

© Барасий А.А., Шатова О.П.

УДК: 616-006.66

Барасий А.А., Шатова О.П.

Донецкий национальный медицинский университет имени М.Горького, кафедрахими и (пр. Ильича, 16, г. Донецк, 83003, Украина)

РОЛЬ МИКРО-РНК ПРИ РАКЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Резюме. Представлены результаты анализа функций микроРНК в норме и при опухолевом росте. Описаны многочисленные факторы, которые влияют на экспрессию микроРНК. Авторы выделяют различные онкотипы рака молочной железы (РМЖ) в зависимости от уровня экспрессии различных микроРНК. Установлено изменения уровней микроРНК при метастазировании и опухолевой прогрессии. Однозначно, изучение данной молекулы - это поиск новых целей для терапии и новые знания в понимании канцерогенеза.

Ключевые слова: микроРНК, рак молочной железы, экспрессия эстрогеновых рецепторов.

Введение

Согласно современным тенденциям медицины, много внимания уделяется генетике и в последнее десятилетие рибонуклеиновой кислоте, которая не кодирует белок - микроРНК. Первые малые РНК были описаны еще в 90-е годы XX столетия - это РНК lin-4 и let-7 (выявлены у *Caenorhabditis elegans*). На данный момент выделяют три большие группы малых РНК: 1. короткие интерферирующие РНК; 2. микроРНК (в свою очередь miR - незрелая микроРНК, а miR - зрелая микроРНК); 3. пиРНК (от Piwi-interaction RNA).

Все они вовлечены в такой феномен, как РНК-интерференция суть, которой заключается в подавлении экспрессии генов на стадии транскрипции или трансляции при активном участии малых молекул РНК [Чехун и др., 2012].

Целью работы был анализ и обобщение новой современной научной информации о функциях микроРНК в норме и при опухолевом росте.

МикроРНК - это класс малых некодирующих РНК (из 19-30 нуклеотидов), которые функционируют на посттранскрипционном уровне как регуляторы экспрессии многих генов. Приблизительно 30% генов регулируются с помощью микроРНК, тогда как гены кодирующие эти регуляторные РНК составляют не больше 1% [Чехун и др., 2012].

Образование микроРНК

Информация о структуре микроРНК кодируется интронами последовательностями. Путь образования микроРНК начинается с транскрипции обеих цепей геномной ДНК с помощью РНК полимеразы II. После чего образуется промежуточная форма - при-микроРНК, которая под действием РНКазы III (Drosha), совместно с другими факторами превращается в "шпильку" или пре-микроРНК - последовательность длиной в 70 нуклеотидов. Далее незрелая микроРНК (miR) переносится в цитоплазму экспортином-5 и под действием фермента Dicer (РНКаза III) расщепляется на короткие фрагменты, которые трансформируются в зрелые микроРНК (miR). Окончательный результат созревания микроРНК - это формирование РНК-дуплексов. Последние связываются с РНК-индуцирующей подавление комплексом (RISC) и, либо при частичной, либо при полной комплементарности расщепляют и вызывают деградацию РНК, либо

подавляют трансляцию матричной РНК (мРНК).

Функции микроРНК разнообразны и продолжают изучать. К некоторым из них относятся: регуляция экспрессии генов; влияние на апоптоз; ингибирование и стимулирование синтеза белка, в зависимости от условий и состояния клетки; влияние на миграцию и инвазию клеток; регуляция клеточного цикла.

Особенный интерес представляют исследования, посвященные участию микроРНК в канцерогенезе. Так, некоторые микроРНК: 720, 155 [Higgs, 2013], - взаимосвязаны с развитием опухоли и рака молочной железы (РМЖ) в частности. Установлено, что экспрессия микроРНК 720 снижена при метастическом РМЖ, а реэкспрессия этой же miR ингибирует клеточную инвазию и миграцию как *in vitro*, так и *in vivo*. Отмечено, что при реэкспрессии микроРНК 720 увеличиваются эпителиальные маркеры (Е-кадгерин, ?-катенин) и снижаются мезенхимальные маркеры (N-кадгерин, фибронектин, виментин и матричные металлопротеиназы (MMP-2)) в ткани опухоли молочной железы [Li et al., 2013]. Самое выраженное снижение в экспрессии микроРНК отмечается для miR125 b [Feliciano et al., 2013]. При этом установлено, что для данной микроРНК около 65 мишеней, одна из которых - эпидермальный фактор роста - HER-2/neu или CD340, определение которого является обязательным в тактике терапии онкобольных РМЖ [Fassan et al., 2013].

Также имеются данные о других мишенях микроРНК при РМЖ, такие как: ERK5 (Extracellular signal Regulated Kinase) для микроРНК 143, E2F1 (транскрипционный фактор, активатор) для микроРНК-17, CDH1(Е-кадгерин) - miR-9, AIB1 ("amplified in breast 1" или коактиватор-3 ядерных рецепторов) - 17-5p [Чехун и др., 2012].

Было выделено 4 субгруппы онкотипа РМЖ - BRCA, которые отличаются специфическими микроРНК: 1. "подобная норме" BRCA-A; 2. "пролиферативная" BRCA-B; 3. "подобная BRCA1/2" BRCA-C; 4. "неопределенная (недифференцированная)" BRCA-D [Rinaldis et al., 2013].

Выявлено, что регулирование (HMGB3 - High-mobility group protein B3) микроРНК 205 снижает деление и метастазирование опухолевых клеток при РМЖ [Tanic et al., 2013; Kane et al., 2014]. Гиперэкспрессия микроРНК

205 (её мишень p73) в p73 предотвращает возникновение резистентности в метастатических клетках, увеличивая апоптоз и снижая опухолевый рост *in vivo* (через Bcl-2 и АТФ-связанные кассетные транспортеры A2 (ABCA2) и A5 (ABCA5)) [Elgamal et al., 2013].

При исследовании доброкачественных (фиброаденома, фиброаденоматоз) опухолей и РМЖ были определены микроРНК, которые влияют на пролиферацию опухолевых клеток: являясь супрессорами опухолевого роста (193b, 193a-3p, 126, 134, 132, 486-5p, 886-3p, 195, 497, 143), а также, онкогенами (21,155, 17, 9, let7) (дерегулирование экспрессии в злокачественных и доброкачественных опухолях) [Чехун и др., 2012].

Интересно, что существуют микроРНК, устойчивые к действию РНКазы А, а также в литературе описаны везикул-ассоциированные микроРНК [Brest et al., 2011].

Гистон-деацетилазные ингибиторы (трихостатин-А и вориностат) индуцируют гиперэкспрессию микроРНК 129-5p, кроме того, данная микроРНК усиливает антипролиферативный эффект химиотерапии (в исследовании использовали этопозид или HAMLET) в первичной культуре раковых клеток [Chen et al., 2014].

Авторами описаны микроРНК, которые могут выступать защитными факторами и снижать риск развития РМЖ. Так, в одном из исследований установлена эндемичная разница показано, что для азиатов это микроРНК 196a-2, 499, 605, а для кавказцев это микроРНК 27a [Huang et al., 2013].

Гомологическая рекомбинация опосредует безошибочную репарацию ДНК после поломок двойной нити. МикроРНК 103/107 вовлечена в процесс восстановления ДНК вместе с RAD51 и BRCA1, контролирует клеточный цикл, а именно переход из фазы G1 в M-фазу (циклин В) [Luo et al., 2013]. Кроме этого, гиперэкспрессия микроРНК-497 ингибирует клеточный рост, является супрессором клеточной миграции и инвазии, а также ингибирует G1- клеточный цикл (циклин E1 - это мишень для микроРНК 497) [Chu et al., 2014].

Известно, что ключевую роль в патогенезе РМЖ играет гиперэстрогемия. Авторами установлено, что гиперэкспрессия микроРНК обусловлена регуляторным влиянием эстрогеновых рецепторов (ЭР) альфа, которые в свою очередь взаимосвязаны со специфической протеазой, а данное влияние приводит к снижению метастазирования при РМЖ. Установлено, что 17-бета

эстрадиол связан с экспрессией микроРНК 190a [Rinaldis et al., 2013]. Также установлена роль микроРНК 17-92 и 106b-25 при негативном рецепторном статусе (triple-negative) РМЖ [Wang et al., 2013].

Кроме того, показано, что микроРНК 21 является потенциальной мишенью для иммунотерапии опухолей, так как ингибирование микроРНК 21 приводит к увеличению высвобождения хемоаттрактантов, что в свою очередь увеличивает миграцию лимфоцитов [Brest et al., 2011].

МикроРНК имеют важную роль в развитии резистентности к химиопрепаратам [Brest et al., 2011]. Авторами изучено 183 микроРНК в 2-х клеточных линиях (MCF-7/Адриамицин и MCF-7/Доцетаксель) и показано, что две микроРНК: 222 и 29a, вовлечены в развитие резистентности к противоопухолевым препаратам, что объясняют возможным влиянием на регуляцию экспрессии PTEN (phosphatase and tensin homolog) [Zhao et al., 2013]. Данный фактор (PTEN) выполняет роль опухолевого супрессора и участвует в регуляции клеточного цикла [Zhong et al., 2013].

Описано влияние маммография на экспрессию микроРНК, так микроРНК 34a в MCF-10A (нормальные клетки молочной железы) и MCF-7 (опухолевые клетки молочной железы) клеточных линиях: через 4 часа после облучения (при низкой дозе) увеличивались в обеих клеточных линиях, однако более выражено в неопухолевых клетках, а через 24 часа после облучения уровень микроРНК 34a снижался во всех линиях. Таким образом, был сделан вывод, что экспрессия микроРНК 34a коррелирует с дозой облучения, временем после облучения и типом клеток [Zhao et al., 2013]. МикроРНК 34a ингибирует пролиферацию клеток через мишень LMTK3 (lemur tyrosine kinase 3), и может быть использован, как анти ЭР - альфа препарат в терапии РМЖ [Zhao et al., 2013].

Выводы и перспективы дальнейших разработок

Таким образом, установлено изменения уровней микроРНК при метастазировании и опухолевой прогрессии.

Изучение в дальнейшем микроРНК - это поиск новых целей для терапии и новые знания в понимании канцерогенеза.

Список литературы

- Чехун В.Ф. Микро-РНК би опухолевый процесс /В.Ф.Чехун, Н.В.Бородай, О.В.Юрченко //Онкология.- 2012.- Т.15, №2.- С.136-140.
- A novel estrogen receptor-microRNA 190a-PAR-1-pathway regulates breast cancer progression, a finding initially suggested by genome-wide analysis of loci associated with lymph-node metastasis /H.Chu, C.Cheng, W.Chou [et al.] //Hum. Mol. Genet.- 2014.- Vol.23(2).- P.355-367.
- Chen Q. Ethnicity modifies the association between functional microRNA polymorphisms and breast cancer risk: a HuGE meta-analysis /Q.Chen, Q.Wang, B.Zhang //Tumour Biol.- 2014.- Vol.35(1).- P.529-543.
- Concise Review: MicroRNAs as Modulators of Stem Cells and Angiogenesis /N.Kane, A.Thrasher, G.Angelini [et al.] //Stem Cells.- 2014.- Vol.32(5).- P.1059-1066.
- Higgs G. The multiple roles of microRNA-155 in oncogenesis /G.Higgs, F.Slack //J. Clin. Bioinforma.- 2013.- Vol.3(1).- P.17.
- Integrated genomic analysis of triple-negative breast cancers reveals novel microRNAs associated with clinical and molecular phenotypes and sheds light on the pathways they control /E. de Rinaldis, P.Gazinska, A.Mera [et al.] //BMC Genomics.- 2013.- Vol.14.- P.643.
- MiRNA-21 inhibition enhances RANTES

- and IP-10 release in MCF-7 via PIAS3 and STAT3 signalling and causes increased lymphocyte migration / Z.Wang, J.Han, Y.Cui [et al.] // Biochem. Biophys. Res. Commun.- 2013.- Vol.439 (3).- P.384-349.
- MicroRNA-34a Suppresses Cell Proliferation by Targeting LMTK3 in Human Breast Cancer MCF-7 Cell Line /G.Zhao, J.Guo, D.Li //DNA Cell Biol.- 2013.- Vol.32 (12).- P.699-707.
- MiR-125b acts as a tumor suppressor in breast tumorigenesis via its novel direct targets ENPEP, CK2-?, CCNJ, and MEGF9 /A.Feliciano A.J.Castellvi, A.Artero-Castro [et al.] //PLoS One.- 2013.- Vol.8(10).- P.76247.
- MiR-129-5p is required for histone deacetylase inhibitor-induced cell death in thyroid cancer cells /P.Brest, S.Lassalle, V.Hofman [et al.] // Endocrine - Related Cancer.- 2011.- Vol.18(6).- P.711-719.
- MiRNA-497 regulates cell growth and invasion by targeting cyclin E1 in breast cancer /Q.Luo, X.Li, Y.Gao [et al.] // Cancer Cell Int.- 2013.- Vol.13(1).- P.95.
- MiR-720 inhibits tumor invasion and migration in breast cancer by targeting TWIST1 /L.Z.Li, C.Z.Zhang, L.L.Liu [et al.] //Carcinogenesis.- 2013.- Vol.35 (2).- P.469-478.
- Systematic Screen Identifies miRNAs That Target RAD51 and RAD51D to Enhance Chemosensitivity /J.Huang, Y.Wang, K.Dhillon [et al.] //Mol Cancer Res.- 2013.- Vol.11(12).- P.1564-1573.
- The HER2-miR125a5p/miR125b loop in gastric and esophageal carcinogenesis /M.Fassan, M.Pizzi, S.Realdon //Hum Pathol.- 2013.- Vol.44(9).- P.1804-1810.
- Tumor suppressive function of mir-205 in breast cancer is linked to HMGB3 regulation /O.Elgamal, J.Park, Y.Gusev [et al.] //PLoS One.- 2013.- Vol.8(10).- P.76402.
- MiR-222 and miR-29a contribute to the drug-resistance of breast cancer cells / S.Zhong,W.Li, Z.Chen [et al.] //Gene.- 2013.- Vol.531 (1).- P.8-14.
- The microRNA-based molecular classification of non-BRCA1/2 hereditary breast tumours /M.Tanic, E.Andrys, S.Rodriguez-Pinilla [et al.] //Br. J. Cancer.- 2013.- Vol.109(10).- P.2724-2734.

Барасій А.А., Шатова О.П.

РОЛЬ МІКРО-РНК ПРИ РАКУ МОЛОЧНОЇ ЗАЛОЗИ

Резюме. Представлені результати аналізу функцій мікроРНК в нормі і при пухлинному рості. Описано численні фактори, які впливають на експресію мікроРНК. Автори виділяють різні онкотипи раку молочної залози (РМЗ) залежно від рівня експресії різних мікроРНК. Встановлено зміни рівнів мікроРНК при метастазуванні та пухлинній прогресії. Безумовно, вивчення даної молекули - це пошук нових цілей для терапії та нові знання в розумінні канцерогенезу.

Ключові слова: мікроРНК, рак молочної залози, експресія естрогенових рецепторів.

Barasii A.A., Shatova O.P.

ROLE OF MICRO-RNA WITH BREAST CANCER

Summary. The results of the function analysis of miRNAs in normal and tumor growth are presented. There are numerous factors that affect the expression of micro-RNAs. The authors identify various oncotypes of breast cancer (BC) depending on the level expression different micro-RNAs. They represented the change in the levels of microRNA in tumor progression and metastasis. Definitely, the study of this molecule is a search for new targets for therapy and new knowledge in the understanding of carcinogenesis.

Key words: micro-RNA, breast cancer, estrogen receptor expression.

Статья поступила в редакцию 29.04.2014 г.

Барасій Анастасія Андріївна - студентка 6 курсу Донецького національного медичного університету ім. М. Горького; +38 095 064-04-33; barasii91@mail.ru

Шатова Ольга Петрівна - к. мед. н., доцент кафедр хімії Донецького національного медичного університету ім. М. Горького; shatova.op@gmail.com

© Заїчко Н.В., Юрченко П.О., Мельник А.В., Штатсько О.І.

УДК: 547.436: 616.833

Заїчко Н.В., Юрченко П.О., Мельник А.В., Штатсько О.І.

Вінницький національний медичний університет імені М.І.Пирогова МОЗ України, кафедра біологічної та загальної хімії (вул. Пирогова, 56, Вінниця, Україна, 21018)

БІОХІМІЧНІ АСПЕКТИ НЕЙРОТОКСИЧНОЇ ДІЇ ГІПЕРГОМОЦИСТЕЇНЕМІЇ

Резюме. Гіпергомоцистеїнемія (ГГЦ) асоціюється з розвитком нейроваскулярних, нейродегенеративних та психічних захворювань. Нейротоксична дія ГГЦ опосередковується через активацію іонотропних та метаболічних глутаматних рецепторів, оксидативний стрес, гіпометилування, модифікацію протеїнів, порушення нейромедіаторного та нуклеотидного обміну, розлади епігенетичної регуляції в тканинах мозку. Нейротоксичний ефект ГГЦ може реалізуватись через порушення обміну гідрогенсульфіду (біологічно-активного метаболіту гомоцистеїну) в тканинах мозку, що є перспективним напрямком подальших досліджень.

Ключові слова: гомоцистеїн, гіпергомоцистеїнемія, гідрогенсульфід, мозок, нейротоксичність.

Гіпергомоцистеїнемію (ГГЦ) розглядають як незалежний фактор ризику нейроваскулярних та нейродегенеративних захворювань - церебральної мікроангіопатії, інсультів, судинної деменції, хвороби Альцгеймера, хвороби Паркінсона, когнітивних розладів, депресії [Пентюк та ін., 2003; Herrmann, Obeid, 2011; Petras et al., 2014;

Kwon et al., 2014]. Питання чи є високий рівень гомоцистеїну (ГЦ) патогенетичним чинником, чи лише маркером неврологічної патології і досі залишається дискусійним [Herrmann, Obeid, 2011]. З одного боку, чисельні експериментальні дослідження in vitro та in vivo переконливо свідчать про нейротоксичну дію високих