владимирович – д. м. н., член-корр. РАН, зав. лабораторией нанобиотехнологий ФГБУ ВОИИ «Санкт-Петербургский национальный исследовательский Академический университет Российской академии наук» Минобрнауки России; тел.: (812) 534-58-50; e-mail: dubina@spbau.ru

Author information

Mironova Zhanna Aleksandrovna, MD, Professor at M.V.Chernorutskiy Department of Hospital Internal Medicine, State Institution "Academician I.P.Pavlov First Saint-Petersburg State Medical University", Healthcare Ministry of Russia; tel.: (812) 338-78-98; e-mail: zhanmir@mail.ru

D'yachenko Nikolay Aleksandrovich, Resident Physician at M.V.Chernorutskiy Department of Hospital Internal Medicine, State Institution "Academician I.P.Pavlov First Saint-Petersburg State Medical University", Healthcare Ministry of Russia; tel.: (905) 272-20-35; e-mail: diyachenko_nickolay@hotmail.com

Ulitsina Anna Sergeevna, Senior Researcher at Laboratory of Medical Genetics, Division of Molecular and Nanobiological Technologies, Research Center of State Institution "Academician I.P.Pavlov First Saint-Petersburg State Medical University", Healthcare Ministry of Russia; tel.: (921) 312-55-84; e-mail: row-an@yandex.ru

Trofimov Vasily Ivanovich, MD, Professor, Head of M.V.Chernorutskiy Department of Hospital Internal Medicine, State Institution "Academician I.P.Pavlov First Saint-Petersburg State Medical University", Healthcare Ministry of Russia; tel.: (812) 338-67-46; e-mail: trofvi@mail.ru

Pchelina Sof'ya Nikolaevna, Doctor in Biology, Head of Laboratory of Medical Genetics, Division of Molecular and Nanobiological Technologies, Research Center of State Institution "Academician I.P.Pavlov First Saint-Petersburg State Medical University", Healthcare Ministry of Russia; tel.: (921) 304-81-87; e-mail: sopchelina@hotmail.com

Dubina Mikhail Vladimirovich, MD, Associate Member of Russian Science Academy, Head of Laboratory of Nanobiotechnologies, Saint-Petersburg Federal National Research Academic University of Russian Science Academy; Ministry of Education and Science of Russia; tel.: (812) 534-58-50; e-mail: dubina@spbau.ru

РОССИЙСКИЙ КОНГРЕСС ПО ОСТЕОПОРОЗУ, ОСТЕОАРТРОЗУ И ДРУГИМ МЕТАБОЛИЧЕСКИМ ЗАБОЛЕВАНИЯМ СКЕЛЕТА

Казань 8 – 10 сентября 2016

РКОО-2016



RUSSIAN CONGRESS ON OSTEOPOROSIS, OSTEOARTHRITIS AND OTHER METABOLIC BONE DISEASES

2016 September 8 – 10 Kazan

RCOO-2016

Российская ассоциация по остеопорозу сообщает о проведении очередного **Российского конгресса по остеопорозу, остеоартрозу и другим метаболическим заболеваниям скелета (РКОО-2016)**, который состоится **8 -10 сентября 2016 г. в Казани на базе гостиницы Korston Club Hotel** по адресу: Республика Татарстан, г. Казань, 420061, ул. Н. Ершова, д.1А.

На конгрессе будут рассматриваться вопросы:

- совершенствование медицинской и социальной помощи пациентам с остеопорозом, остеоартрозом, другими заболеваниями скелета
- генетика и эпидемиология остеопороза и переломов, остеоартроза
- патогенез метаболических заболеваний скелета
- диагностика нарушений минерального обмена
- вторичный остеопороз
- остеопороз у мужчин
- метаболические заболевания скелета у детей и подростков
- профилактика и лечение остеопороза, остеоартроза и других метаболических заболеваний костей и суставов
- остеопороз и остеоартроз в травматологии и ортопедии
- образовательные программы по профилактике и реабилитации

В работе конгресса примут участие с лекциями и докладами ведущие специалисты мира и России. К участию в конгрессе приглашаются врачи различных специальностей и специалисты по реабилитации. Президент Конгресса – академик РАН профессор Е.Л. Насонов.

Тезисы принимаются только в электронном виде.

Начало электронной регистрации и приема тезисов 1 января 2016 г.

Окончание электронной регистрации и приема тезисов 1 мая 2016 г.

Тезисы будут публиковаться после рассмотрения научным комитетом конгресса. Вся информация о конгрессе на сайте www.osteoporoz.ru