БИОХИМИЯ, 2023, том 88, вып. 6, с. 913 – 932

УДК 577.218;577.29

РОЛЬ микроРНК В РЕГУЛЯЦИИ КЛЕТОЧНОГО ОТВЕТА НА ГИПОКСИЮ

Обзор

© 2023 М.В. Силина[1]*, Д.Ш. Джалилова[1], О.В. Макарова[1,2]

[1] *ФГБНУ «РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского», НИИ морфологии человека им. акад. А.П. Авцына, 117418 Москва, Россия; электронная почта: marusyasilina99@yandex.ru*

[2] *Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, биологический факультет, 119234 Москва, Россия*

Поступила в редакцию 20.02.2023
После доработки 13.04.2023
Принята к публикации 13.04.2023

Воздействие гипоксии вызывает изменения транскрипции генов, способствующих адаптации клеток к недостатку кислорода. Основным механизмом, регулирующим клеточный ответ на гипоксию, является активация группы транскрипционных индуцируемых гипоксией факторов семейства HIF, включающих несколько изоформ и контролирующих экспрессию более тысячи генов. Активность HIF регулируется на разных уровнях, в том числе с помощью молекул малых некодирующих РНК, называемых микроРНК (мкРНК). При этом мкРНК осуществляют регуляцию клеточного ответа на гипоксию путем влияния на активацию HIF, его деградацию и на трансляцию зависимых от него белков. В то же время HIF также оказывает влияние на биогенез мкРНК. Данные по взаимосвязи той или иной изоформы HIF с мкРНК противоречивы, поскольку исследования выполняются с использованием разных клеточных линий, разных видов экспериментальных животных и клинического материала, а также при разной концентрации кислорода и разной длительности гипоксического воздействия. Кроме того, на экспрессию HIF может влиять исходная устойчивость организмов к недостатку кислорода, что не учитывается при проведении исследований. В настоящем обзоре проанализированы данные о влиянии гипоксии на биогенез и функционирование мкРНК, а также действие самих мкРНК на мРНК генов, участвующих в адаптации к недостатку кислорода. Понимание механизмов взаимосвязи HIF, гипоксии и мкРНК необходимо для разработки новых подходов к персонализированной терапии заболеваний, сопровождающихся недостатком кислорода.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: гипоксия, микроРНК, HIF.

DOI: 10.31857/S0320972523060039, **EDN:** EEEYGM

ВВЕДЕНИЕ

Гипоксия является одним из основных факторов, регулирующих функциональное состояние организма в физиологических условиях, при стрессорных воздействиях, адаптации и различных заболеваниях. Главную роль в реакции на дефицит кислорода играют транскрипционные индуцируемые гипоксией факторы семейства HIF (Hypoxia-Inducible Factor). Экспрессия кислородзависимой субъединицы HIF-α регулируется главным образом посредством гидроксилирования, отсутствие которого в условиях гипоксии приводит к образованию комплекса с субъединицей HIF-β в ядре [1]. Это ведет к активации экспрессии генов, регулирующих ангиогенез, метаболизм глюкозы и железа – фактора роста эндотелия сосудов (*VEGF*), эритропоэтина (*EPO*), переносчика глюкозы *GLUT1* и др. [2–4].

Принятые сокращения: мкРНК – микроРНК; ЛПС – липополисахарид; AGO – белки семейства Argonaute; CTAD – *C*-концевой домен трансактивации; FIH – фактор, ингибирующий HIF; HIF – индуцируемый гипоксией фактор; HREs – отвечающие на гипоксию элементы; HUVEC – эндотелиальные клетки пупочной вены человека; mTOR – мишень рапамицина у млекопитающих; NF-κB – ядерный фактор «каппа би»; NTAD – *N*-концевой домен трансактивации; ODDD – домен кислород-зависимой деградации; PHDs – пролилгидроксилазы; pVHL – белок-онкосупрессор фон Гиппеля–Линдау; VEGF – фактор роста эндотелия сосудов; RISC – RNA-Induced Silencing Complex.

* Адресат для корреспонденции.

Гипоксия и активация HIF взаимосвязаны с увеличением активности ядерного фактора «каппа би» (NF-κB), регулирующего воспалительные процессы [5]. Показано, что существуют индивидуальные различия в реакции на гипоксическое воздействие, во многом обусловленные разным уровнем HIF [6–8]. Организмы с разной устойчивостью к гипоксии отличаются по тяжести течения ряда воспалительных заболеваний, в частности, системного воспалительного ответа и язвенного колита [9–12].

В регуляции функционирования HIF и ответа на гипоксическое воздействие принимают участие микроРНК (мкРНК) – малые некодирующие молекулы РНК, состоящие из 18–25 нуклеотидов (наиболее часто встречаются 22), участвующие в регуляции экспрессии генов путем остановки трансляции или разрушения мРНК. МкРНК обнаружены у растений, животных и даже некоторых вирусов, а их последовательности локализуются либо внутри интронов, либо в экзонах некодирующих РНК [13]. Одновременно они способны регулировать большое количество мРНК-мишеней и, таким образом, влиять на активацию сразу нескольких сигнальных путей, контролирующих синтез белков. Определению роли конкретных мкРНК в регуляции клеточного ответа на гипоксию посвящено множество работ последних лет, однако в них не учитывается индивидуальная исходная устойчивость организма к гипоксии. В настоящем обзоре систематизированы данные о роли мкРНК в реакции организма на недостаток кислорода, а также о влиянии гипоксии на биогенез и функционирование мкРНК. Кроме того, обсуждается роль мкРНК в воспалительных заболеваниях, таких как системный воспалительный ответ и язвенный колит, с учетом индивидуальной устойчивости к гипоксии.

HIF

Структура молекул HIF. В настоящее время у млекопитающих охарактеризованы 3 изоформы HIF-α – HIF-1α, HIF-2α, HIF-3α и белок HIF-1β. Для регуляции транскрипции зависимых от HIF генов α- и β-субъединицы образуют гетеродимер [14]. Особенностью белков HIF-α и HIF-β является наличие *N*-концевого ДНК-связывающего домена, содержащего мотив «спираль-петля-спираль» перед PAS-доменом (Per-Arnt-Sim) [15]. Помимо этого, HIF-α имеет домен кислород-зависимой деградации (Oxygen Dependent Degradation Domain, ODDD), *N*-концевой домен трансактивации (N-Terminal Transactivation

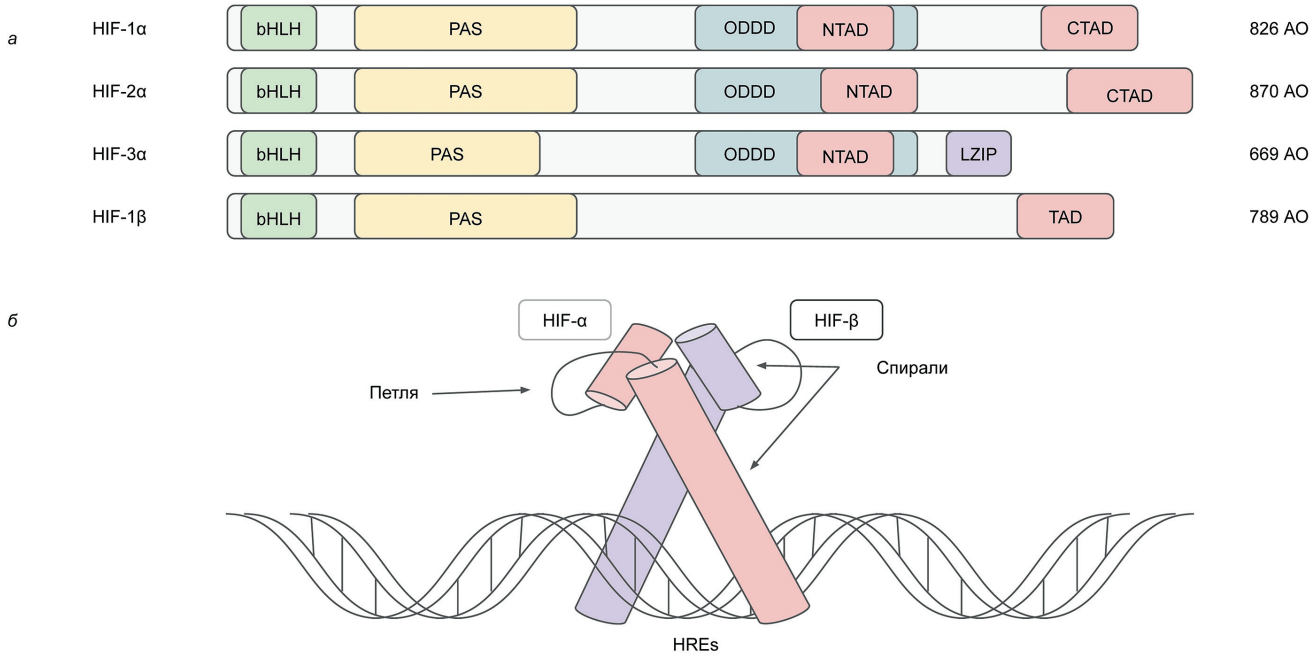

Рис. 1. *а* – Доменная структура изоформ HIF-1α, HIF-2α, HIF-3α и белка HIF-1β. *б* – Димеризация субъединиц HIF-α и HIF-β и взаимодействие их ДНК-связывающих доменов с HREs. В этих доменах каждая из субъединиц HIF имеет 2 спирали и петлю между ними. Одна из спиралей содержит ДНК-связывающую область, а другая необходима для осуществления гетеродимеризации. АО – аминокислотные остатки; bHLH – мотив «спираль-петля-спираль»; PAS – домен Per-Arnt-Sim; ODDD – домен кислород-зависимой деградации; NTAD – *N*-концевой домен трансактивации; CTAD – *C*-концевой домен трансактивации; TAD – домен трансактивации; LZIP – домен типа «лейциновая молния»; HREs – элементы ДНК, отвечающие на гипоксию

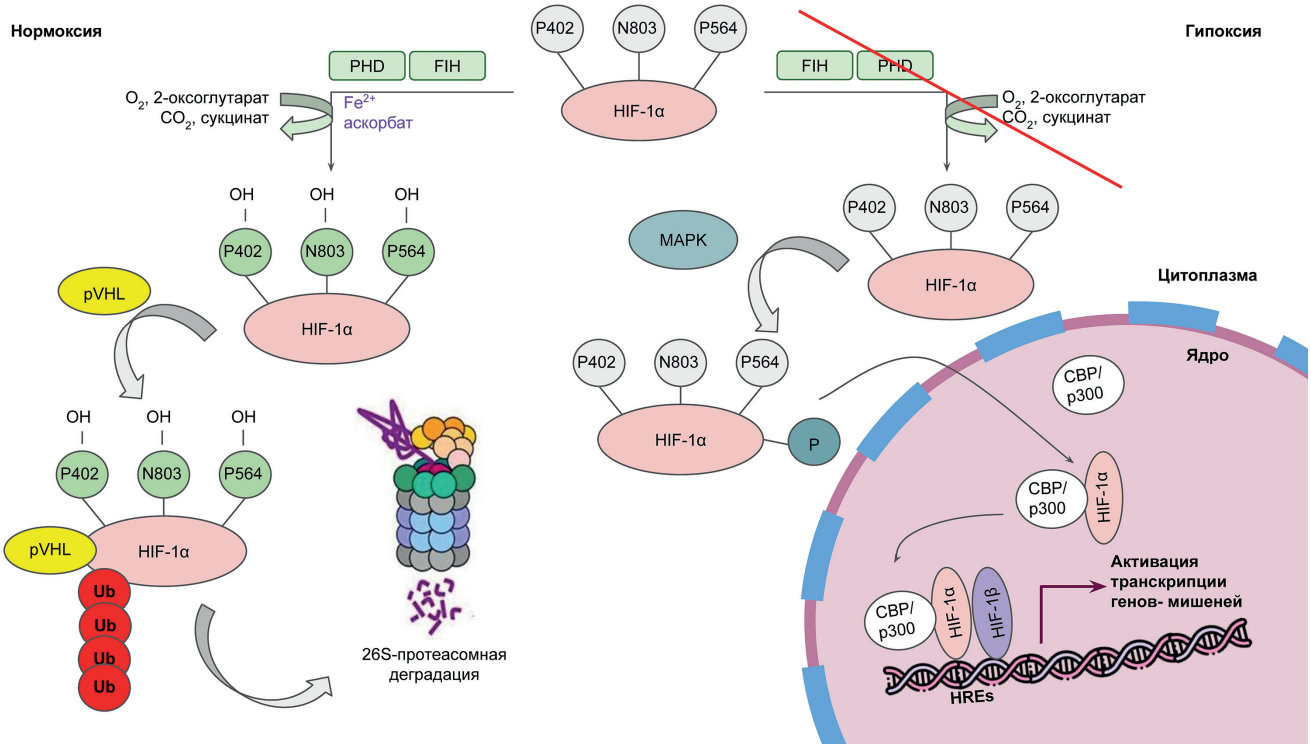

Рис. 2. Кислородзависимая регуляция стабилизации и трансактивации HIF-1α. В условиях нормоксии PHDs осуществляют гидроксилирование HIF-1α по пролину в положениях 402 и 564, а FIH – по аспарагину в положении 803. В условиях гипоксии происходит фосфорилирование и транслокация в ядро негидроксилированной субъединицы HIF-1α. PHD – пролилгидроксилаза; FIH – фактор, ингибирующий HIF; pVHL – белок-онкосупрессор фон Гиппеля-Линдау; Ub – убиквитин; MAPK – митоген-активируемая протеинкиназа; CBP/p300 – CREB (cAMP-Response Element-Binding protein)-Binding Protein/E1A Binding Protein p300; HREs – элементы ДНК, отвечающие на гипоксию

Domain, NTAD) и *C*-концевой домен трансактивации (C-Terminal Transactivation Domain, CTAD) [14]. Каждый из этих доменов необходим для димеризации субъединиц HIF и связывания с отвечающими на гипоксию элементами ДНК (Hypoxia Response Elements, HREs), активации и взаимодействия с коактиваторами транскрипции [16–18] (рис. 1).

Регуляция активности HIF. При нормоксии субъединица HIF-α подвергается гидроксилированию по остаткам пролина в ODDD с участием пролилгидроксилаз (PHDs) (рис. 2). В качестве субстрата и косубстрата реакции используются кислород и 2-оксоглутарат, а в качестве кофакторов – аскорбат и ионы железа [19]. Далее гидроксилированная субъединица HIF-α подвергается 26S-протеасомной деградации при участии белка-онкосупрессора фон Гиппеля–Линдау (pVHL) [20]. Также гидроксилирование может осуществляться по остаткам аспарагина в CTAD с участием другой гидроксилазы – фактора FIH (Factor Inhibiting HIF), ингибирующего HIF. В этом случае нарушается взаимодействие HIF-α с коактиватором CBP/p300 (CREB (cAMP-Response Element-Binding protein)-Binding Protein/E1A Binding Protein p300) [14].

В условиях недостатка кислорода, который является субстратом для PHDs и FIH, гидроксилирования не происходит. В результате субъединица HIF-α стабилизируется за счет фосфорилирования при участии протеинкиназы p38 Mitogen-Activated Protein Kinases (p38-MAPK), транслоцируется в ядро и гетеродимеризуется с HIF-1β. Образующийся комплекс, в свою очередь, активирует гены-мишени путем связывания с HREs [19, 21, 22].

В ряде работ показано, что при воспалительных и опухолевых процессах повышается экспрессия мРНК и стабилизируется белок HIF-α. Воспалительные процессы регулируются ядерным фактором NF-κB [5, 23–26] на транскрипционном и трансляционном уровнях, в то время как катаболические процессы, в т.ч. аутофагия, зависят от активности протеинкиназы mTOR (mammalian Target Of Rapamycin) [27–29], являющейся мишенью рапамицина у млекопитающих.

На мышах с дефицитом β-киназы IκB (IKKβ) показано, что при гипоксическом воздействии ($8 \pm 0{,}1\%$ O_2) в течение 24 ч происходит активация NF-κB, что приводит к увеличению экспрессии мРНК *HIF-1a* благодаря наличию сайта связывания NF-κB в промоторе

этого гена [5]. Эти два транскрипционных фактора взаимосвязаны, поскольку экспрессия NF-κB активируется при низкой концентрации кислорода, подобно HIF-1α. При нормоксии с помощью PHD1 происходит гидроксилирование субъединицы IKKβ, что приводит к ее убиквитинированию при участии pVHL [30]. При длительной гипоксии происходит инактивация PHD1, что приводит к увеличению активности IKKβ, деградации ингибитора α-субъединицы NF-κB (IκBα) и повышению экспрессии NF-κB [31]. После синтеза белка NF-κB он транслоцируется в ядро, где, взаимодействуя с сайтом связывания в гене *HIF1A*, увеличивает его экспрессию [5]. В последующем происходит транскрипция генов, индуцированных гипоксией, а также некоторых генов, кодирующих провоспалительные белки. Лимитирующим фактором при активации путей NF-κB и HIF является коактиватор CBP/p300, за который конкурируют оба транскрипционных фактора [32].

Другой путь, влияющий на синтез белка HIF-α, опосредован серин/треониновой протеинкиназой mTOR. Она имеет большое количество мишеней и, соответственно, функций, среди которых участие в метаболизме глюкозы, особенно в условиях гипоксии и связанных с ней патологических состояний, таких как канцерогенез. mTOR активирует HIF-1α, что стимулирует экспрессию гликолитических ферментов и способствует переключению метаболизма углеводов с окислительного фосфорилирования на гликолиз [33]. Белок mTOR осуществляет активацию транскрипции мРНК зависимых генов за счет фосфорилирования эукариотического фактора инициации 4E-связывающего белка 1 (4E-BP1) и рибосомальной S6-киназы (S6K) [34]. На эндотелиальных клетках пупочной вены человека (HUVEC) и линии опухолевых клеток HeLa было показано, что уровни экспрессии HIF-1α и HIF-2α увеличиваются путем активации сигнального пути mTOR [35], что доказывает его регуляторную роль для HIF-1α и HIF-2α.

Помимо канонического кислородзависимого пути регуляции, существуют дополнительные механизмы, контролирующие реакцию на гипоксическое воздействие, одним из которых является РНК-интерференция при участии мкРНК [36]. Действие мкРНК позволяет клеткам быстро реагировать на изменение условий среды благодаря небольшому размеру, высокой скорости синтеза и быстрому «включению» и «выключению» трансляции мРНК-мишеней [37]. Понимание регуляторных механизмов, участвующих в адаптации организма к дефициту кислорода, имеет важное значение, поскольку гипоксия играет ключевую регуляторную роль в механизмах воспалительных, сердечно-сосудистых и опухолевых заболеваний.

Изоформы HIF-α. Экспрессия изоформ HIF зависит от видов тканей и клеток и периода онтогенеза. Так, HIF-1α участвует в эмбриональном развитии млекопитающих в качестве регулятора метаболизма, поэтому в этот период онтогенеза он локализован во всех клетках и тканях [38]. HIF-2α имеет более селективное распределение и экспрессируется преимущественно в эндотелиальных клетках, клетках глии, пневмоцитах типа II, кардиомиоцитах и фибробластах [39].

Активация изоформ HIF зависит от длительности гипоксического воздействия. На различных клеточных линиях человека показано, что HIF-1α регулирует ответ на острый недостаток кислорода (инкубация клеток менее 2 ч при концентрации O_2, равной 0,5%), а HIF-2α – на длительный (инкубация клеток более 14 ч при концентрации O_2, равной 0,5%). Регуляция переключения HIF-1α и HIF-2α при реализации ответа на недостаток кислорода во многом зависит от активности гидроксилаз. Показано, что PHD2 имеет большее сродство к HIF-1α, а PHD3 – к HIF-2α [40], при этом сам HIF-2α гидроксилируется как PHDs, так и FIH менее эффективно, что приводит к стабилизации данной изоформы в условиях высокого содержания кислорода [41].

При исследовании первичной аминокислотной последовательности между изоформами HIF-1α и HIF-2α была обнаружена гомология, которая составила 48% [42]. Однако HIF-2α распределен в ядре в зонах активности РНК-полимеразы, что обеспечивает лучший доступ к промоторам генов-мишеней, в отличие от HIF-1α, который равномерно распределен в ядре [43]. Более того, изоформа HIF-2α имеет бóльшие размеры и ряд специфических мишеней для регуляции транскрипции и трансляции этой молекулы [42].

HIF-3α является наименее изученной изоформой и имеет несколько разных вариантов, образующихся в процессе альтернативного сплайсинга. Ген *HIF3A* человека имеет 19 предсказанных вариантов, однако установлено, что белок-кодирующими являются лишь 8 – HIF-3α1, HIF-3α2, HIF-3α3, HIF-3α4, HIF-3α5, HIF-3α7, HIF-3α8 и HIF-3α9 [44]. Выявлены значительные различия в уровнях экспрессии и тканеспецифичности вариантов HIF-3α [45]. Варианты транскриптов HIF-3α обнаружены в различных органеллах клеток и в тканях сердца, головного мозга, плаценты, легких, печени, почек, поджелудочной железы, скелетных

Таблица 1. Особенности структуры, локализации, регуляции, функций и экспрессии изоформ HIF-α

HIF-1α	HIF-2α	HIF-3α
Структура		
826 а.о.; имеются ДНК-связывающий домен, домены PAS, ODDD (содержит 2 остатка пролина), NTAD, CTAD (содержит 1 остаток аспарагина) [14, 15]	870 а.о.; имеются ДНК-связывающий домен, домены PAS, ODDD (содержит 2 остатка пролина), NTAD, CTAD (содержит 1 остаток аспарагина) [14, 15]	669 а.о.; имеются ДНК-связывающий домен, домены PAS, ODDD (содержит 1 остаток пролина), NTAD, LZIP [46, 47]; выявлено 8 белок-кодирующих сплайс-вариантов [44]
Локализация		
экспрессируется во всех клетках и тканях [38]; равномерно распределен в ядре клетки [43]	экспрессируется преимущественно в эндотелиальных клетках, клетках глии, пневмоцитах типа II, кардиомиоцитах и фибробластах [39]; в ядре клетки локализуется в зонах активности РНК-полимеразы [43]	экспрессируется в различных органеллах клеток и в тканях сердца, головного мозга, плаценты, легких, печени, почек, поджелудочной железы, скелетных мышц и хрящей [46]
Регуляция		
в условиях нормоксии осуществляется гидроксилирование по 2 остаткам пролина в ODDD и по 1 остатку аспарагина – в CTAD, что приводит к 26S-протеасомной деградации [19, 20]; в условиях гипоксии осуществляется фосфорилирование, транслокация в ядро, гетеродимеризация с субъединицей HIF-1β, распознавание HREs и активация транскрипции зависимых генов [19, 21, 22]	в условиях нормоксии осуществляется гидроксилирование по 2 остаткам пролина в ODDD и по 1 остатку аспарагина – в CTAD, что приводит к 26S-протеасомной деградации [19, 20]; в условиях гипоксии осуществляется фосфорилирование, транслокация в ядро, гетеродимеризация с субъединицей HIF-1β, распознавание HREs и активация транскрипции зависимых генов [19, 21, 22]	в условиях нормоксии осуществляется гидроксилирование по 1 остатку пролина в ODDD, чего недостаточно для 26S-протеасомной деградации, поэтому белок медленно накапливается в клетке [47]; в условиях гипоксии продолжает накапливаться и реализует свой эффект при длительном гипоксическом воздействии [53]
Функции		
активация транскрипции генов *VEGFA* и переносчика глюкозы 1 [48], генов, кодирующих ферменты гликолиза, некоторых проангиогенных генов, генов, регулирующих pH [49]; играет роль в передаче сигналов от рецептора инсулина, передаче сигналов MAPK и метаболизме инозитолфосфата [55]	активация транскрипции генов *VEGFA* и переносчика глюкозы 1 [48], генов, кодирующих матриксные металлопротеиназы, гена эритропоэтина [50]	негативный регулятор изоформ HIF-1α и HIF-2α (нарушает транслокацию в ядро и последующую активацию транскрипции зависимых генов) [52]; усиливает экспрессию генов, участвующих в метаболизме глюкозы и аминокислот, апоптозе, протеолизе, передаче сигналов онкосупрессорного белка p53 и рецепторов PPAR; усиливает экспрессию генов в сигнальных путях Jak-STAT и рецепторов NLR [55]
Экспрессия относительно времени гипоксического воздействия		
экспрессия увеличивается при кратковременной гипоксии (менее 2 ч) или в первые часы длительного гипоксического воздействия [40, 41]	экспрессия увеличивается при длительном гипоксическом воздействии (более 14 ч) [40, 41]	экспрессия увеличивается при длительном гипоксическом воздействии и влияет на переключение изоформ HIF-1α и HIF-2α [52]

мышц и хрящей. Также показано, что у человека в антенатальном периоде активно экспрессируется вариант HIF-3α4, в то время как в постнатальном периоде экспрессия всех вариантов HIF-3α была выше, а преобладал вариант HIF-3α7 [46]. Варианты HIF-3α имеют некоторые структурные особенности по сравнению с HIF-1α и HIF-2α. В отличие от HIF-1α и HIF-2α, изоформа HIF-3α в ODDD имеет только 1 остаток пролина, который подвергается гидроксилированию, однако этого недостаточно для рекрутирования pVHL. Поэтому в условиях нормоксии не происходит протеасомной деградации HIF-3α [47]. Также варианты HIF-3α имеют домен типа «лейциновая молния» (LZIP), участвующий в реализации белок-белковых взаимодействий, отличающихся от тех, которые осуществляются HIF-1α и HIF-2α [46]. Еще одним отличием от HIF-1α и HIF-2α является то, что гидроксилирование, опосредованное FIH, вероятнее всего, не играет роли в регуляции HIF-3α, так как в нем отсутствует CTAD, содержащий аспарагин в изоформах HIF-1α и HIF-2α [45].

Изоформы HIF характеризуются функциональными различиями. В условиях гипоксии HIF-1α и HIF-2α связываются с одним и тем же HIF-1β. При этом HIF-1α и HIF-2α имеют как уникальные, так и схожие гены-мишени [14, 15]. Общие мишени представлены генами *VEGFA* и переносчика глюкозы 1 [48]. HIF-1α также индуцирует экспрессию генов, кодирующих ферменты гликолиза, некоторых проангиогенных генов и генов, регулирующих pH [49]. HIF-2α стимулирует экспрессию генов, кодирующих матриксные металлопротеиназы, и гена эритропоэтина [50]. Показано, что HIF-1α регулирует начальные этапы ангиогенеза, а заключительные стадии ремоделирования и стабилизации сосудистой сети контролирует HIF-2α [51]. HIF-3α, в свою очередь, может играть разные и даже противоположные роли в регуляции экспрессии зависимых генов благодаря разнообразию вариантов. В работе Heikkilä et al. [52] были получены данные о взаимодействии HIF-3α с HIF-1α и HIF-2α. Показано, что взаимодействие любого из транскриптов HIF-3α и HIF-1α приводит к нарушению транслокации обеих этих изоформ в ядро и последующему ингибированию транскрипции зависимых генов. Тот же эффект описан для взаимодействия HIF-3α и HIF-2α, однако, по результатам коиммунопреципитации, взаимодействие с изоформой HIF-1α было намного сильнее. Таким образом, HIF-3α выступает в роли негативного регулятора для изоформ HIF-1α и HIF-2α [52]. Соответственно, активация HIF-3α представляет собой петлю отрицательной обратной связи, что позволяет в условиях недостатка кислорода регулировать функциональное состояние клеток и организма в целом [45]. Поэтому варианты HIF-3α, действующие как негативные регуляторы изоформ HIF-1α и HIF-2α, должны быть своевременно активированы для адаптации клеток к условиям среды, что реализуется за счет действия мкРНК [53].

Однако некоторые варианты HIF-3α имеют функции, частично перекрывающиеся с функциями HIF-1α, что может свидетельствовать о том, что HIF-3α – это не только негативный регулятор [54]. Показано, что как HIF-3α, так и HIF-1α могут повышать экспрессию генов, участвующих в метаболизме глюкозы и аминокислот, апоптозе, протеолизе, передаче сигналов онкосупрессорного белка p53 и рецепторов PPAR (Peroxisome Proliferator-Activated Receptor). HIF-3α, но не HIF-1α, увеличивает экспрессию генов сигнальных путей Jak-STAT (Janus kinase-Signal Transducer and Activator of Transcription) и рецепторов NLR (Nucleotide oligomerization domain (NOD)-Like Receptors). В отличие от HIF-3α, HIF-1α способен активировать ген *VEGFA*, передачу сигналов от рецептора инсулина, сигналы MAPK и метаболизм инозитолфосфата [55]. Необходимо проведение дальнейших исследований, посвященных регуляторной роли различных изоформ HIF в адаптации к условиям недостатка кислорода и эффектов, к которым приводит их взаимодействие.

В работе Jaskiewicz et al. [56] показано, что в эндотелиальных клетках человека в ответ на длительную гипоксию (48 ч при 0,9% O_2) повышается содержание HIF-3α2, что сопровождается накоплением каспазы-3/7. Однако молекулярные механизмы индукции гипоксической гибели клеток HIF-3α не известны [56]. Обобщенная информация об особенностях разных изоформ HIF-α представлена в табл. 1.

Следует отметить, что переключение активности изоформ HIF сопровождается изменением уровней мкРНК, в т.ч. miR-210, что будет подробнее обсуждаться ниже [57].

мкРНК – БИОГЕНЕЗ, МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ, ВЛИЯНИЕ HIF

Биогенез и механизм действия мкРНК. Первоначально мкРНК транскрибируются как обычные мРНК и образуют при-мкРНК, содержащую в своем составе как минимум 1 шпильку [58].

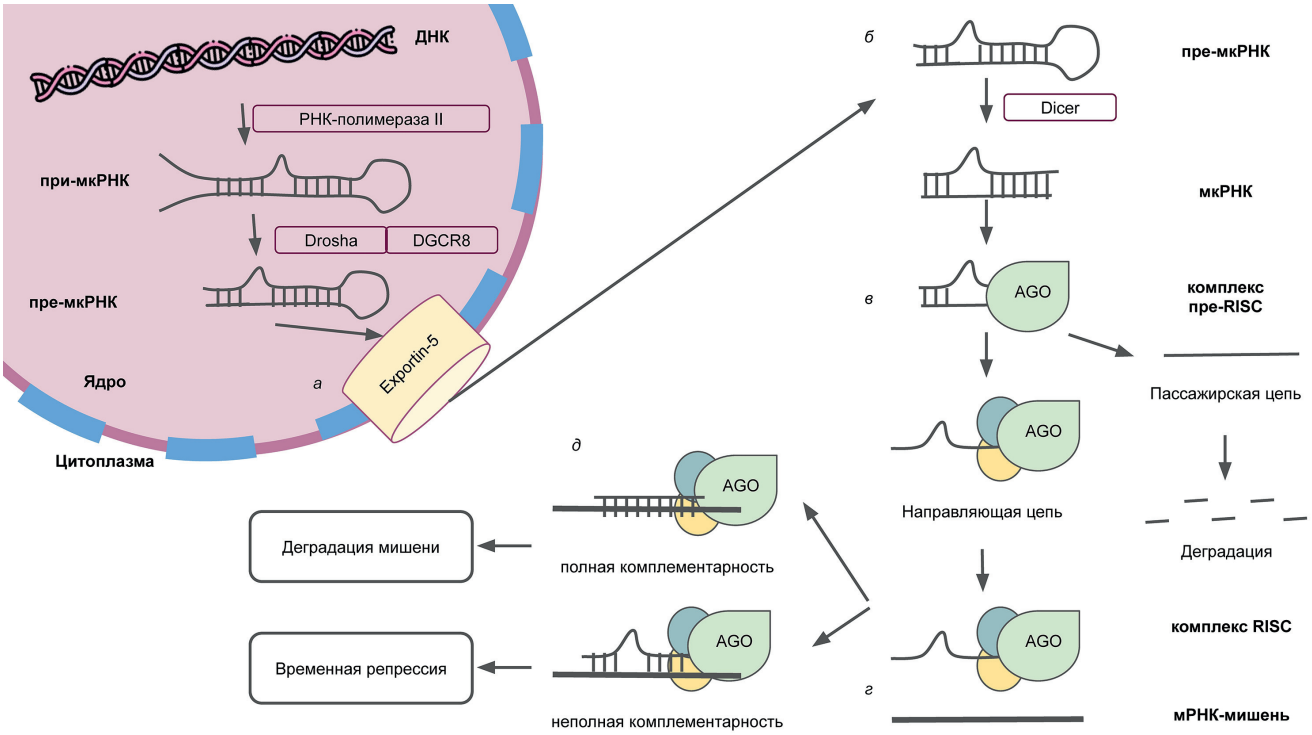

Рис. 3. Биогенез мкРНК. *а* – Формирование при- и пре-мкРНК с участием эндонуклеаз Drosha и DGCR8 и экспорт из ядра; *б* – разрезание белком Dicer и образование зрелой мкРНК; *в* – объединение мкРНК с комплексом AGO и отщепление пассажирской цепи; *г* – распознавание мРНК-мишени комплексом RISC; *д* – эффект, оказываемый мкРНК на мРНК-мишень. DGCR8 – белок гена 8 критической области синдрома Ди Джорджи; AGO – белки семейства Argonaute; RISC – RNA-Induced Silencing Complex

Далее микропроцессорный комплекс, главную роль в работе которого играют эндонуклеаза Drosha и белок, связывающий двухцепочечный фрагмент РНК, называемый Pasha или DGCR8 (белок гена 8 критической области синдрома Ди Джорджи) [59], отщепляет одноцепочечные «хвосты», а полученная пре-мкРНК транслоцируется в цитоплазму при участии белка Exportin-5 [60] (рис. 3, *а*). В цитоплазме РНКаза III Dicer расщепляет предшественник мкРНК возле петли с образованием зрелой малой двухцепочечной РНК (рис. 3, *б*). Дуплекс мкРНК связывается с белками семейства Argonaute (AGO), и с одной из цепей образуется комплекс RISC (RNA-Induced Silencing Complex), а вторая цепь деградирует [61] (рис. 3, *в*). У млекопитающих каждый из четырех белков подсемейства AGO (AGO1–4) может репрессировать трансляцию своих мРНК-мишеней, но только AGO2 способен расщеплять их. Вошедшая в состав комплекса мкРНК играет роль матрицы для распознавания мРНК-мишени (рис. 3, *г*). При полной комплементарности молекул AGO расщепляют мРНК-мишень, приводя к ее деградации, при неполной – «выключение» гена реализуется за счет временной остановки трансляции [62] (рис. 3, *д*).

Для удобства работы с большим количеством мкРНК была создана единая система номенклатуры этих молекул – база данных miRbase [63, 64]. В соответствии с номенклатурой, каждой miR (microRNA) присваивается номер в порядке обнаружения, который присоединяется к префиксу «miR» (например, miR-210). Перед префиксом часто используют еще 3 буквы, которые обозначают видовую принадлежность (например, hsa-miR-210 для *Homo sapiens*). Степень созревания молекулы обозначают «mir», если речь идет о гене или предшественнике мкРНК (при-мкРНК или пре-мкРНК), или «miR» – для обозначения зрелой мкРНК. Последовательности с одной или двумя заменами оснований имеют специальный суффикс, следующий сразу после номера (например, miR-20a). Некоторые предшественники мкРНК могут давать начало двум зрелым молекулам, по одной из каждого плеча. В таком случае к названию мкРНК может добавляться еще один суффикс – -3p или -5p (например, miR-30a-3p).

Эндонуклеазы Drosha и Dicer могут поразному разрезать одни и те же при- и пре-мкРНК, что приводит к образованию мкРНК, которые имеют некоторые различия в нуклеотидной последовательности и называются изо-

мирами [65]. Такие различия могут приводить к изменению мишеней, что расширяет возможности регуляции и создает дополнительные проблемы в изучении этих малых некодирующих мкРНК.

На данный момент главной трудностью в исследованиях функционирования мкРНК является идентификация мишеней, так как каждая из последних может регулироваться несколькими мкРНК [13]. Для наиболее точного определения необходимо использовать комплексный подход – изучение генов и белков-мишеней, проведение полноэкзомного секвенирования и использование методов биоинформатики.

Разработано несколько подходов для идентификации мРНК-мишеней. Одним из методов, применяемых для изучения мкРНК, является иммунопреципитация, в основе которой лежит взаимодействие белков, ассоциированных с комплексом RISC, содержащим направляющую цепь и мРНК-мишень, и специфичных к ним антител [66]. Иммунопреципитированные мкРНК и мРНК затем необходимо анализировать с помощью высокопроизводительного секвенирования для идентификации потенциальных мишеней мкРНК.

Другой метод исследования основан на технологии SILAC (Stable Isotope Labelling with Amino acids in Cell culture). Клетки культивируют в питательной среде, содержащей незаменимые аминокислоты, меченные тяжелыми изотопами, исследуют с помощью масс-спектрометрического анализа и определяют содержание меченых аминокислот за счет соотношения интенсивностей пептидных пиков. При изучении в культуре клеток HeLa был получен белковый профиль в ответ на нокдаун или сверхэкспрессию мкРНК в рамках всего протеома [67]. Данный метод позволяет проводить оценку возникающих вариаций вскоре после индукции изменений в экспрессии мкРНК.

Одним из недавно описанных методов идентификации мкРНК-мишеней стал скрининг мутагенеза 3'-нетранслируемой области на основе технологии CRISPR-Cas9, который описали Froehlich et al [68]. Данный подход позволяет проводить одновременный анализ нескольких регуляторных последовательностей, оценивая функциональность сайтов связывания мкРНК на мРНК-мишени [68].

Тем не менее, исходя из важной регуляторной роли мкРНК для большого количества генов, вопрос изучения их биогенеза и функций остается одним из актуальных для молекулярной биологии в настоящее время.

Влияние HIF на мкРНК. Показано, что на биогенез мкРНК оказывает влияние HIF-1α, экспрессия которого увеличивается в условиях недостатка кислорода [69]. Активация ответа на гипоксию приводит к снижению синтеза белков DGCR8, Exportin 5, Dicer, AGO1 и AGO2 [70]. Однако более поздние исследования свидетельствуют о том, что HIF-1α активирует пролил-4-гидроксилазу коллагена типа I (cP4HI), которая усиливает пролилгидроксилирование и эндонуклеазную активность AGO2 [71]. Для другого члена подсемейства белков AGO, AGO4, также описана положительная регуляция эукариотическим фактором инициации трансляции 2C4 (EIF2C4), экспрессию которого усиливает HIF-1α. Все эти события приводят к индукции экспрессии таких мкРНК как miR-107, miR-155, miR-210 и др. [53].

Таким образом, данные исследований разных лет о влиянии активации HIF-1α на мкРНК противоречивы. С одной стороны, активация ответа на недостаток кислорода ингибирует белки биогенеза мкРНК, но, по другим данным, наоборот, повышает их активность. Известно, что клетки различных тканей организма имеют разную устойчивость к гипоксии [72]. Возможно, возникшее противоречие можно связать с тем, что в описанных выше работах не была проведена оценка исходной устойчивости к недостатку кислорода, хотя известно, что активность белков, участвующих в адаптации к гипоксии (HIF-1α, VEGF и др.), различается у высоко- и низкоустойчивых организмов. Данная гипотеза может стать основой для будущих исследований взаимосвязи HIF и мкРНК. Кроме того, данное противоречие может быть обусловлено особенностями клеточной линии, на которой проводятся эксперименты, и концентрацией кислорода, используемой для гипоксического воздействия.

Помимо влияния на синтез белков биогенеза мкРНК, изоформы HIF-α способны оказывать действие на экспрессию самих мкРНК. На сегодняшний день ключевой мкРНК гипоксического ответа считается miR-210, так как ее уровень экспрессии изменяется в зависимости от содержания кислорода в окружающей среде. Она имеет элементы HREs, расположенные на 400 п.н. выше своего основного промотора. HREs высококонсервативны у разных видов, что позволяет предположить, что регуляция HIF-1α играет ключевую роль в жизнедеятельности организмов [73]. В эксперименте, проведенном на эндотелиальных клетках пупочной вены человека, подвергаю-

щихся действию 1%-ного кислорода в течение разных временных промежутков, было показано, что уровень miR-210 через 4 ч был в 35 раз выше, чем в контрольной группе, а активация miR-210 была обратно пропорциональна парциальному давлению O_2. Для оценки роли HIF в данной работе блокировали изоформы HIF-1α и HIF-2α, однако ингибирование синтеза только HIF-1α приводило к снижению индукции miR-210 [74]. Следовательно, miR-210 является специфической мишенью для HIF-1α.

В недавно проведенном исследовании показано, что воздействие гипоксии (0,9% O_2) на HUVEC в течение 20 ч приводит к постепенному накоплению и последующему медленному снижению экспрессии мкРНК, что является результатом активации адаптивного ответа на недостаток кислорода. Наблюдалось четкое деление репертуара экспрессируемых мкРНК при острой (2 ч) и длительной (16 ч) гипоксии, что соответствует периодам наибольшей активности HIF-1α и HIF-2α соответственно. Для более детального изучения была выбрана временная точка 8 ч, поскольку это был переходный момент времени между кратковременной и длительной гипоксией и временем, когда обе изоформы были активны. После проведения секвенирования и биоинформатической обработки данных было идентифицировано 5 общих мкРНК-мишеней – miR-210, miR-520d-3p, miR-98-3p, miR-4745-5p и miR-139-5p [57]. Более того, для ключевой мкРНК гипоксического ответа, miR-210, было найдено 12 и 18 HREs, специфичных к HIF-1α и HIF-2α, что опровергает описанное ранее селективное действие HIF-1α на эту мкРНК [74].

HIF-зависимое повышение экспрессии miR-210 выявлено в опухолях молочной железы, легких, толстой кишки, поджелудочной железы [75]. Уровень экспрессии miR-210 коррелирует со стадией опухолевой прогрессии, поэтому в перспективе его можно использовать в качестве прогностического биомаркера [76].

Другой важной мкРНК, экспрессия которой регулируется HIF-1α, является miR-122, промотор которой имеет 2 HREs. В исследовании, проведенном на клетках печени HepG2, было показано, что miR-122 является селективной мишенью для HIF-1α, который взаимодействует с обоими HREs. Для HIF-2α такой эффект показан не был [77]. Более того, miR-122 так же влияет на адаптацию метаболизма клетки к условиям гипоксии, что будет обсуждаться далее.

УЧАСТИЕ мкРНК В РЕГУЛЯЦИИ КЛЕТОЧНОГО ОТВЕТА НА ГИПОКСИЮ

Адаптация к гипоксии, как один из важнейших механизмов, необходимых для выживания организма, оказывает влияние на клеточные процессы и зависит от различных факторов [74]. На сегодняшний день описано более 100 мкРНК, участвующих в регуляции HIF-опосредованного ответа на гипоксию [78, 79]. К сожалению, не для всех идентифицированных молекул проведено достаточно исследований, чтобы подтвердить их участие в адаптации к недостатку кислорода. Далее будут рассмотрены наиболее подробно изученные в настоящее время мкРНК, регулирующие ответ на гипоксию.

МкРНК, участвующие в регуляции клеточного ответа на гипоксию, можно разделить на 3 группы. Во-первых, это молекулы, которые оказывают воздействие на мРНК генов, кодирующих HIF, и, таким образом, подавляют синтез его изоформ [80, 81]. Во-вторых, это группа мкРНК, которая влияет на деградацию α-субъединиц HIF при нормоксии [82]. И в-третьих, – мкРНК, влияющие на экспрессию белков, участвующих в реализации метаболических путей при ответе на гипоксию – гликолиз, окислительное фосфорилирование и др. [74, 83, 84] (рис. 4).

К группе мкРНК, ингибирующих синтез транскрипционных факторов семейства HIF, относятся miR-20a, miR-150, miR-155, miR-519c, miR-153, miR-30c-2-3p, miR-30a-3p, miR-145, miR-429 и miR-107. Общий механизм их действия – комплементарное взаимодействие с соответствующим сайтом связывания, приводящее к временной репрессии трансляции или деградации мРНК одной из изоформ HIF.

HIF-1α, как главный регулятор ответа организма на недостаток кислорода, является мишенью для мкРНК. Показано, что miR-20a [85], miR-155 [86], miR-150 [87] и miR-519c [81] имеют сайты связывания в 3'-нетранслируемой области HIF-1α и играют роль негативных регуляторов синтеза данной субъединицы.

На линии эндотелиальных клеток микрососудов сетчатки человека (hRMECs) показано, что в условиях 12-часовой гипоксии (5% CO_2 и 95% N_2), которая является стрессовым фактором для клеток, в эндоплазматическом ретикулуме происходит накопление белков с неправильной конформацией в связи с недостатком энергетических ресурсов и изменением окислительно-восстановительного потенциала клетки [88] (рис. 5). Это приводит к активации трансмембранных сенсоров, которая

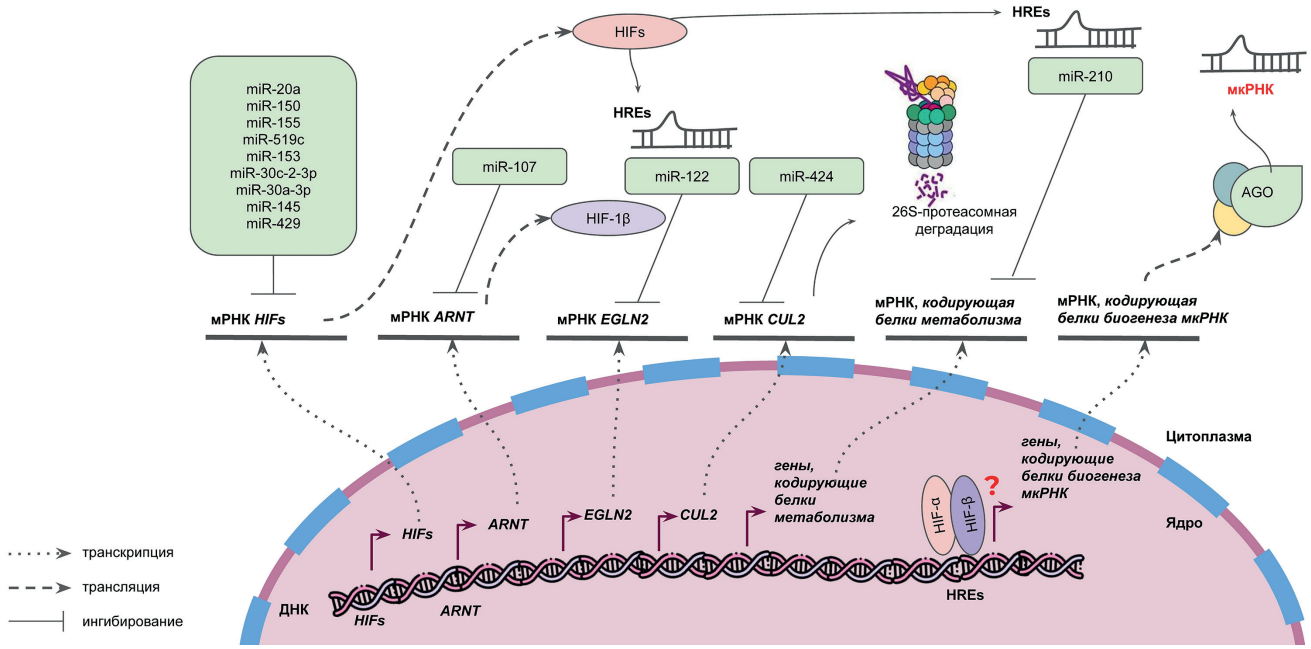

Рис. 4. Мишени некоторых мкРНК в регуляции клеточного ответа на гипоксию: miR-210 участвует в регуляции транскрипции генов-мишеней HIF и зависит от HIF-1α; miR-424 влияет на белки, осуществляющие деградацию HIF в условиях нормоксии; miR-20a, miR-150, miR-155, miR-153 и miR-519c охарактеризованы как регуляторы трансляции HIF-1α; miR-30c-2-3p, miR-30a-3p и miR-145 – HIF-2α; miR-429 – HIF-3α; miR-107 – HIF-1β. *HIFs* – гены *HIF1A*, *EPAS1*, *HIF3A*; HIFs – белки HIF-1α, HIF-2α, HIF-3α; HREs – элементы ДНК, отвечающие на гипоксию; AGO – белки семейства Argonaute

определяет дальнейшую судьбу клетки при длительном недостатке кислорода. Один из них, IRE1 (Inositol-Requiring Enzyme 1), активирует белок XBP1 (X-Box Binding Protein 1), который является важным фактором транскрипции. Liang et al. [89] показали, что XBP1 индуцирует экспрессию miR-153 путем связывания с промотором PTPRN (Protein Tyrosine Phosphatase Receptor Type N) за счет того, что промотор miR-153 расположен в этом же гене. Далее эта мкРНК связывается с 3'-нетранслируемой областью мРНК *HIF1A*, подавляя его синтез и ингибируя VEGF-зависимый ангиогенез.

Идентифицировано несколько miR, регулирующих HIF-2α, в основном в линиях опухолевых клеток. Однако зависимость их регуляции от гипоксии изучена недостаточно. Показано, что miR-30c-2-3p и miR-30a-3p, связываясь с 3'-нетранслируемой областью мРНК гена *EPAS1*, кодирующего HIF-2α, подавляют его синтез без изменения уровня или активности HIF-1α [90]. Zhang et al. [91] показали, что 3'-нетранслируемая область мРНК *EPAS1* также содержит сайт связывания miR-145, повышение экспрессии которой в условиях нормоксии снижает уровни как мРНК, так и самого белка HIF-2α.

Изоформа HIF-3α также регулируется с помощью мкРНК. Bartoszewska et al. [92] продемонстрировали, что miR-429 активируется в условиях гипоксии после связывания HIF-1α с HREs, транслоцируется из ядра в цитоплазму, где, связываясь с мРНК *HIF1A*, вызывает ее деградацию, создавая петлю отрицательной обратной связи. Позже эта же группа исследователей изучала влияние miR-429 на HIF-3α и обнаружила, что регуляция экспрессии действительно существует, и она осуществляется через 3'-нетранслируемую область вариантов HIF-3α2 и HIF-3α3. Благодаря этому механизму происходит переключение экспрессии с HIF-1α на HIF-3α при длительной гипоксии (48 ч при концентрации O_2, равной 1%). Экспрессия HIF-1α блокируется miR-429, что приводит к последующему снижению количества самой мкРНК и накоплению HIF-3α, что позволяет организму выжить в условиях длительного недостатка кислорода [54].

HIF-1β, как и различные изоформы α-субъединицы, может регулироваться мкРНК. Yamakuchi et al. [80] исследовали экспрессию мкРНК у больных раком толстой кишки с использованием микрочипов и последующей биоинформатической обработкой и обнаружили, что miR-107 может быть мишенью для p53 и регулятором HIF-1β. Белок p53 в организме супрессирует образование опухолевых клеток за счет ингибирования их пролиферации и стимуляции апоптоза. Однако мутации в p53 являются частой причиной нарушения этих

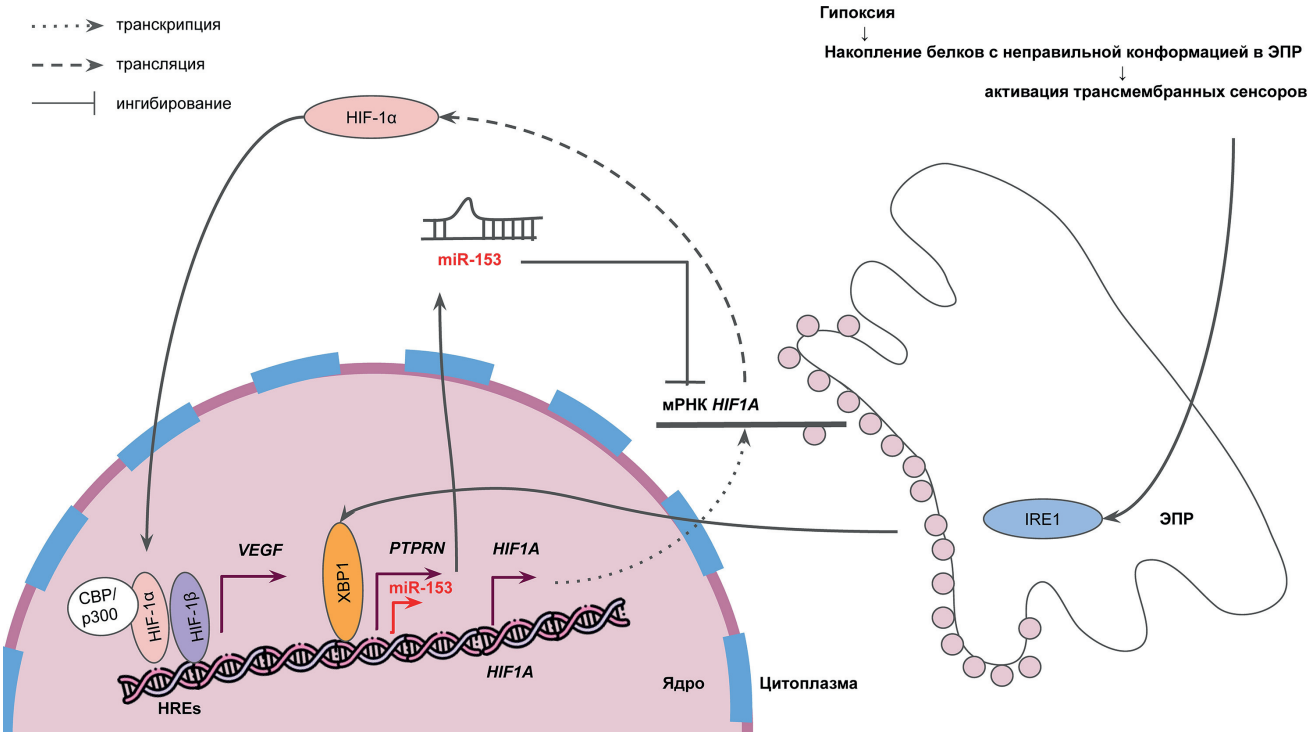

Рис. 5. Механизм действия гипоксии, как стрессового фактора, на экспрессию miR-153 с последующим ингибированием активации транскрипции VEGF. ЭПР – эндоплазматический ретикулум; IRE1 – Inositol-Requiring Enzyme 1; XBP1 – X-Box Binding Protein 1; PTPRN – Protein Tyrosine Phosphatase Receptor Type N; VEGF – фактор роста эндотелия сосудов; HREs – элементы ДНК, отвечающие на гипоксию

механизмов, что индуцирует развитие опухолей [93]. Показано, что 3'-нетранслируемая область гена *ARNT*, кодирующего белок HIF-1β, содержит сайт связывания miR-107, а оказываемое действие ведет к снижению синтеза VEGF и, таким образом, нарушает адаптацию к недостатку кислорода. Эта работа была одним из первых свидетельств того, что регуляция ответа на гипоксию зависит не только от HIF-1α, но и от HIF-1β [80]. Позже это было подтверждено Deng et al. [94] в ходе изучения регуляции ремоделирования сосудов при легочной гипертензии miR-103/107 посредством воздействия на HIF-1β.

Другие мкРНК, в частности miR-424 и miR-122, реализуют свои эффекты, влияя на синтез белков, участвующих в деградации HIF при нормоксии.

Как упоминалось выше, α-субъединица HIF в условиях нормоксии подвергается протеасомной деградации [45]. В комплекс убиквитинлигазы E3, помимо pVHL, входит каркасный белок CUL2 (Cullin-2), блокировка синтеза которого приводит к дестабилизации комплекса и остановке разрушения HIF-α [95]. При изучении профиля мкРНК в эндотелиальных клетках человека в условиях гипоксии наблюдалось увеличение экспрессии miR-424, приводящее к повышению содержания белков HIF-1α и HIF-2α. Для идентификации мишени этой мкРНК использовались алгоритмы, согласно которым были получены данные о том, что miR-424, действуя на 3'-нетранслируемую область *CUL2*, дестабилизирует комплекс E3, что ведет к нарушению деградации HIF-α, и, как следствие, адаптации клеток к гипоксии [82].

Как упоминалось выше, помимо того, что miR-122 сама регулируется HIF-1α, она способна поддерживать выживаемость организма при гипоксии. Мишенью этой мкРНК является 3'-нетранслируемая область мРНК гена *EGLN2*, кодирующего PHD1, которая осуществляет гидроксилирование α-субъедицы HIF в условиях нормоксии. Соответственно, при взаимодействии miR-122 с мРНК *EGLN2* происходит нарушение синтеза фермента, что приводит к стабилизации HIF-1α и последующей реализации зависимых от него эффектов [77].

Третья группа мкРНК включает miR-210, которая осуществляет ингибирование синтеза белков, участвующих в метаболической адаптации к гипоксии, которая заключается в переключении с окислительного фосфорилирования на гликолитический путь.

Для miR-210, регулирующей гипоксический ответ, идентифицировано более 10 мишеней, участвующих в ангиогенезе [74], диф-

ференцировке остеобластов [96], изменении потребления кислорода митохондриями [83]. 3'-Нетранслируемые области транскриптов белков, участвующих в сборке железосерных кластеров ISCU1 и ISCU2 (Iron-Sulfur Cluster assembly proteins), были описаны как мишени для действия miR-210. Основная роль этих белков – обеспечение транспорта электронов и окислительно-восстановительных реакций в метаболизме различных молекул [97]. Нарушение этих функций в результате подавления miR-201 синтеза ISCU1 и ISCU2 приводит к блокировке митохондриального дыхания и переключению на гликолиз («эффект Варбурга») [83], что необходимо для адаптации организма к условиям недостатка кислорода.

Благодаря большому разнообразию мкРНК, а тем более их потенциальных мишеней, проблема их участия в молекулярных механизмах гипоксии и ее контроля важна в изучении адаптации к условиям среды, канцерогенеза, воспалительных процессов и старения.

Таким образом, на основании анализа литературных данных можно сделать заключение, что многие мкРНК взаимодействуют с транскрипционными факторами семейства HIF и регулируют адаптацию клеток и организма в целом к условиям гипоксии (табл. 2).

Таблица 2. Взаимодействие некоторых мкРНК и транскрипционных факторов семейства HIF

HIFs	Ключевые мкРНК, на которые влияет HIF	Ключевые мкРНК, ингибирующие синтез HIF
HIF-1α	miR-210 miR-122 miR-520d-3p miR-98-3p miR-4745-5p miR-139-5p	miR-20a miR-150 miR-155 miR-153 miR-519c miR-429
HIF-2α	miR-210 miR-520d-3p miR-98-3p miR-4745-5p miR-139-5p	miR-30c-2-3p miR-30a-3p miR-145
HIF-3α	не установлены	miR-429
HIF-1β	не установлены	miR-107

РОЛЬ ИСХОДНОЙ УСТОЙЧИВОСТИ К ГИПОКСИИ И мкРНК ПРИ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ

Особенности течения воспалительных заболеваний в зависимости от исходной устойчивости к гипоксии. Показано, что как у лабораторных животных, так и у людей существуют различия в устойчивости к гипоксии, которая зависит от пола, возраста, наличия сопутствующих заболеваний, а также суточных, сезонных и инфрадианных биоритмов [6, 7]. Устойчивость к гипоксии во многом определяется полиморфизмом генов *HIF1A*, *VEGF* и супероксиддисмутазы *SOD2*, регулирующих адаптивный ответ на гипоксию. Наибольшее значение имеет активация индуцируемого гипоксией фактора HIF-1α. По данным литературы, выявлено наличие обратной зависимости между базовым содержанием белка HIF-1α в неокортексе и устойчивостью беспородных самцов крыс к гипоксии: у низкоустойчивых особей в нормоксических условиях содержание белка HIF-1α было в 1,7 раза выше, чем у высокоустойчивых [8]. Животные с низкой устойчивостью к недостатку кислорода, в отличие от высокоустойчивых, характеризуются более тяжелым течением как локальных, так и системных воспалительных процессов [9–12]. В частности, при моделировании острого язвенного колита с использованием декстрансульфата натрия (ДСН) у низкоустойчивых к гипоксии половозрелых самцов мышей C57Bl/6, по сравнению с высокоустойчивыми, наблюдались более выраженные клинические проявления (диарея и кровь в кале), статистически значимое снижение всех популяций лимфоцитов в периферической крови, а также была выше распространенность язв в слизистой оболочке толстой кишки [12]. При моделировании хронического язвенного колита с использованием той же экспериментальной модели у низкоустойчивых к гипоксии мышей также наблюдались более выраженные клинические проявления заболевания на фоне более высокого уровня смертности животных, а также снижения всех популяций Т-лимфоцитов и увеличения числа В-клеток в крови [11]. Эти исследования свидетельствуют о взаимосвязи исходной устойчивости к гипоксии и тяжести течения воспалительных процессов в толстой кишке.

Кроме того, на половозрелых самцах крыс Вистар также показана взаимосвязь тяжести течения системного воспалительного ответа, индуцированного введением липополисахарида (ЛПС), и устойчивости животных к гипоксии. Низкоустойчивые к недостатку кислорода животные в ответ на введение ЛПС характеризуются более высокими уровнями экспрессии *Nf-kb* и *Hif-1a* в печени, бóльшим количеством нейтрофилов в межальвеолярных перегородках легких и повышенным содержанием IL-1β и С-реактивного белка в сыворотке крови [9].

В ответ на введение ЛПС для низкоустойчивых к гипоксии животных характерно смещение баланса иммунных реакций в сторону гуморальных, в то время как для высокоустойчивых – в сторону клеточных [10].

Точные механизмы, определяющие различия в тяжести течения воспалительных заболеваний у животных с разной устойчивостью к гипоксии, в настоящее время не установлены. Очевидно, что функционирование белка HIF-1α играет одну из главных ролей в этих процессах. При этом регуляция синтеза HIF-1α у высокоустойчивых и низкоустойчивых к гипоксии животных может осуществляться по-разному. Вероятно, в этом принимают участие мкРНК, которые влияют как на ответ на гипоксическое воздействие, так и на течение воспалительных процессов. Роль мкРНК как в системных, так и в локальных воспалительных процессах активно изучается в настоящее время. При поиске биомаркеров воспаления изучают преимущественно циркулирующие мкРНК, в то время как исследования тканевых мкРНК у экспериментальных животных позволяют установить механизмы воспалительных реакций. При этом показано, что паттерны экспрессии мкРНК в тканях во многом перекрываются с мкРНК, циркулирующими в крови. Среди обсуждаемых нами ранее мкРНК, которые участвуют в регуляции ответа на гипоксию при воспалительных процессах, повышение экспрессии miR-210 и miR-155 обнаружено как в тканях, так и в крови, а miR-107 и miR-150 – только в крови.

Циркулирующие мкРНК, регулирующие ответ на гипоксию при воспалительных процессах. Согласно исследованиям Virga et al. [98] и Del Mauro et al. [99], повышение уровня экспрессии miR-210 в моноцитах крови человека положительно коррелирует с возможностью развития сепсиса, а увеличение концентрации этой же мкРНК в сыворотке крови – со смертностью. Однако позже проведено другое проспективное когортное исследование miR-210 как возможного биомаркера сепсиса [100]. На основании клинических данных пациентов делили на группы в соответствии с одним из подтипов сепсиса (альфа, бета, гамма и дельта), которые различаются по исходу и ответу на лечение. В ходе этого исследования показано, что уровень циркулирующей miR-210 был увеличен в 3,6 раза независимо от подтипа сепсиса. Однако после поправок на искажающие факторы (использование некоторых лекарственных препаратов или искусственной вентиляции легких) наиболее выраженное увеличение наблюдалось только при дельта-форме. Таким образом, по последним данным, активация одной из связанных с гипоксией мкРНК – miR-210 – сопровождает развитие сепсиса, однако характерна только для одного его подтипа.

Помимо исследований мкРНК в качестве биомаркеров развития сепсиса, показано, что у пациентов с язвенным колитом и болезнью Крона в периферической крови уровни экспрессии некоторых мкРНК повышены [101]. В частности, miR-155 имела более высокий уровень экспрессии при язвенном колите, а miR-107 – при болезни Крона [102]. Кроме того, по результатам экспериментального исследования мкРНК с использованием трех моделей язвенного колита у мышей, показано повышение концентрации miR-150 в сыворотке крови [103]. В ходе данной работы использовали модель острого колита, индуцированного ДСН [104], TLR5-дефицитных мышей ($TLR5^{-/-}$) [105] и IL-10-дефицитных мышей ($IL10^{-/-}$) [106]. Авторы пришли к выводу, что повышение концентрации связанной с гипоксией miR-150 является одним из специфических биомаркеров воспалительных заболеваний кишечника, вызванных различными этиологическими факторами.

Таким образом, концентрации в сыворотке крови некоторых мкРНК, связанных с ответом на гипоксию, могут быть использованы в ходе неинвазивного исследования пациентов в качестве маркеров для прогнозирования возможности возникновения и тяжести течения как локальных, так и системных воспалительных процессов.

Тканевые мкРНК, регулирующие ответ на гипоксию при воспалительных процессах. На экспериментальных моделях ЛПС-индуцированного эндотоксин-септического шока, полимикробного сепсиса, воспроизведенного методом перевязки и дальнейшей пункции слепой кишки, и паразитарной инфекции, вызванной *Trypanosoma brucei* у мышей, показано, что в ответ на воздействие патогенов наблюдалась активация miR-210 в моноцитах и макрофагах, которая сопровождалась увеличением концентрации HIF-1α в сыворотке крови. Активация miR-210 приводит к подавлению митохондриального дыхания за счет остановки трансляции белков ISCU, мРНК которых является мишенью для этой мкРНК. В результате этих метаболических изменений наблюдалась поляризация макрофагов по провоспалительному M1-фенотипу. При последующей делеции miR-210 и воспроизведении всех описанных выше инфекционных моделей наблюдалось более легкое течение воспаления со снижением уровней провоспалительных цитокинов IL-6

и TNF-α и повышением противовоспалительного – IL-10 [98]. Авторы предполагают, что делеция miR-210 приводит к неполной поляризации макрофагов по М1-фенотипу, что объясняет более легкое течение воспаления и повышение выживаемости организмов. Следовательно, повышенная экспрессия miR-210 как в сыворотке крови, так и в тканях способствует более тяжелому течению системного воспалительного ответа.

При изучении различий в экспрессии мкРНК в тканях толстой кишки из зон язвенных поражений и вне их при язвенном колите и болезни Крона была охарактеризована пространственная связь в паттернах экспрессии мкРНК между этими зонами. В биоптатах толстой кишки с воспалением по сравнению с нормальной тканью показано статистически значимое повышение экспрессии miR-155 как при язвенном колите, так и при болезни Крона [107]. Кроме того, показано, что экспрессия этой мкРНК в биоптатах слизистой оболочки толстой кишки у пациентов с активной стадией язвенного колита статистически значимо выше, чем у здоровых людей [108].

При воспалительных заболеваниях кишечника, в том числе язвенном колите, возрастает частота развития рака толстой кишки. При воспалении происходит активация NF-κB, который имеет сайты связывания в некоторых мкРНК. При исследовании спектра экспрессии мкРНК в клетках рака толстой кишки наблюдалось повышение уровней экспрессии miR-210, miR-155 и miR-21, что объясняется наличием сайтов связывания NF-κB в их промоторных областях [109]. В течение десятилетий стандартным химиотерапевтическим препаратом первой линии при колоректальном раке (КРР) является 5-фторурацил (5-ФУ). Несмотря на то что возможности лечения злокачественных опухолей расширились за счет появления терапии 5-ФУ в сочетании с другими химиотерапевтическими препаратами, резистентность опухоли остается серьезной проблемой [110]. Nijhuis et al. [111] изучали возникновение резистентности к 5-ФУ на клеточных линиях КРР и роль мкРНК в этом процессе. Исследование проводили в течение 48 ч в условиях нормоксии (20,9% O_2) и в условиях гипоксии разной тяжести (1,0% и 0,2% O_2). Показано, что при недостатке кислорода активировались 6 мкРНК – miR-21, miR-210, miR-30d, miR-320a, miR-320b и miR-320c, среди которых наиболее высокий уровень был у miR-210. Однако при исследовании репертуара мкРНК в опухолях больных КРР, резистентных к лечению 5-фторурацилом, miR-210 не входила в число значимых молекул, что не подтверждает ее участие в формировании толерантности к противоопухолевой терапии данным препаратом [111]. Таким образом, из мкРНК, регулирующих ответ на гипоксию, наиболее изучена роль miR-210 в развитии как локальных, так и системных воспалительных процессов. Тем не менее точные механизмы участия miR-210 в регуляции воспаления недостаточно изучены, так как исследования проводили на экспериментальных моделях разных воспалительных заболеваний, при этом не учитывалась исходная устойчивость организмов к гипоксии.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, ответ организма на гипоксию осуществляется при участии транскрипционных факторов семейства HIF. Реакция клеток на кратковременное или длительное гипоксическое воздействие регулируется разными изоформами HIF, в переключении которых участвуют мкРНК. Роль мкРНК в регуляции клеточного ответа на гипоксию обусловлена их воздействием на мРНК генов, кодирующих HIF, влиянием на деградацию α-субъединиц HIF и экспрессию белков, реализующих метаболический ответ на гипоксию – гликолиз, окислительное фосфорилирование и др. В то же время HIF также оказывает влияние на биогенез мкРНК. Данные по изменению экспрессии той или иной изоформы HIF и зависимых белков противоречивы, поскольку исследования проводят на разных клеточных линиях и видах экспериментальных животных, при разной концентрации кислорода и разной длительности гипоксического воздействия. Кроме того, на экспрессию HIF может влиять исходная устойчивость изучаемых организмов к гипоксии, что не учитывается при проведении исследований. В то время как взаимосвязь HIF-1α и мкРНК достаточно полно охарактеризована, механизмы взаимодействия HIF-2α и HIF-3α, а также HIF-1β с мкРНК изучены недостаточно. Понимание механизмов взаимосвязи HIF, гипоксии и мкРНК необходимо для разработки новых подходов к персонализированной терапии заболеваний, сопровождающихся недостатком кислорода.

Вклад авторов. М.В.С. – анализ данных литературы, подготовка текста обзора и рисунков, Д.Ш.Д. – обсуждение собранных данных и редактирование текста, О.В.М. – финальное редактирование текста.

Финансирование. Работа выполнена и финансировалась в рамках бюджетной темы 122030200530-6 «Клеточные и молекулярно-биологические механизмы воспаления в развитии социально значимых заболеваний человека».

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Соблюдение этических норм. Настоящая статья не содержит описания каких-либо исследований с участием людей или животных в качестве объектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Semenza, G. L., and Wang, G. L. (1992) A nuclear factor induced by hypoxia via de novo protein synthesis binds to the human erythropoietin gene enhancer at a site required for transcriptional activation, *Mol. Cell. Biol.*, **12**, 5447-5454, doi: 10.1128/mcb.12.12.5447-5454.1992.
2. Kaelin, W. G., and Ratcliffe, P. J. (2008) Oxygen sensing by metazoans: the central role of the HIF hydroxylase pathway, *Mol. Cell*, **30**, 393-402, doi: 10.1016/j.molcel.2008.04.009.
3. Semenza, G. L. (2010) Oxygen homeostasis, *WIREs Syst. Biol. Med.*, **2**, 336-361, doi: 10.1002/wsbm.69.
4. Hirota, K. (2020) Basic biology of hypoxic responses mediated by the transcription factor HIFs and its implication for medicine, *Biomedicines*, **8**, 32, doi: 10.3390/biomedicines8020032.
5. Rius, J., Guma, M., Schachtrup, C., Akassoglou, K., Zinkernagel, A. S., Nizet, V., Johnson, R. S., Haddad, G. G., and Karin, M. (2008) NF-kappaB links innate immunity to the hypoxic response through transcriptional regulation of HIF-1alpha, *Nature*, **453**, 807-811, doi: 10.1038/NATURE06905.
6. Kosyreva, A. M., Dzhalilova, D. S., Makarova, O. V., Tsvetkov, I. S., Zolotova, N. A., Diatroptova, M. A., Ponomarenko, E. A., Mkhitarov, V. A., Khochanskiy, D. N., and Mikhailova, L. P. (2020) Sex differences of inflammatory and immune response in pups of Wistar rats with SIRS, *Sci. Rep.*, **10**, 15884, doi: 10.1038/s41598-020-72537-y.
7. Dzhalilova, D., Kosyreva, A., Vishnyakova, P., Zolotova, N., Tsvetkov, I., Mkhitarov, V., Mikhailova, L., Kakturskiy, L., and Makarova, O. (2021) Age-related differences in hypoxia-associated genes and cytokine profile in male Wistar rats, *Heliyon*, **7**, e08085, doi: 10.1016/j.heliyon.2021.e08085.
8. Kirova, Y. I., Germanova, E. L., and Lukyanova, L. D. (2013) Phenotypic features of the dynamics of HIF-1α levels in rat neocortex in different hypoxia regimens, *Bull. Exp. Biol. Med.*, **154**, 718-722, doi: 10.1007/S10517-013-2038-Z.
9. Dzhalilova, D. S., Kosyreva, A. M., Diatroptov, M. E., Ponomarenko, E. A., Tsvetkov, I. S., Zolotova, N. A., Mkhitarov, V. A., Khochanskiy, D. N., and Makarova, O. V. (2019) Dependence of the severity of the systemic inflammatory response on resistance to hypoxia in male Wistar rats, *J. Inflamm. Res.*, **12**, 73-86, doi: 10.2147/JIR.S194581.
10. Dzhalilova, D. S., Kosyreva, A. M., Diatroptov, M. E., Zolotova, N. A., Tsvetkov, I. S., Mkhitarov, V. A., Makarova, O. V., and Khochanskiy, D. N. (2019) Morphological characteristics of the thymus and spleen and the subpopulation composition of lymphocytes in peripheral blood during systemic inflammatory response in male rats with different resistance to hypoxia, *Int. J. Inflam.*, **1**, 7584685, doi: 10.1155/2019/7584685.
11. Dzhalilova, D. Sh., Zolotova, N. A., Polyakova, M. A., Diatroptov, M. E., Dobrynina, M. T., and Makarova, O. V. (2018) Morphological features of the inflammatory process and subpopulation pattern of peripheral blood lymphocytes during chronic colitis in mice exhibiting different responses to hypoxia [in Russian], *Clin. Exp. Morphol.*, **28**, 13-20, doi: 10.31088/2226-5988-2018-28-4-13-20.
12. Dzhalilova, D. Sh., Polyakova, M. A., Diatroptov, M. E., Zolotova, N. A., and Makarova, O. V. (2018) Morphological changes in the colon and composition of peripheral blood lymphocytes in acute colitis in mice with different resistance to hypoxia [in Russian], *Mol. Med.*, **16**, 46-50, doi: 10.29296/24999490-2018-06-08.
13. Lytle, J. R., Yario, T. A., and Steitz, J. A. (2007) Target mRNAs are repressed as efficiently by microRNA-binding sites in the 5' UTR as in the 3' UTR, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **104**, 9667-9672, doi: 10.1073/pnas.0703820104.
14. Burtscher, J., Mallet, R. T., Burtscher, M., and Millet, G. P. (2021) Hypoxia and brain aging: Neurodegeneration or neuroprotection? *Ageing Res. Rev.*, **68**, 101343, doi: 10.1016/j.arr.2021.101343.
15. Semenza, G. L. (2012) Hypoxia-inducible factors in physiology and medicine, *Cell*, **148**, 399-408, doi: 10.1016/j.cell.2012.01.021.
16. Ledent, V., and Vervoort, M. (2001) The basic helix-loop-helix protein family: Comparative genomics and phylogenetic analysis, *Genome Res.*, **11**, 754-770, doi: 10.1101/gr.177001.
17. Hu, C.-J., Sataur, A., Wang, L., Chen, H., and Simon, M. C. (2007) The N-terminal transactivation domain confers target gene specificity of hypoxia-inducible factors HIF-1α and HIF-2α, *Mol. Biol. Cell*, **18**, 4528-4542, doi: 10.1091/mbc.e06-05-0419.
18. Ema, M. (1999) Molecular mechanisms of transcription activation by HLF and HIF1alpha in response to

hypoxia: their stabilization and redox signal-induced interaction with CBP/p300, *EMBO J.*, **18**, 1905-1914, doi: 10.1093/emboj/18.7.1905.

19. Jaakkola, P., Mole, D. R., Tian, Y. M., Wilson, M. I., Gielbert, J., Gaskell, S. J., von Kriegsheim, A., Hebestreit, H. F., Mukherji, M., Schofield, C. J., Maxwell, P. H., Pugh, C. W., and Ratcliffe, P. J. (2001) Targeting of HIF-α to the von Hippel–Lindau ubiquitylation complex by O_2-regulated prolyl hydroxylation, *Science*, **292**, 468-472, doi: 10.1126/science.1059796.
20. Haase, V. H. (2017) HIF-prolyl hydroxylases as therapeutic targets in erythropoiesis and iron metabolism, *Hemodial. Int.*, **21**, S110-S124, doi: 10.1111/hdi.12567.
21. Maxwell, P. H., Wlesener, M. S., Chang, G. W., Clifford, S. C., Vaux, E. C., Cockman, M. E., Wykoff, C. C., Pugh, C. W., Maher, E. R., and Ratcliffe, P. J. (1999) The tumour suppressor protein VHL targets hypoxia-inducible factors for oxygen-dependent proteolysis, *Nature*, **399**, 271-275, doi: 10.1038/20459.
22. Ivan, M., Kondo, K., Yang, H., Kim, W., Valiando, J., Ohh, M., Salic, A., Asara, J. M., Lane, W. S., and Kaelin, W. G., Jr. (2001) HIFα targeted for VHL-Mediated destruction by proline hydroxylation: implications for O_2 sensing, *Science*, **292**, 464-468, doi: 10.1126/science.1059817.
23. Van Uden, P., Kenneth, N. S., and Rocha, S. (2008) Regulation of hypoxia-inducible factor-1alpha by NF-kappaB, *Biochem. J.*, **412**, 477-484, doi: 10.1042/BJ20080476.
24. Van Uden, P., Kenneth, N. S., Webster, R., Müller, H. A., Mudie, S., and Rocha, S. (2011) Evolutionary conserved regulation of HIF-1β by NF-κB, *PLoS Genet.*, **7**, e1001285, doi: 10.1371/JOURNAL.PGEN.1001285.
25. Moniz, S., Biddlestone, J., and Rocha, S. (2014) $Grow_2$: the HIF system, energy homeostasis and the cell cycle, *Histol. Histopathol.*, **29**, 589-600, doi: 10.14670/HH-29.10.589.
26. Koyasu, S., Kobayashi, M., Goto, Y., Hiraoka, M., and Harada, H. (2018) Regulatory mechanisms of hypoxia-inducible factor 1 activity: two decades of knowledge, *Cancer Sci.*, **109**, 560-571, doi: 10.1111/CAS.13483.
27. Treins, C., Giorgetti-Peraldi, S., Murdaca, J., Semenza, G. L., and van Obberghen, E. (2002) Insulin stimulates hypoxia-inducible factor 1 through a phosphatidylinositol 3-kinase/target of rapamycin-dependent signaling pathway, *J. Biol. Chem.*, **277**, 27975-27981, doi: 10.1074/JBC.M204152200.
28. Dodd, K. M., Yang, J., Shen, M. H., Sampson, J. R., and Tee, A. R. (2015) mTORC1 drives HIF-1α and VEGF-A signalling via multiple mechanisms involving 4E-BP1, S6K1 and STAT3, *Oncogene*, **34**, 2239-2250, doi: 10.1038/onc.2014.164.
29. Masoud, G. N., and Li, W. (2015) HIF-1α pathway: role, regulation and intervention for cancer therapy, *Acta Pharm. Sin. B*, **5**, 378-389, doi: 10.1016/J.APSB.2015.05.007.
30. Cummins, E. P., Berra, E., Comerford, K. M., Ginouves, A., Fitzgerald, K. T., Seeballuck, F., Godson, C., Nielsen, J. E., Moynagh, P., Pouyssegur, J., and Taylor, C. T. (2006) Prolyl hydroxylase-1 negatively regulates IkappaB kinase-beta, giving insight into hypoxia-induced NFkappaB activity, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **103**, 18154-18159, doi: 10.1073/PNAS.0602235103.
31. Korbecki, J., Simińska, D., Gąssowska-Dobrowolska, M., Listos, J., Gutowska, I., Chlubek, D., and Baranowska-Bosiacka, I. (2021) Chronic and cycling hypoxia: drivers of cancer chronic inflammation through HIF-1 and NF-κB activation: a review of the molecular mechanisms, *Int. J. Mol. Sci.*, **22**, 10701, doi: 10.3390/IJMS221910701.
32. Bandarra, D., Biddlestone, J., Mudie, S., Müller, H. A. J., and Rocha, S. (2015) HIF-1α restricts NF-κB-dependent gene expression to control innate immunity signals, *Dis. Model. Mech.*, **8**, 169-181, doi: 10.1242/DMM.017285.
33. Chun, Y., and Kim, J. (2021) AMPK–mTOR signaling and cellular adaptations in hypoxia, *Int. J. Mol. Sci.*, **22**, 9765, doi: 10.3390/IJMS22189765.
34. Inoki, K., Corradetti, M. N., and Guan, K. L. (2005) Dysregulation of the TSC-mTOR pathway in human disease, *Nat. Genet.*, **37**, 19-24, doi: 10.1038/ng1494.
35. Kietzmann, T., Mennerich, D., and Dimova, E. Y. (2016) Hypoxia-inducible factors (HIFs) and phosphorylation: Impact on stability, localization, and transactivity, *Front. Cell Dev. Biol.*, **4**, 11, doi: 10.3389/fcell.2016.00011.
36. Leaman, D., Po, Y. C., Fak, J., Yalcin, A., Pearce, M., Unnerstall, U., Marks, D. S., Sander, C., Tuschl, T., and Gaul, U. (2005) Antisense-mediated depletion reveals essential and specific functions of microRNAs in *Drosophila* development, *Cell*, **121**, 1097-1108, doi: 10.1016/j.cell.2005.04.016.
37. Pocock, R. (2011) Invited review: decoding the microRNA response to hypoxia, *Pflugers Arch.*, **461**, 307-315, doi: 10.1007/s00424-010-0910-5.
38. Ke, Q., and Costa, M. (2006) Hypoxia-inducible factor-1 (HIF-1), *Mol. Pharmacol.*, **70**, 1469-1480, doi: 10.1124/mol.106.027029.
39. Tian, H., Hammer, R. E., Matsumoto, A. M., Russell, D. W., and McKnight, S. L. (1998) The hypoxia-responsive transcription factor EPAS1 is essential for catecholamine homeostasis and protection against heart failure during embryonic development, *Genes Dev.*, **12**, 3320-3324, doi: 10.1101/gad.12.21.3320.
40. Appelhoff1, R. J., Tian, Y. M., Raval, R. R., Turley, H., Harris, A. L., Pugh, C. W., Ratcliffe, P. J., and Gleadle, J. M. (2004) Differential function of the prolyl hydroxylases PHD1, PHD2, and PHD3 in the regulation of hypoxia-inducible factor, *J. Biol. Chem.*, **279**, 38458-38465, doi: 10.1074/jbc.M406026200.

41. Koivunen, P., Hirsilä, M., Günzler, V., Kivirikko, K. I., and Myllyharju, J. (2004) Catalytic properties of the asparaginyl hydroxylase (FIH) in the oxygen sensing pathway are distinct from those of its prolyl 4-hydroxylases, *J. Biol. Chem.*, **279**, 9899-9904, doi: 10.1074/jbc.M312254200.
42. Befani, C., and Liakos, P. (2018) The role of hypoxia-inducible factor-2 alpha in angiogenesis, *J. Cell. Physiol.*, **233**, 9087-9098, doi: 10.1002/JCP.26805.
43. Taylor, S. E., Bagnall, J., Mason, D., Levy, R., Fernig, D. G., and See, V. (2016) Differential sub-nuclear distribution of hypoxia-inducible factors (HIF)-1 and -2 alpha impacts on their stability and mobility, *Open Biol.*, **6**, 160195, doi: 10.1098/RSOB.160195.
44. Duan, C. (2016) Hypoxia-inducible factor 3 biology: complexities and emerging themes, *Am. J. Physiol. Cell Physiol.*, **310**, C260-C269, doi: 10.1152/ajpcell.00315.2015.
45. Ravenna, L., Salvatori, L., and Russo, M. A. (2016) HIF3α: the little we know, *FEBS J.*, **283**, 993-1003, doi: 10.1111/febs.13572.
46. Pasanen, A., Heikkilä, M., Rautavuoma, K., Hirsilä, M., Kivirikko, K. I., and Myllyharju, J. (2010) Hypoxia-inducible factor (HIF)-3alpha is subject to extensive alternative splicing in human tissues and cancer cells and is regulated by HIF-1 but not HIF-2, *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, **42**, 1189-1200, doi: 10.1016/J.BIOCEL.2010.04.008.
47. Maynard, M. A., Qi, H., Chung, J., Lee, E. H. L., Kondo, Y., Hara, S., Conaway, R. C., Conaway, J. W., and Ohh, M. (2003) Multiple splice variants of the human HIF-3α locus are targets of the von Hippel–Lindau E3 ubiquitin ligase complex, *J. Biol. Chem.*, **278**, 11032-11040, doi: 10.1074/jbc.M208681200.
48. Loboda, A., Jozkowicz, A., and Dulak, J. (2010) HIF-1 and HIF-2 transcription factors –similar but not identical, *Mol. Cells*, **29**, 435-442, doi: 10.1007/S10059-010-0067-2.
49. Kalinowski, L., Janaszak-Jasiecka, A., Siekierzycka, A., Bartoszewska, S., Woźniak, M., Lejnowski, D., Collawn, J. F., and Bartoszewski, R. (2016) Post-transcriptional and transcriptional regulation of endothelial nitric-oxide synthase during hypoxia: the role of microRNAs, *Cell. Mol. Biol. Lett.*, **21**, 16, doi: 10.1186/S11658-016-0017-X.
50. Keith, B., Johnson, R. S., and Simon, M. C. (2011) HIF1α and HIF2α: sibling rivalry in hypoxic tumour growth and progression, *Nat. Rev. Cancer*, **12**, 9-22, doi: 10.1038/NRC3183.
51. Koh, M. Y., and Powis, G. (2012) Passing the baton: the HIF switch, *Trends Biochem. Sci.*, **37**, 364-372, doi: 10.1016/J.TIBS.2012.06.004.
52. Heikkilä, M., Pasanen, A., Kivirikko, K. I., and Myllyharju, J. (2011) Roles of the human hypoxia-inducible factor (HIF)-3α variants in the hypoxia response, *Cell. Mol. Life Sci.*, **68**, 3885-3901, doi: 10.1007/s00018-011-0679-5.
53. Serocki, M., Bartoszewska, S., Janaszak-Jasiecka, A., Ochocka, R. J., Collawn, J. F., and Bartoszewski, R. (2018) miRNAs regulate the HIF switch during hypoxia: a novel therapeutic target, *Angiogenesis*, **21**, 183-202, doi: 10.1007/S10456-018-9600-2.
54. Janaszak-Jasiecka, A., Bartoszewska, S., Kochan, K., Piotrowski, A., Kalinowski, L., Kamysz, W., Ochocka, R. J., Bartoszewski, R., and Collawn, J. F. (2016) MiR-429 regulates the transition between Hypoxia-inducible factor (HIF)1A and HIF3A expression in human endothelial cells, *Sci. Rep.*, **6**, 22775, doi: 10.1038/srep22775.
55. Zhang, P., Yao, Q., Lu, L., Li, Y., Chen, P.-J., and Duan, C. (2014) Hypoxia-inducible factor 3 is an oxygen-dependent transcription activator and regulates a distinct transcriptional response to hypoxia, *Cell Rep.*, **6**, 1110-1121, doi: 10.1016/j.celrep.2014.02.011.
56. Jaśkiewicz, M., Moszyńska, A., Serocki, M., Króliczewski, J., Bartoszewska, S., Collawn, J. F., and Bartoszewski, R. (2022) Hypoxia-inducible factor (hif)-3α2 serves as an endothelial cell fate executor during chronic hypoxia, *EXCLI J.*, **21**, 454-469, doi: 10.17179/excli2021-4622.
57. Moszyńska, A., Jaśkiewicz, M., Serocki, M., Cabaj, A., Crossman, D. K., Bartoszewska, S., Gebert, M., Dąbrowski, M., Collawn, J. F., and Bartoszewski, R. (2022) The hypoxia-induced changes in miRNA-mRNA in RNA-induced silencing complexes and HIF-2 induced miRNAs in human endothelial cells, *FASEB J.*, **36**, e22412, doi: 10.1096/fj.202101987R.
58. Bhaskaran, M., and Mohan, M. (2014) MicroRNAs: history, biogenesis, and their evolving role in animal development and disease, *Vet. Pathol.*, **51**, 759-774, doi: 10.1177/0300985813502820.
59. Nguyen, H. M., Nguyen, T. D., Nguyen, T. L., and Nguyen, T. A. (2019) Orientation of human microprocessor on primary microRNAs, *Biochemistry*, **58**, 189-198, doi: 10.1021/acs.biochem.8b00944.
60. Lund, E., Güttinger, S., Calado, A., Dahlberg, J. E., and Kutay, U. (2004) Nuclear export of microRNA precursors, *Science*, **303**, 95-98, doi: 10.1126/science.1090599.
61. Bartel, D. P. (2018) Metazoan microRNAs, *Cell*, **173**, 20-51, doi: 10.1016/j.cell.2018.03.006.
62. Kalla, R., Ventham, N. T., Kennedy, N. A., Quintana, J. F., Nimmo, E. R., Buck, A. H., and Satsangi, J. (2015) MicroRNAs: new players in IBD, *Gut*, **64**, 504-513, doi: 10.1136/gutjnl-2014-307891.
63. Ambros, V., Bartel, B., Bartel, D. P., Burge, C. B., Carrington, J. C., Chen, X., Dreyfuss, G., Eddy, S. R., Griffiths-Jones, S., Marshall, M., Matzke, M., Ruvkun, G., and Tuschl, T. (2003) A uniform system for microRNA annotation, *RNA*, **9**, 277-279, doi: 10.1261/RNA.2183803.
64. Griffiths-Jones, S. (2004) The microRNA registry, *Nucleic Acids Res.*, **32**, D109-D111, doi: 10.1093/NAR/GKH023.

65. Zaporozhchenko, I. A., Rykova, E. Y., and Laktionov, P. P. (2020) The fundamentals of miRNA biology: structure, biogenesis, and regulatory functions, *Russ. J. Bioorg. Chem.*, **46**, 1-13, doi: 10.1134/S106816202001015X.
66. Brosnan, C. A., Palmer, A. J., and Zuryn, S. (2021) Cell-type-specific profiling of loaded miRNAs from *Caenorhabditis elegans* reveals spatial and temporal flexibility in Argonaute loading, *Nat. Commun.*, **12**, 2194, doi: 10.1038/s41467-021-22503-7.
67. Selbach, M., Schwanhäusser, B., Thierfelder, N., Fang, Z., Khanin, R., and Rajewsky, N. (2008) Widespread changes in protein synthesis induced by microRNAs, *Nature*, **455**, 58-63, doi: 10.1038/nature07228.
68. Froehlich, J. J., Uyar, B., Herzog, M., Theil, K., Glažar, P., Akalin, A., and Rajewsky, N. (2021) Parallel genetics of regulatory sequences using scalable genome editing *in vivo*, *Cell Rep.*, **35**, 108988, doi: 10.1016/j.celrep.2021.108988.
69. Peng, X., Gao, H., Xu, R., Wang, H., Mei, J., and Liu, C. (2020) The interplay between HIF-1α and noncoding RNAs in cancer, *J. Exp. Clin. Cancer Res.*, **39**, 27, doi: 10.1186/S13046-020-1535-Y.
70. Camps, C., Saini, H. K., Mole, D. R., Choudhry, H., Reczko, M., Guerra-Assunção, J. A., Tian, Y. M., Buffa, F. M., Harris, A. L., Hatzigeorgiou, A. G., Enright, A. J., and Ragoussis, J. (2014) Integrated analysis of microRNA and mRNA expression and association with HIF binding reveals the complexity of microRNA expression regulation under hypoxia, *Mol. Cancer*, **13**, 28, doi: 10.1186/1476-4598-13-28.
71. Xiong, G., Stewart, R. L., Chen, J., Gao, T., Scott, T. L., Samayoa, L. M., O'Connor, K., Lane, A. N., and Xu, R. (2018) Collagen prolyl 4-hydroxylase 1 is essential for HIF-1α stabilization and TNBC chemoresistance, *Nat. Commun.*, **9**, 4456, doi: 10.1038/S41467-018-06893-9.
72. Dzhalilova, D. Sh., and Makarova, O. V. (2021) HIF-Dependent mechanisms of relationship between hypoxia tolerance and tumor development, *Biochemistry (Moscow)*, **86**, 1163-1180, doi: 10.1134/S0006297921100011.
73. Martinez, S. R., Ma, Q., Dasgupta, C., Meng, X., and Zhang, L. (2017) MicroRNA-210 suppresses glucocorticoid receptor expression in response to hypoxia in fetal rat cardiomyocytes, *Oncotarget*, **8**, 80249, doi: 10.18632/ONCOTARGET.17801.
74. Fasanaro, P., D'Alessandra, Y., di Stefano, V., Melchionna, R., Romani, S., Pompilio, G., Capogrossi, M. C., and Martelli, F. (2008) MicroRNA-210 modulates endothelial cell response to hypoxia and inhibits the receptor tyrosine kinase ligand ephrin-A3, *J. Biol. Chem.*, **283**, 15878-15883, doi: 10.1074/jbc.M800731200.
75. Yang, Y., Gu, J., Li, X., Xue, C., Ba, L., Gao, Y., Zhou, J., Bai, C., Sun, Z., and Zhao, R. C. (2021) HIF-1α promotes the migration and invasion of cancer-associated fibroblasts by miR-210, *Aging Dis.*, **12**, 1794, doi: 10.14336/AD.2021.0315.
76. Camps, C., Buffa, F. M., Colella, S., Moore, J., Sotiriou, C., Sheldon, H., Harris, A. L., Gleadle, J. M., and Ragoussis, J. (2008) hsa-miR-210 Is induced by hypoxia and is an independent prognostic factor in breast cancer, *Clin. Cancer Res.*, **14**, 1340-1348, doi: 10.1158/1078-0432.CCR-07-1755.
77. Ju, C., Wang, M., Tak, E., Kim, B., Emontzpohl, C., Yang, Y., Yuan, X., Kutay, H., Liang, Y., Hall, D. R., Dar, W. A., Bynon, J. S., Carmeliet, P., Ghoshal, K., and Eltzschig, H. K. (2021) Hypoxia-inducible factor-1α-dependent induction of miR122 enhances hepatic ischemia tolerance, *J. Clin. Invest.*, **131**, e140300, 140300-140300, doi: 10.1172/JCI140300.
78. Coronel-Hernández, J., Delgado-Waldo, I., Cantú de León, D., López-Camarillo, C., Jacobo-Herrera, N., Ramos-Payán, R., and Pérez-Plasencia, C. (2022) HypoxaMIRs: key regulators of hallmarks of colorectal cancer, *Cells*, **11**, 1895, doi: 10.3390/CELLS11121895.
79. Ivanova, I. G., Park, C. V., and Kenneth, N. S. (2019) Translating the hypoxic response – the role of HIF protein translation in the cellular response to low oxygen, *Cells*, **8**, 114, doi: 10.3390/CELLS8020114.
80. Yamakuchi, M., Lotterman, C. D., Bao, C., Hruban, R. H., Karim, B., Mendell, J. T., Huso, D., and Lowenstein, C. J. (2010) P53-induced microRNA-107 inhibits HIF-1 and tumor angiogenesis, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **107**, 6334-6339, doi: 10.1073/pnas.0911082107.
81. Cha, S. T., Chen, P. S., Johansson, G., Chu, C. Y., Wang, M. Y., Jeng, Y. M., Yu, S. L., Chen, J. S., Chang, K. J., Jee, S. H., Tan, C. T., Lin, M. T., and Kuo, M. L. (2010) MicroRNA-519c suppresses hypoxia-inducible factor-1alpha expression and tumor angiogenesis, *Cancer Res.*, **70**, 2675-2685, doi: 10.1158/0008-5472.CAN-09-2448.
82. Ghosh, G., Subramanian, I. V., Adhikari, N., Zhang, X., Joshi, H. P., Basi, D., Chandrashekhar, Y. S., Hall, J. L., Roy, S., Zeng, Y., and Ramakrishnan, S. (2010) Hypoxia-induced microRNA-424 expression in human endothelial cells regulates HIF-α isoforms and promotes angiogenesis, *J. Clin. Invest.*, **120**, 4141-4154, doi: 10.1172/JCI42980.
83. Chan, S. Y., Zhang, Y. Y., Hemann, C., Mahoney, C. E., Zweier, J. L., and Loscalzo, J. (2009) MicroRNA-210 controls mitochondrial metabolism during hypoxia by repressing the iron-sulfur cluster assembly proteins ISCU1/2, *Cell Metab.*, **10**, 273-284, doi: 10.1016/j.cmet.2009.08.015.
84. Hui, X., Al-Ward, H., Shaher, F., Liu, C. Y., and Liu, N. (2020) The role of miR-210 in the biological system: a current overview, *Hum. Hered.*, **84**, 233-239, doi: 10.1159/000509280.
85. Taguchi, A., Yanagisawa, K., Tanaka, M., Cao, K., Matsuyama, Y., Goto, H., and Takahashi, T. (2008)

Identification of hypoxia-inducible factor-1A as a novel target for miR-17-92 microRNA cluster, *Cancer Res.*, **68**, 5540-5545, doi: 10.1158/0008-5472.CAN-07-6460.

86. Yang, D., Wang, J., Xiao, M., Zhou, T., and Shi, X. (2016) Role of mir-155 in controlling HIF-1α level and promoting endothelial cell maturation, *Sci. Rep.*, **6**, 1-10, doi: 10.1038/srep35316.
87. Li, Y., Su, J., Li, F., Chen, X., and Zhang, G. (2017) MiR-150 regulates human keratinocyte proliferation in hypoxic conditions through targeting HIF-1α and VEGFA: Implications for psoriasis treatment, *PLoS One*, **12**, e0175459, doi: 10.1371/JOURNAL.PONE.0175459.
88. Yang, B., Xu, Y., Hu, Y., Luo, Y., Lu, X., Tsui, C. K., Lu, L., and Liang, X. (2016) Madecassic acid protects against hypoxia-induced oxidative stress in retinal microvascular endothelial cells via ROS-mediated endoplasmic reticulum stress, *Biomed. Pharmacother.*, **84**, 845-852, doi: 10.1016/J.BIOPHA.2016.10.015.
89. Liang, H., Xiao, J., Zhou, Z., Wu, J., Ge, F., Li, Z., Zhang, H., Sun, J., Li, F., Liu, R., and Chen, C. (2018) Hypoxia induces miR-153 through the IRE1α-XBP1 pathway to fine tune the HIF1α/VEGFA axis in breast cancer angiogenesis, *Oncogene*, **37**, 1961-1975, doi: 10.1038/s41388-017-0089-8.
90. Mathew, L. K., Lee, S. S., Skuli, N., Rao, S., Keith, B., Nathanson, K. L., Lal, P., and Simon, M. C. (2014) Restricted expression of miR-30c-2-3p and miR-30a-3p in clear cell renal cell carcinomas enhances HIF2α activity, *Cancer Discov.*, **4**, 53-60, doi: 10.1158/2159-8290.CD-13-0291.
91. Zhang, H., Pu, J., Qi, T., Qi, M., Yang, C., Li, S., Huang, K., Zheng, L., and Tong, Q. (2012) MicroRNA-145 inhibits the growth, invasion, metastasis and angiogenesis of neuroblastoma cells through targeting hypoxia-inducible factor 2 alpha, *Oncogene*, **33**, 387-397, doi: 10.1038/onc.2012.574.
92. Bartoszewska, S., Kochan, K., Piotrowski, A., Kamysz, W., Ochocka, R. J., Collawn, J. F., and Bartoszewski, R. (2015) The hypoxia-inducible miR-429 regulates hypoxia-inducible factor-1α expression in human endothelial cells through a negative feedback loop, *FASEB J.*, **29**, 1467-1479, doi: 10.1096/fj.14-267054.
93. Prives, C., and Hall, P. A. (1999) The p53 pathway, *J. Pathol.*, **187**, 112-126, doi: 10.1002/(SICI)1096-9896(199901)187:1<112::AID-PATH250>3.0.CO;2-3.
94. Deng, B., Du, J., Hu, R., Wang, A. P., Wu, W. H., Hu, C. P., Li, Y. J., and Li, X. H. (2016) MicroRNA-103/107 is involved in hypoxia-induced proliferation of pulmonary arterial smooth muscle cells by targeting HIF-1β, *Life Sci.*, **147**, 117-124, doi: 10.1016/J.LFS.2016.01.043.
95. Clifford, S. C., Astuti, D., Hooper, L., Maxwell, P. H., Ratcliffe, P. J., and Maher, E. R. (2001) The pVHL-associated SCF ubiquitin ligase complex: molecular genetic analysis of elongin B and C, Rbx1 and HIF-1α in renal cell carcinoma, *Oncogene*, **20**, 5067-5074, doi: 10.1038/sj.onc.1204602.
96. Mizuno, Y., Tokuzawa, Y., Ninomiya, Y., Yagi, K., Yatsuka-Kanesaki, Y., Suda, T., Fukuda, T., Katagiri, T., Kondoh, Y., Amemiya, T., Tashiro, H., and Okazaki, Y. (2009) miR-210 promotes osteoblastic differentiation through inhibition of AcvR1b, *FEBS Lett.*, **583**, 2263-2268, doi: 10.1016/j.febslet.2009.06.006.
97. Rouault, T. A., and Tong, W. H. (2008) Iron-sulfur cluster biogenesis and human disease, *Trends Genet.*, **24**, 398-407, doi: 10.1016/j.tig.2008.05.008.
98. Virga, F., Cappellesso, F., Stijlemans, B., Henze, A. T., Trotta, R., Van Audenaerde, J., Mirchandani, A. S., Sanchez-Garcia, M. A., Vandewalle, J., Orso, F., Riera-Domingo, C., Griffa, A., Ivan, C., Smits, E., Laoui, D., Martelli, F., Langouche, L., Van den Berghe, G., Feron, O., Ghesquière, B., Prenen, H., Libert, C., Walmsley, S. R., Corbet, C., Van Ginderachter, J. A., Ivan, M., Taverna, D., and Mazzone, M. (2021) Macrophage miR-210 induction and metabolic reprogramming in response to pathogen interaction boost life-threatening inflammation, *Sci. Adv.*, **7**, eabf0466, doi: 10.1126/sciadv.abf0466.
99. Del Mauro, J. S., Prince, P. D., Santander Plantamura, Y., Allo, M. A., Parola, L., Fernandez Machulsky, N., Morettón, M. A., Bin, E. P., González, G. E., Bertera, F. M., Carranza, A., Berg, G., Taira, C. A., Donato, M., Chiappetta, D. A., Polizio, A. H., and Höcht, C. (2021) Nebivolol is more effective than atenolol for blood pressure variability attenuation and target organ damage prevention in L-NAME hypertensive rats, *Hypertens. Res.*, **44**, 791-802, doi: 10.1038/s41440-021-00630-4.
100. Powell, R. E., Tai, Y. Y., Kennedy, J. N., Seymour, C. W., and Chan, S. Y. (2022) Circulating hypoxia-dependent miR-210 is increased in clinical sepsis subtypes: A cohort study, *J. Transl. Med.*, **20**, 448, doi: 10.1186/s12967-022-03655-6.
101. Alfaifi, J., Germain, A., Heba, A. C., Arnone, D., Gailly, L., Ndiaye, N. C., Viennois, E., Caron, B., Peyrin-Biroulet, L., and Dreumont, N. (2022) Deep dive into microRNAs in inflammatory bowel disease, *Inflamm. Bowel Dis.*, doi: 10.1093/ibd/izac250.
102. Paraskevi, A., Theodoropoulos, G., Papaconstantinou, I., Mantzaris, G., Nikiteas, N., and Gazouli, M. (2012) Circulating MicroRNA in inflammatory bowel disease, *J. Crohns Colitis*, **6**, 900-904, doi: 10.1016/j.crohns.2012.02.006.
103. Viennois, E., Zhao, Y., Han, M. K., Xiao, B., Zhang, M., Prasad, M., Wang, L., and Merlin, D. (2017) Serum miRNA signature diagnoses and discriminates murine colitis subtypes and predicts ulcerative colitis in humans, *Sci. Rep.*, **7**, 2520, doi: 10.1038/s41598-017-02782-1.
104. Yan, Y., Kolachala, V., Dalmasso, G., Nguyen, H., Laroui, H., Sitaraman, S. V., and Merlin, D. (2009)

Temporal and spatial analysis of clinical and molecular parameters in dextran sodium sulfate induced colitis, *PLoS One*, **4**, e6073, doi: 10.1371/journal.pone.0006073.
105. Vijay-Kumar, M., Sanders, C. J., Taylor, R. T., Kumar, A., Aitken, J. D., Sitaraman, S. V., Neish, A. S., Uematsu, S., Akira, S., Williams, I. R., and Gewirtz, A. T. (2007) Deletion of TLR5 results in spontaneous colitis in mice, *J. Clin. Invest.*, **117**, 3909-3921, doi: 10.1172/JCI33084.
106. Kühn, R., Löhler, J., Rennick, D., Rajewsky, K., and Müller, W. (1993) Interleukin-10-deficient mice develop chronic enterocolitis, *Cell*, **75**, 263-274, doi: 10.1016/0092-8674(93)80068-p.
107. Schaefer, J. S., Attumi, T., Opekun, A. R., Abraham, B., Hou, J., Shelby, H., Graham, D. Y., Streckfus, C., and Klein, J. R. (2015) MicroRNA signatures differentiate Crohn's disease from ulcerative colitis, *BMC Immunol.*, **16**, 5, doi: 10.1186/s12865-015-0069-0.
108. Takagi, T., Naito, Y., Mizushima, K., Hirata, I., Yagi, N., Tomatsuri, N., Ando, T., Oyamada, Y., Isozaki, Y., Hongo, H., Uchiyama, K., Handa, O., Kokura, S., Ichikawa, H., and Yoshikawa, T. (2010) Increased expression of microRNA in the inflamed colonic mucosa of patients with active ulcerative colitis, *J. Gastroenterol. Hepatol.*, **25**, S129-S133, doi: 10.1111/j.1440-1746.2009.06216.x.
109. Bakirtzi, K., Hatziapostolou, M., Karagiannides, I., Polytarchou, C., Jaeger, S., Iliopoulos, D., and Pothoulakis, C. (2011) Neurotensin signaling activates microRNAs-21 and -155 and Akt, promotes tumor growth in mice, and is increased in human colon tumors, *Gastroenterology*, **141**, 1749-1761, doi: 10.1053/j.gastro.2011.07.038.
110. Temraz, S., Mukherji, D., Alameddine, R., and Shamseddine, A. (2014) Methods of overcoming treatment resistance in colorectal cancer, *Crit. Rev. Oncol. Hematol.*, **89**, 217-230, doi: 10.1016/j.critrevonc.2013.08.015.
111. Nijhuis, A., Thompson, H., Adam, J., Parker, A., Gammon, L., Lewis, A., Bundy, J. G., Soga, T., Jalaly, A., Propper, D., Jeffery, R., Suraweera, N., McDonald, S., Thaha, M. A., Feakins, R., Lowe, R., Bishop, C. L., and Silver, A. (2017) Remodelling of microRNAs in colorectal cancer by hypoxia alters metabolism profiles and 5-fluorouracil resistance, *Hum. Mol. Genet.*, **26**, 1552-1564, doi: 10.1093/hmg/ddx059.

THE ROLE OF microRNA IN THE REGULATION OF CELLULAR RESPONSES TO HYPOXIA

Review

M. V. Silina[1]*, D. Sh. Dzhalilova[1], and O. V. Makarova[1,2]

[1] *Avtsyn Research Institute of Human Morphology, Petrovsky National Research Centre of Surgery, 117418 Moscow, Russia; e-mail: marusyasilina99@yandex.ru*

[2] *Faculty of Biology, Lomonosov Moscow State University, 119234 Moscow, Russia*

The impact of hypoxia causes changes in the transcription of genes that contribute to the adaptation of cells to a lack of oxygen. The main mechanism regulating the cellular response to hypoxia is the activation of a group of transcription factors of the HIF (Hypoxia-Inducible Factor) family, which include several isoforms and control the expression of more than a thousand genes. HIF activity is regulated at various levels, including by small non-coding RNA molecules called microRNAs (miRNAs). miRNAs regulate the cellular response to hypoxia by influencing the activation of HIF, its degradation, and the translation of proteins dependent on it. At the same time, HIF also affects miRNA biogenesis. Data on the relationship of a particular HIF isoform with miRNA are contradictory, since studies are performed using different cell lines, different types of experimental animals and clinical material, as well as at different oxygen concentrations and different durations of hypoxic exposure. In addition, HIF expression may be affected by the initial resistance of organisms to lack of oxygen, which is not taken into account in studies. This review analyzes data on the effect of hypoxia on the biogenesis and functioning of miRNAs, as well as the effect of microRNAs on mRNAs of genes involved in adaptation to oxygen deficiency. Understanding the mechanisms of the relationship between HIF, hypoxia, and miRNA is necessary to develop new approaches to personalized therapy for diseases accompanied by oxygen deficiency.

Keywords: hypoxia, microRNA, HIF