

## РЕГУЛОМ микроРНК ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ФЕНОТИПАХ АТЕРОСКЛЕРОЗА

© 2022 г. М. С. Назаренко<sup>а, б, \*</sup>, Ю. А. Королёва<sup>а</sup>, А. А. Зарубин<sup>а</sup>, А. А. Слепцов<sup>а</sup>

<sup>а</sup> Научно-исследовательский институт медицинской генетики, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, Томск, 634050 Россия

<sup>б</sup> Сибирский государственный медицинский университет, Томск, 634050 Россия

\*e-mail: maria.nazarenko@medgenetics.ru

Поступила в редакцию 29.07.2021 г.

После доработки 25.08.2021 г.

Принята к публикации 26.08.2021 г.

Нарушение регуляции экспрессии микроРНК связано с предрасположенностью ко многим заболеваниям, в том числе к атеросклеротическому поражению коронарных и сонных артерий и развитию таких осложнений, как ишемическая болезнь сердца, инфаркт миокарда, хроническая ишемия головного мозга, ишемический инсульт. В последнее время появляется все больше работ, в которых анализируется регулом микроРНК, включающий сеть регуляторных элементов экспрессии собственно микроРНК и мишеней, находящихся под их контролем. В обзоре рассмотрена экспрессия микроРНК и изменения метилирования ДНК в области генов микроРНК в артериях человека при их атеросклеротическом поражении, а также проанализирована связь однонуклеотидных полиморфизмов и вариаций числа копий участков ДНК в области генов микроРНК с клиническими осложнениями атеросклероза.

**Ключевые слова:** регулом микроРНК, экспрессия, метилирование ДНК, однонуклеотидные варианты, вариации числа копий участков ДНК, атеросклероз, ишемическая болезнь сердца, инфаркт миокарда, ишемический инсульт

**DOI:** 10.31857/S0026898422020136

### ВВЕДЕНИЕ

Атеросклероз — комплексное, хроническое воспалительное заболевание с прогрессивным течением, характеризующееся ремоделированием артерий, появлением в них атеросклеротических бляшек со стенозом просвета и развитием ишемии, тромбоза/эмболии органов-мишеней, в частности сердца, головного мозга и др. Патологические изменения в артериях включают дисфункцию эндотелиальных клеток, отложение окисленных липопротеинов и инфильтрацию стенки артерии моноцитами/макрофагами с их превращением в пенистые клетки, утолщение интимы, миграцию и пролиферацию гладкомышечных клеток (ГМК), трансдифференцировку фенотипа клеток, кальцификацию, ангиогенез, образование фиброзной бляшки с липидно-некротическим ядром и последующей ее дестабилизацией [1–3].

Практически во всех стадиях развития атеросклероза (от ранней дисфункции эндотелия до эрозии или разрыва нестабильной атеросклеротической бляшки) участвуют микроРНК — малые регуляторные эволюционно консервативные некодирующие РНК (~16–27 н.) [4–8]. Экспрессия микроРНК в клетках крови и артерий на каждой стадии развития атеросклероза контролируется

различными стимулами, а сами микроРНК регулируют множество сигнальных путей, вовлеченных в формирование и дестабилизацию атеросклеротической бляшки [5, 6].

Механизм действия микроРНК заключается преимущественно в негативной регуляции экспрессии генов через деграцию мРНК или репрессию трансляции мРНК-мишеней в цитоплазме клеток [9–11]. Однако в клеточном ядре отдельные микроРНК могут активировать транскрипцию генов, действуя как триггеры энхансеров [11].

Согласно онлайн-базе данных miRBase v. 22.1, в тканях человека обнаружено более 2600 микроРНК [12], которые могут регулировать экспрессию более 60% всех белоккодирующих генов, участвуя тем самым во всех основных биологических процессах [9, 12, 13]. Транскрипция генов микроРНК, локализованных в межгенном пространстве, контролируется их собственными регуляторными элементами, в то время как микроРНК, расположенные в области белоккодирующих генов, часто обладают общим промотором с геном-хозяином [14, 15]. Тем не менее, примерно 50% внутригенных микроРНК имеют собственный промотор [16].

Считается, что гены микроРНК составляют около 1–5% нуклеотидной последовательности всех генов человека [11, 17]. Гены микроРНК могут располагаться либо в области белоккодирующих генов (экзонов/интронов), либо в межгенных областях [14, 18]. Согласно базе данных miRIAD [19], среди 1881 микроРНК число экзонных микроРНК составляет 169 (9%), интронных – 988 (52.5%), а межгенных – 724 (38.5%).

В базе данных HMDD v. 3.0: the Human microRNA Disease Database (обновление от 27 марта 2019) [20] представлена информация о 116 экспериментально подтвержденных микроРНК, связанных с атеросклерозом, 26 микроРНК – с атеросклерозом сонных артерий и 67 – с ишемическим инсультом, 85 – с ишемической болезнью сердца (ИБС) и 60 – с острым коронарным синдромом и инфарктом миокарда.

Цель настоящего обзора заключалась в обобщении результатов изучения регулома микроРНК, включающего сеть регуляторных элементов экспрессии собственно микроРНК и мишеней, находящихся под их контролем при атеросклерозе сонных и коронарных артерий.

Представленный обзор сфокусирован на исследовании молекулярно-генетических механизмов атеросклероза через дисрегуляцию микроРНК в клетках и органах-мишенях заболевания (атеросклеротические бляшки), что отличает его от обзоров, в которых охарактеризованы пациенты с острыми сосудистыми событиями и проведен поиск биомаркеров данных патологических состояний через определение экспрессии микроРНК в плазме/сыворотке [21].

Связь микроРНК с атеросклерозом рассмотрена на уровнях экспрессии микроРНК, изменения метилирования ДНК в области генов микроРНК и ДНК-полиморфизма в области генов микроРНК. Сопоставление полученных при этом данных позволит охарактеризовать регулом микроРНК при различных фенотипах атеросклероза у человека (ИБС, инфаркт миокарда, хроническая ишемия головного мозга, ишемический инсульт), что поможет более точно планировать проведение экспериментальных работ, направленных на понимание функций микроРНК и молекулярных механизмов регуляции их функциональной активности, с использованием культур клеток и модельных животных.

#### ЭКСПРЕССИЯ микроРНК В КОРОНАРНЫХ И СОННЫХ АРТЕРИЯХ ПРИ ИХ АТЕРОСКЛЕРОТИЧЕСКОМ ПОРАЖЕНИИ

К настоящему времени опубликовано несколько десятков работ, в которых с использованием различных групп сравнения и методов проанализиро-

вано изменение экспрессии микроРНК в цельных сосудах человека при их поражении атеросклерозом. В большинстве исследований анализировали экспрессию отдельных микроРНК в тканях артерий с помощью ПЦР в режиме реального времени [22–33]. Кроме того, сравнивали экспрессию микроРНК в атеросклеротических бляшках коронарных или сонных артерий и в интактных сосудах, используя для этого микрочипы [34–40].

В частности, в пионерском исследовании Raitoharju E. и соавт. (2011) с использованием микрочипов выявлено 58 микроРНК, которые дифференциально экспрессировались в атеросклеротических бляшках различной локализации по сравнению с интактными внутренними грудными артериями [34]. Увеличение экспрессии пяти микроРНК (miR-21, -34a, -146a, -146b-5p и -210) в атеросклеротических бляшках подтверждено с помощью ПЦР в режиме реального времени на большей по размеру выборке тканей артерий. Экспрессия 187 мРНК генов-мишеней данных микроРНК была снижена в атеросклеротических бляшках. Белковые продукты этих генов участвуют в передаче сигнала, регуляции транскрипции и транспорте везикул.

В табл. 1 представлена 31 микроРНК, экспрессия которых в атеросклеротических бляшках коронарных и сонных артерий статистически значимо отличается от экспрессии в интактных тканях сосудов, либо между нестабильными (симптоматическими) и стабильными (асимптоматическими) атеросклеротическими бляшками в двух или более исследованиях [22–24, 26–41].

Всего в коронарных и сонных артериях при их атеросклеротическом поражении зарегистрировано изменение экспрессии 31 микроРНК (табл. 1). В сонных артериях преобладали микроРНК, экспрессия которых в атеросклеротических бляшках увеличена по сравнению с контролем (miR-19b, -22, -34a, -100, -125a, -127, -133a, -133b, -146a, -155). Экспрессия let-7f, miR-1 и miR-92a снижена в атеросклеротически измененных сонных артериях, а для miR-21, -29b, -143, -145, -221 получены противоречивые результаты в разных исследованиях.

Коронарные артерии, наоборот, отличались большим количеством микроРНК со снижением экспрессии (let-7f, miR-1, -19a, -22, -24, -34a, -106b, -125a, -133b, -143, -145) и разнонаправленным ее изменением в разных исследованиях (miR-9, -10a, -10b, -16, -19b, -21, -25, -29b, -29c, -92a, -100, -155, -486, -497). Увеличение экспрессии miR-146a, -150, -221, -223 зарегистрировано в атеросклеротических бляшках коронарных артерий.

В коронарных и сонных артериях выявлены односторонние изменения экспрессии miR-146a (увеличение), miR-1 и let-7f (уменьшение), тогда

**Таблица 1.** Экспрессия микроРНК в атеросклеротических бляшках коронарных и сонных артерий

miR	Сонные артерии	Коронарные артерии	Ссылка
	Атеросклеротическая бляшка vs интактные ткани/нестабильная vs стабильная атеросклеротическая бляшка	Атеросклеротическая бляшка vs интактные ткани/нестабильная vs стабильная атеросклеротическая бляшка	
-1 <sup>†</sup>	↓	↓	[37–39]
let-7f <sup>†</sup>	↓	↓	[38, 39]
-9	НД	↑	[37]
	НД	↓	[39]
-10a	НД	↑	[37]
	НД	↓	[40]
-10b	НД	↑	[37]
	НД	↓	[40]
-16 <sup>†</sup>	НД	↑	[37]
	НД	↓	[40]
-19a	НД	↓	[37, 40]
-19b	↑	↑	[37–39]
	НД	↓	[40]
-21 <sup>†</sup>	↑	↑	[28, 34, 38, 39]
	↓ К (≤6 недель)	↓	[37, 38]
	↓ К (>14 дней), Г (тонкая покрывка, разрывы)	НД	[33]
-22	↑	↓	[37–39]
-24 <sup>†</sup>	НД	↓ Г	[26]
	НД	↓	[37]
-25	НД	↑	[37]
	НД	↓	[40]
-29b <sup>†</sup>	↑	↑	[34, 39]
	↓	↓	[37, 38]
-29c	НД	↓	[37]
	НД	↑	[36]
-34a	↑	↓	[34, 37]
-92a	↓	↓	[34, 37]
	НД	↑	[39]
-100	↑ К	↑	[22, 29, 36]
	НД	↓	[37]
-106b <sup>†</sup>	НД	↓	[37, 40]
-125a	↑ К	↓	[29, 41]
-127	↑ К	НД	[22, 29]
-133a <sup>†</sup>	↑ К	НД	[22, 29]
-133b	↑ К	↓	[22, 37]
	↑ Г (низкая степень кальцификации)	НД	[42]

Таблица 1. Окончание

miR	Сонные артерии	Коронарные артерии	Ссылка
	Атеросклеротическая бляшка vs интактные ткани/нестабильная vs стабильная атеросклеротическая бляшка	Атеросклеротическая бляшка vs интактные ткани/нестабильная vs стабильная атеросклеротическая бляшка	
-143	↓	↓	[34, 37, 39]
	↑	НД	[38]
	↓ К (≤6 недель)	НД	[38]
-145 <sup>†</sup>	↓	↓	[23, 37]
	↑ К	НД	[22, 29]
-146a <sup>†</sup>	↑	↑	[28, 34, 37]
-150	НД	↑	[32, 37]
-155 <sup>†</sup>	↑	↓	[24, 34, 36]
	НД	↑	[41]
-221	↑ К	↑	[24, 29, 31, 36, 37]
	↓ К (<5 дней)	НД	[24]
-223 <sup>†</sup>	НД	↑	[37, 39]
-486 <sup>†</sup>	НД	↑	[37]
	НД	↓	[40]
-497	НД	↑	[36]
	НД	↓	[37]

Примечание. Атеросклеротическая бляшка, нестабильная клинически (К) и гистологически (Г). НД – нет данных. <sup>†</sup> – микроРНК, которые определяются в сыворотке/плазме крови индивидов при ИБС, остром коронарном синдроме, инфаркте миокарда, ишемическом и геморрагическом инсультах (согласно [21]).

как экспрессия miR-21 и miR-29b в разных исследованиях или увеличивалась, или уменьшалась.

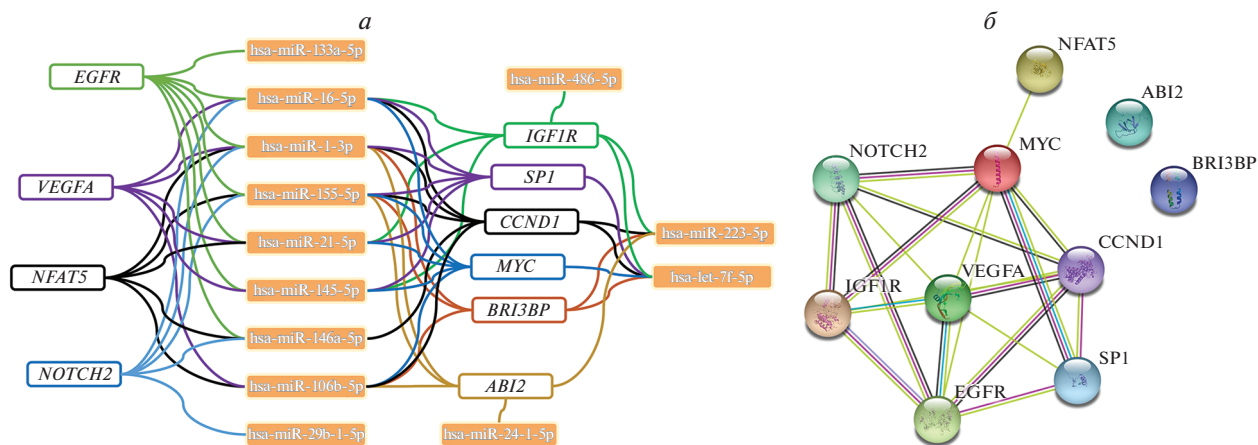
В сонных артериях экспрессия miR-21, -100, -125a, -127, -133a/b, -143/-145, -221 связана с нестабильностью атеросклеротических бляшек [22, 27, 29, 33, 38, 42]. Нестабильные бляшки характеризуются увеличением экспрессии большинства микроРНК (miR-100, -127, -133a/b, -145) и снижением экспрессии miR-21 и miR-143. Противоречивые результаты получены для miR-221. В коронарных артериях снижение экспрессии miR-24 связано с нестабильностью атеросклеротической бляшки [26].

Экспрессию микроРНК оценивали в биоптатах атеросклеротических бляшек сонных артерий, полученных при эндартерэктомии. В большинстве исследований использовали клинический критерий нестабильности атеросклеротических бляшек – пациенты с симптоматическим стенозом сонных артерий, которые имели острое нарушение мозгового кровообращения (транзиторные ишемические атаки/ипсилатеральный инсульт) менее чем за 6 мес. до операции. Однако в от-

дельных исследованиях сроки от острого нарушения мозгового кровообращения до операции варьировали от менее 5 дней и до 3 мес. [27, 33, 38]. Лишь в единичных работах экспрессию микроРНК определяли в макрофагах, взятых из областей гистологически нестабильной атеросклеротической бляшки (с низкой степенью кальцификации [42]), в фиброзной покрышке атеросклеротических бляшек с истончением (<200 мкм) и разрывами [33].

Показана связь экспрессии микроРНК miR-145 и семейства let-7 в атеросклеротических бляшках сонных артерий с факторами риска атеросклероза (артериальная гипертензия и сахарный диабет типа 2) [25, 43].

В систематическом обзоре Sharma и соавт. отмечено, что 155 микроРНК, определяемых в сыворотке/плазме крови индивидов, ассоциированы с ИБС, острым коронарным синдромом, инфарктом миокарда, ишемическим и геморрагическим инсультами [21]. Из них 33 микроРНК обнаружены более чем в одном исследовании. Сопоставление этих микроРНК в сыворотке/плазме и в тканях



**Рис. 1.** Взаимодействие микроРНК и их генов мишеней при атеросклерозе коронарных и сонных артерий. *a* – МикроРНК и их гены-мишени, которые регулируются пятью и более микроРНК; *б* – взаимодействие между собой белковых продуктов генов-мишеней микроРНК. Для визуализации использован инструмент STRING v. 11.0 [48].

коронарных и сонных артерий при их атеросклеротическом поражении выявило среди них 13 общих (*let-7f*, *miR-1*, *-16*, *-21*, *-24*, *-29b*, *-106b*, *-133a*, *-145*, *-146a*, *-155*, *-223*, *-486*; табл. 1). Эти микроРНК, по-видимому, представляют особый интерес не только в качестве биомаркеров осложненного течения атеросклероза, но и как терапевтические мишени при данной патологии.

Как правило, в атеросклеротических бляшках коронарных и сонных артерий анализируют экспрессию отдельных микроРНК. Принимая во внимание сложный и длительный процесс формирования атеросклеротических бляшек, характеризующихся высокой клеточной гетерогенностью, можно предположить возможность совместного изменения экспрессии различных микроРНК при развитии атеросклероза или изменения клеточного состава артерий с формированием модулей коэкспрессии микроРНК. Однако многие аспекты взаимосвязей данных молекул между собой и регуляции мРНК их генов-мишеней остаются малоизученными. Существенную помощь в решении данной проблемы оказывают биоинформатические подходы, инструменты и базы данных, которые позволяют функционально аннотировать микроРНК и их гены-мишени [44, 45].

Например, характеристика 13 упомянутых микроРНК (*let-7f*, *miR-1*, *-16*, *-21*, *-24*, *-29b*, *-106b*, *-133a*, *-145*, *-146a*, *-155*, *-223*, *-486*), дифференциально экспрессирующихся в коронарных/сонных артериях, и определяемых в сыворотке/плазме крови индивидов с клиническими осложнениями атеросклероза с помощью инструментов miRTargetLink 2.0 [44], miEAA 2.0 [46] и базы miRTarBase [47], позволяет выделить 10 генов-мишеней (*EGFR*, *ABI2*, *IGF1R*, *NFAT5*, *BRI3BP*, *VEGFA*, *CCND1*, *SP1*, *MYC*, *NOTCH2*), которые регулируются пятью и более микроРНК (рис. 1а).

Гены *EGFR* и *CCND1* служат мишенями семи микроРНК, а их белковые продукты взаимодействуют с *IGF1R*, *VEGFA*, *SP1*, *MYC*, *NOTCH2* и контролируют ангиогенез (рис. 1б). Активация иммунного ответа связана с белковым продуктом гена *NFAT5*, миграция и адгезия клеток – *ABI2*, апоптоз – *BRI3BP*.

Следует отметить, что методические подходы к изучению экспрессии микроРНК в тканях артерий при их поражении атеросклерозом с помощью микрочипов и ПЦР в режиме реального времени имеют определенные недостатки, так как анализируют только уже известные микроРНК. Кроме того, определенную сложность представляет сравнение результатов, полученных в разных работах, что связано с несопоставимостью разных платформ микрочипов или групп сравнения. Массовое параллельное секвенирование микроРНК (microRNA-seq) свободно от таких недостатков, но на данный момент этот подход не применяли для исследования клеток атеросклеротической бляшки, его использовали только для анализа экспрессии микроРНК в плазме или в цельной крови пациентов с ИБС [49].

#### МЕТИЛИРОВАНИЕ ДНК В ОБЛАСТИ ГЕНОВ микроРНК В КОРОНАРНЫХ И СОННЫХ АРТЕРИЯХ ПРИ ИХ АТЕРОСКЛЕРОТИЧЕСКОМ ПОРАЖЕНИИ

Несмотря на то что микроРНК участвуют в эпигенетической регуляции функциональной активности многих генов, сами эти молекулы могут быть мишенями для эпигенетических модификаций. Экспрессия микроРНК контролируется, в том числе, посредством эпигенетических механизмов, один из которых – метилирование CpG-

островков (скопления CpG-динуклеотидов), перекрывающих промоторные участки генов или локализованных рядом с сайтом начала транскрипции микроРНК [15, 50]. Обычно CpG-островки гипометилированы, а их избыточное гиперметилирование подавляет транскрипцию и, следовательно, ингибирует экспрессию соответствующих генов [51–53].

Метилирование более характерно для подавления экспрессии генов микроРНК, чем белоккодирующих генов. По данным разных авторов метилированию подвержено 11–30% генов микроРНК и только 1–2% белоккодирующих генов [15, 50, 54]. Кроме того, примерно 50% генов микроРНК содержат CpG-островки и, следовательно, могут регулироваться посредством метилирования ДНК [55, 56].

Однако регуляция экспрессии микроРНК путем метилирования ДНК происходит и вне CpG-островков [55]. В частности, контроль экспрессии интронных микроРНК может осуществляться в области их собственных промоторов и обладать тканевой и клеточной специфичностью. Собственные промоторы интронных микроРНК представляют собой участки генома с низким содержанием CpG-динуклеотидов, насыщенные такими элементами, как ТАТА-боксы и сайты связывания различных факторов транскрипции [16]. Кроме того, изменение метилирования ДНК в области энхансеров также может модулировать экспрессию микроРНК [57].

При исследовании атеросклеротических поражений артерий различной локализации внимание уделяется, главным образом, анализу метилирования ДНК в области промоторов белоккодирующих генов. Лишь в нескольких работах изменение уровня метилирования ДНК выявлено в области генов микроРНК в атеросклеротических бляшках [58–63].

В частности, с использованием микрочипа Illumina Infinium Human Methylation27 BeadChip выявлено снижение уровня метилирования в области CpG-островка (расположенного в области промотора гена *HOXD4*), на который приходится кодирующий регион гена *MIR10B*, в тканях атеросклеротических бляшек коронарных и сонных артерий, а также в лейкоцитах периферической крови больных атеросклерозом по сравнению с непораженными внутренними грудными артериями и большими подкожными венами нижних конечностей [58, 62].

Следует отметить, что экспрессия miR-10b изменяется в цельных артериях человека при их поражении атеросклерозом [37, 40]. У мышей с нокаутом гена *Mir10b*, получавших богатую холестерином диету, и с частичным лигируанием сонных артерий, атеросклероз не развивался [64]. Как показано на клеточных культурах, увеличение экспрес-

сии miR-10b в эндотелиальных клетках (ЭК), действующей через гены-мишени *LTBP1* и *HOXD10*, способствует их миграции и ангиогенезу, а также снижению способности ЭК типа II подавлять пролиферацию ГМК. В макрофагах увеличение экспрессии miR-10b через гены-мишени *ABCA1* и *ABCG1* приводит к уменьшению эффлюкса и обратного транспорта холестерина, а при воздействии данной микроРНК на ген-мишень *TIP30* усиливается пролиферация ГМК [64–67].

Китайские исследователи оценивали уровень метилирования ДНК, экспрессию мРНК и микроРНК в пулированных *post mortem* образцах коронарных артерий из области выраженных атеросклеротических бляшек и интактных регионов, используя микрочип GoldenGate Methylation Cancer Panel I (“Illumina”, США), 22K human genome array chip (“CapitalBio Corp”, США) и miR-CURY LNA Array (“Exiqon”, США). Выявлены не только гены, клеточные процессы и сигнальные пути, участие которых в атеросклерозе рассматривали ранее, но и miR-519d [59].

В другой работе с использованием микрочипа Illumina HumanMethylation450 BeadChip сравнили уровень метилирования отдельных CpG-сайтов в атеросклеротических бляшках аорты и сонных артерий и в непораженных тканях аорты. Причем образцы аорты взяты от одних и тех же индивидов *post mortem*, а образцы сонных артерий, полученные в результате каротидной эндатерэктомии, представляли собой стабильные бляшки морфологических типов III–VI. Среди генов, дифференциально метилированных в атеросклеротических бляшках и в непораженной части аорты, выявлен ген *MIR23B*. Изменение уровня метилирования ДНК в области этого гена и его экспрессии в артериях подтверждено с помощью альтернативных методов [60].

Финские исследователи с помощью технологии полногеномного бисульфитного секвенирования оценили уровень и рисунок метилирования ДНК в атеросклеротических бляшках бедренных артерий и интактных образцах внутренних грудных артерий, а также сопоставили их с данными экспрессионных микрочипов [61]. Более 140 областей генов микроРНК были гипометилированы в атеросклеротических бляшках, включая связанные с атеросклерозом микроРНК miR-10b, -27b и -758. Существенное гипометилирование выявлено в локусе 14q32, содержащем крупный кластер генов микроРНК. Повышение экспрессии генов этого кластера (miR-127, -136, -410, -431, -432 и -433) показано также в атеросклеротических бляшках. Таким образом, это одно из первых исследований, в котором установлена связь между метилированием ДНК и экспрессией микроРНК.

Однако в одной из недавних работ обнаружены значительные различия в экспрессии кластера

микроРНК, расположенных в локусе 14q32, в здоровых тканях сосудов различной локализации ( $n = 109$ ). Уровень метилирования ДНК в трех регионах CpG-островков (дифференциально метилированные регионы – DMR) в данном локусе также сильно варьирует между разными сосудами и ассоциирован с их патологическими изменениями, но не связан с экспрессией при-микроРНК и зрелых микроРНК [68].

В работе Ehrlich и соавт. с помощью полногеномного бисульфитного секвенирования трех образцов аорты выявлено гиперметилирование энхансерной области гена *CARMN (MIR143HG)* протяженностью 26 т.п.н. в пораженной атеросклерозом аорте по сравнению с непораженной аортой и другими тканями, а также потенциальная связь изменения метилирования ДНК анализируемой области с экспрессией miR-143 и miR-145 [63].

В то же время, при анализе ассоциации экспрессии 283 микроРНК с метилированием более чем 400000 CpG-сайтов в клетках цельной крови, полученных от 3565 пациентов с ИБС в исследовании Framingham Heart Study, обнаружена связь дифференциального метилирования 227 CpG-сайтов (cis-eQTM) с экспрессией 40 близлежащих микроРНК на уровне значимости  $p < 0.01$  [69]. Чаще всего cis-eQTM располагались в промоторных регионах и областях с Polycomb-репрессированным состоянием; для 60% из них показана обратная ассоциация метилирования с экспрессией близлежащей микроРНК. При проведении Менделевской рандомизации дополнительно выявили 58 пар cis-eQTM CpG-сайтов и микроРНК, изменения метилирования ДНК в которых, по-видимому, влияют на экспрессию микроРНК. В число этих cis-eQTM входит cg18089426, влияющий на экспрессию miR-127. Однако повышение уровня метилирования cis-eQTM в областях “тела” генов микроРНК, напротив, приводило к усилению транскрипции. В частности, обнаружена положительная связь метилирования ДНК и экспрессии cg06000878 и miR-100, а также cg11682508 и miR-133a [69].

Таким образом, изменения уровня метилирования ДНК в области генов микроРНК (miR-10b, miR-23b, локус 14q32 (miR-127, -136, -410, -431, -432 и -433), miR-143 и miR-145) в клетках атеросклеротических бляшек анализировали в немногочисленных работах, выполненных на цельных и разных по своей локализации сосудах. Остается неясным, специфичен ли профиль метилирования ДНК, в том числе в области генов микроРНК, в артериях различной локализации, а также связан ли он с клеточным составом и клиническими признаками атеросклероза. Кроме того, оценку роли изменений метилирования ДНК в области генов микроРНК в пораженных атеросклерозом артериях у человека затрудняет динамический харак-

тер заболевания, а также высокая клеточная гетерогенность тканей сосудов. В связи с этим проведение таких исследований необходимо дополнять использованием модельных животных и клеточных культур.

#### ПОЛИМОРФИЗМ ДНК В ОБЛАСТИ ГЕНОВ МИКРОРНК ПРИ ЗАБОЛЕВАНИЯХ, АССОЦИИРОВАННЫХ С АТЕРОСКЛЕРОЗОМ

Широкогеномные исследования ассоциаций показали, что большая часть однонуклеотидных полиморфизмов (SNP), ассоциированных с атеросклерозом артерий, локализована в некодирующих регионах генома и/или в регуляторных элементах [70]. Учитывая, что генетическая предрасположенность играет важную роль в риске развития данных патологий, полиморфизм в генах микроРНК (в регуляторных регионах, в при- и пре-микроРНК, в зрелой микроРНК), генах их биогенеза и генах-мишенях может иметь функциональную значимость для формирования патологии [71].

Предполагается, что количество полиморфных вариантов в генах микроРНК, особенно в генах их биогенеза, меньше, чем в генах-мишенях, поскольку микроРНК консервативны и имеют небольшой размер. В нуклеотидной последовательности 1075 пре-микроРНК выявлено 2257 SNP, в области узнавания мРНК-мишени (seed-region) 207 микроРНК – 246 SNP [72]. В то же время, около 180000 SNP расположены в 3'-нетранслируемой области (UTR) белоккодирующих генов, т.е. теоретически большое количество данных генетических вариантов может быть связано с микроРНК через мРНК [73].

К настоящему времени изучены ассоциации полиморфизма ДНК в области генов микроРНК с клиническими осложнениями атеросклероза коронарных и сонных артерий – ИБС и инфарктом миокарда, ишемическим инсультом, а также с рестенозом коронарных артерий (табл. 2). Наибольшее количество работ посвящено rs2910164:G > C (*MIR146A*) и rs3746444:A > G (*MIR499A*; *MIR499B*).

Ассоциацию полиморфного варианта rs2910164:G > C (*MIR146A*) с атеросклерозом коронарных артерий изучали, главным образом, на китайских популяциях (табл. 2). В отдельных исследованиях установлено повышение риска ИБС и ишемического инсульта у носителей генотипа CC и аллеля C этого полиморфизма. Однако мета-анализ результатов, полученных на выборках жителей Азии, выявил межпопуляционные различия в ассоциации данного полиморфизма с разными патологическими фенотипами атеросклероза коронарных и сонных артерий [77, 79, 80, 86]. Не исключено также существование

**Таблица 2.** Ассоциация полиморфизма ДНК в области генов микроРНК с клиническими осложнениями атеросклероза коронарных и сонных артерий

miR	SNP	Локализация SNP*	Аллель/ генотип риска	Фенотип атеросклероза	Популяция	Размер выборки (случай/контроль)	Ссылка
let-7	rs13293512	8.5 т.п.н. выше гена <i>MIRLET7A1</i>	ТТ	ИИ	Китай	329/357	[74]
-27a	rs895819	В теле гена <i>MIR27A</i>	GG	ИМ	Китай	287/646	[75]
			G/GG	Атеросклероз коронарных, сонных и периферических артерий	Турция	150/145	[76]
			СС	Риск ССЗ – в Южной Корее и Индии, но защитный эффект в популяции Китая	Мета-анализ (Азия)	5433/6278 (12 исследований)	[77]
			C/GC + CC	ИБС	Китай	295/283	[78]
			СС	ИБС	Мета-анализ (разные страны)	13186/14497 (30 исследований)	[79]
			СС	ИБС	Мета-анализ (разные страны)	3138/3097 (8 исследований)	[80]
-146a	rs2910164	В теле гена <i>MIR146A</i>	СС	Рестеноз коронарных артерий	Германия	101/105	[81]
			СС	Атеросклероз сонных артерий	Китай	596/379	[82]
			C/CC	ИИ при атеросклерозе круп- ных артерий	Китай	368/381	[83]
			C	ИИ	Китай	297/300	[84]
			G	ИИ	Южная Корея	678/553	[85]
			G/GG	Риск ИИ только для Южной Кореи	Мета-анализ (разные страны)	3138/3097 (8 исследований)	[80]
			G/GG	Риск ИИ только для Южной Кореи	Мета-анализ (Азия)	2254/2506 (5 исследований)	[86]
			GG	Повторный ИИ	Китай	1139/1585	[87]
-149	rs2292832	В теле гена <i>MIR149</i>	T/TC + CC	ИБС	Южная Корея	522/535	[88]



Таблица 2. Окончание

miR	SNP	Локализация SNP*	Аллель/ генотип риска	Фенотип атеросклероза	Популяция	Размер выборки (случай/контроль)	Ссылка
-196a2	rs11614913	В теле гена <i>MIR196A2</i>	СС+СТ  С	Осложнения ИБС  ИМ	Китай  Россия	956/620  325/185 (исходная выборка), 203/280 (валидационная выборка)	[89]  [90]
-200b	rs7549819	1.5 т.п.н. выше гена <i>MIR200B</i>	ТТ+ТС	Риск ИИ только в Китае	Южная Корея	1873/1856 (4 исследования)	[86]
-423	rs6505162	В теле гена <i>MIR423</i>	А/СА	ИБС	Индия	523/400	[91]
-499	rs3746444	В теле гена <i>MIR499A</i> и <i>MIR499B</i>	А  GG  G  G	Атеросклероз коронарных, сонных и периферических артерий  ИМ  ИИ  ИИ	Турция  Китай  Иран  Китай	150/145  919/889  470/489  296/391	[76]  [93]  [94]  [95]
-618	rs2682818	В теле гена <i>MIR618</i>	GG  GT+TT	Риск ИИ только в китайской популяции  Повторный ИИ	мета-анализ (Азия)  Китай	1505/1475 (3 исследования)  74/779	[86]  [96]
-4513	rs2168518	В теле гена <i>MIR4513</i>	А	ИБС	Мета-анализ (CARDIo- GRAMplusC4D, GWAS)	63746/130681	[97]

\* Локализация SNP указана относительно гена микроРНК. Примечание. ИИ – ишемический инсульт, ИМ – инфаркт миокарда, ИБС – ишемическая болезнь сердца, ССЗ – сердечно-сосудистые заболевания.

различий в молекулярно-генетических механизмах формирования атеросклеротического поражения коронарных и сонных артерий.

В единственной работе, проведенной на европейской выборке (жители Германии), показана связь генотипа *CC* rs2910164 с риском развития рестеноза коронарных артерий, а не собственно их атеросклеротического поражения [81]. Поскольку рестеноз представляет собой четко очерченный фенотип, который отличается от атеросклероза быстрым темпом развития, предполагается, что эпигенетические механизмы могут более тесно участвовать в патогенезе рестеноза по сравнению с атеросклерозом. С другой стороны, учитывая, что частота аллеля *C* rs2910164 в европейских популяциях ниже, чем у жителей Азии (*Ex-AC* 0.22 против 0.39 [98]), полученный результат может быть связан с недостаточной статистической мощностью исследования.

Аллель *G* и генотип *GG* rs3746444:*A>G* (*MIR499A*; *MIR499B*) оказались ассоциированными с развитием инфаркта миокарда и ИИ в популяциях Китая, Южной Кореи и Ирана (табл. 2). Однако в турецкой популяции риск развития атеросклероза коронарных, сонных и периферических артерий был выше у носителей аллеля *A* rs3746444. Противоречия в результатах исследований могут быть связаны со многими факторами, включая, прежде всего, небольшой размер выборки и недостаточную статистическую мощность (в последней работе), а также различия в этническом происхождении индивидов и их отягощенности коморбидными заболеваниями.

Функциональные последствия носительства полиморфного варианта будут различаться в зависимости от его расположения относительно генов микроРНК. Равномерное изменение общего количества всех микроРНК и, соответственно, экспрессии их генов-мишеней происходит при локализации SNP в генах биогенеза микроРНК. Однако к настоящему времени нет крупномасштабных работ, которые анализируют ассоциации полиморфизма ДНК в генах биогенеза микроРНК с сердечно-сосудистыми заболеваниями, обусловленными атеросклерозом.

Наиболее сильно на связывание микроРНК со своими мРНК-мишенями влияют SNP, локализующиеся в “seed-region” зрелой микроРНК. Эти варианты определяют усиление или ослабление связи микроРНК с мРНК, а также возможность потери связи микроРНК со своими изначальными мишенями и/или взаимодействия с новыми мишенями. Например, rs2168518:*G > A*, который располагается в “seed-region” miR-4513, ассоциирован с разными кардиометаболическими фенотипами (уровни глюкозы и липидов в сыворотке крови, артериальное давление), а также с ИБС [97, 99]. Показано, что аллель *A* rs2168518 снижает

уровень и активность зрелой miR-4513, увеличивая тем самым экспрессию гена *GOSR2*, продукт которого обеспечивает транспорт белков в аппарате Гольджи [97].

Полиморфизм в 3'-UTR белоккодирующих генов приводит к потере сайта связывания микроРНК в мРНК и увеличению уровня транскрипта/белка или, наоборот, к образованию нового сайта связывания микроРНК в мРНК и снижению уровня транскрипта/белка. Данные SNP представляют интерес для анализа ассоциации с заболеваниями, поскольку некоторые варианты имеют высокую популяционную частоту или существуют сильные различия в частоте SNP в различных популяциях.

В частности, ген *APOC3* кодирует аполипопротеин С3, который участвует в метаболизме триглицеридов. Снижение уровня *APOC3* в плазме крови приводит к снижению уровня триглицеридов и уменьшению риска развития ИБС. В 3'-UTR гена *APOC3* расположен вариант rs4225:*G > T*. Согласно базе данных 1000 Genomes, частота аллеля *T* составляет 0.21 у жителей Восточной Азии, у европейцев – 0.61 и у африканцев – 0.07 [100]. В популяции Китая индивиды с генотипом *TT* имели более низкий уровень *APOC3* и триглицеридов в плазме, этот генотип снижал также риск ИБС, поскольку аллель *T* связан с супрессией трансляции *APOC3* опосредованно – через взаимодействие мРНК с miR-4271 [101].

Полиморфизм в регуляторных участках генов микроРНК (промоторы, энхансеры) может приводить к нарушению уровня экспрессии отдельных микроРНК. С использованием GWAS выявлены 69 микроРНК, расположенных в пределах 100 т.п.н. от SNP, связанных с изменением уровней липидов в крови. Функциональный анализ, проведенный на модельных животных, подтвердил связь двух микроРНК (miR-128-1 и miR-148a) с регуляцией метаболизма липидов [102].

Генетические варианты в при- и пре-микроРНК затрагивают процессинг отдельных микроРНК и, соответственно, изменяют уровень зрелой микроРНК и ее связывание с мРНК генов-мишеней. В частности, наиболее активно при атеросклерозе и его осложнениях (ИБС, инфаркт миокарда, ишемический инсульт) изучали вариант rs2910164:*C>G* (табл. 2). Полиморфизм rs2910164 приводит к замене *G > C* в последовательности пре-микроРНК гена *MIR146A* и далее в “пассажирской цепи” зрелой miR-146a-3p или miR-146a\*. В результате нарушается процессинг и конформация вторичной структуры pre-miR-146a и ее стабильность, уменьшается продукция зрелой miR-146a в клеточной линии U2OS [103]. Показано, что генотип *CC* и аллель *C* связаны со снижением экспрессии miR-146a в клетках, что увеличивает содержание мРНК ее мишеней

(*IRAK1*, *TRAF6*), внося вклад в формирование провоспалительного профиля и, следовательно, риска заболевания. Однако в тканях атеросклеротических бляшек коронарных и сонных артерий экспрессия *miR-146a* выше, чем в интактных сосудах [28, 34, 37]. Гены-мишени и молекулярные механизмы (пролиферация, апоптоз и миграция ГМК, модулирование иммунного ответа), посредством которых *miR-146a* действует в клетках артерий при их поражении атеросклерозом, активно изучаются в настоящее время [104, 105].

Вариант *rs11614913:C>T (MIR196A2)* также относится к SNP пре-микроРНК. Функциональный эффект этого варианта связан с нарушением процессинга *pre-miR-196a2*, изменением уровня зрелой *miR-196a2* и последующего связывания данной микроРНК с мРНК генов-мишеней. Аллель С (генотипы *CC+CT*) *rs11614913* ассоциирован с риском развития инфаркта миокарда у русских и осложненным течением ИБС в популяции Китая [89, 90]. Однако мета-анализ южноазиатских популяций показал, что, напротив, генотипы *TT + TC rs11614913* связаны с повышенным риском развития ишемического инсульта у китайцев, но не у жителей Южной Кореи [86].

В отличие от SNP связь вариаций числа копий участков ДНК (CNV) с микроРНК и их регуляторной сетью как в норме, так и при атеросклеротическом поражении артерий практически не изучены. Сопоставление локусов микроРНК и регионов CNV выявило 289 генов микроРНК, локализованных в области CNV (*miRNA-CNV*) [106]. Функциональный эффект CNV в области генов микроРНК заключается в изменении их экспрессии — увеличении или уменьшении, либо в отсутствии изменений дозы генов [107]. Однако нам известна всего одна работа [108], в которой анализируется ассоциация *miRNA-CNV* с сердечно-сосудистыми заболеваниями, обнаружена связь CNV в генах *miR-93*, *-122* и *-192* с ИБС в сочетании с сахарным диабетом типа 2.

Ранее Nazarenko M.S. и соавт. у пяти пациентов с атеросклерозом коронарных артерий в сочетании с метаболическим синдромом выявили делецию размером примерно 39 т.п.н. в хромосомной области 3q29 (*chr3:195425875-195464424*; сборка генома GRCh37/hg19). Эта делеция захватывает гены *MIR570* и *MUC20*. Согласно базе данных 1000 Genomes Consortium (Phase 3), популяционная частота CNV в этой области варьирует от 24 до 78% [109]. Более того, увеличение CNV в ней связано с повышением экспрессии *miR-570* в мононуклеарах крови здоровых индивидов [110]. Более того, CNV в области *miR-570* связана с риском формирования пороков развития сердца [111]. Не исключено, что эту CNV можно рассматривать в качестве кандидата для атеросклеротического поражения артерий.

Таким образом, большинство исследований ассоциации полиморфных вариантов в области генов микроРНК (*miR-let-7*, *miR-27a*, *-146a*, *-149*, *-196a2*, *-200b*, *-423*, *-499*, *-618*, *-4513*) с патологическими фенотипами атеросклероза коронарных и сонных артерий выполнены на азиатских популяциях. Наибольшее внимание привлекают полиморфизмы *rs2910164:G>C (MIR146A)* и *rs3746444:A>G (MIR499A; MIR499B)*. Однако результаты этих работ противоречивы (табл. 2). Возможно, что, как и при других многофакторных заболеваниях, существенную роль в формировании предрасположенности к атеросклеротическому поражению артерий играют этнические особенности, кумулятивный эффект многих генетических вариантов, различия в коморбидности индивидов и в молекулярно-генетических механизмах формирования атеросклеротического поражения артерий разных сосудистых бассейнов.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Нарушение биогенеза микроРНК, их экспрессии и регуляторной сети с генами-мишенями активно изучается, поскольку позволит идентифицировать микроРНК — селективные терапевтические мишени или биомаркеры для предсказания/прогноза развития таких клинических осложнений атеросклероза, как ИБС, инфаркт миокарда, хроническая ишемия головного мозга, ишемический инсульт [8, 112–115]. Однако вовлеченность регулома микроРНК в молекулярно-генетические механизмы формирования атеросклероза артерий разных сосудистых бассейнов малоизучена. Изучение биогенеза микроРНК, их экспрессии и регуляторной сети с генами-мишенями у человека *in vivo* основано на анализе одного молекулярного уровня (экспрессии микроРНК, метилирования ДНК, генетического полиморфизма).

При атеросклерозе коронарных и сонных артерий в тканях артерий и плазме/сыворотке крови изменяется экспрессия широкого спектра микроРНК (*miR-let-7f*, *miR-1*, *-16*, *-21*, *-24*, *-29b*, *-106b*, *-133a*, *-145*, *-146a*, *-155*, *-223*, *-486*). Эти микроРНК имеют большое количество генов-мишеней, в том числе *EGFR*, *ABI2*, *IGF1R*, *NFAT5*, *BRI3BP*, *VEGFA*, *CCND1*, *SPI*, *MYC*, *NOTCH2*, белковые продукты которых участвуют в ангиогенезе, миграции и адгезии клеток, апоптозе, активации иммунного ответа.

Метилирование ДНК может контролировать экспрессию многих генов, включая гены микроРНК. Работы, в которых анализируются изменения уровня метилирования ДНК в области генов микроРНК (*miR-10b*, *miR-23b*, локус 14q32 (*miR-127*, *-136*, *-410*, *-431*, *-432* и *-433*), *miR-143* и *miR-145*) в атеросклеротических бляшках, многочисленны и проведены в цельных и разных по своей локализации сосудах. С другой стороны,

подобно другим регуляторным молекулам на функцию и экспрессию микроРНК может влиять генетический полиморфизм. Ассоциацию полиморфных вариантов в области генов микроРНК (miR-let-7, miR-27a, -146a, -149, -196a2, -200b, -423, -499, -618, -4513) с патологическими фенотипами атеросклероза коронарных и сонных артерий изучали преимущественно с использованием отдельных SNP в азиатских популяциях и получили противоречивые результаты.

Цельное представление о молекулярных механизмах многофакторных заболеваний, включая сердечно-сосудистые, могут дать мультиомные исследования, в которых анализируют взаимодействие генетических, эпигенетических, транскриптомных, протеомных, метаболомных, экспозомных факторов [116, 117]. В частности, эпигеном тесно связан с геномом, поскольку генетические варианты в области CpG-сайтов влияют на профиль метилирования ДНК и связывание факторов транскрипции, а в области генов микроРНК – на их структуру или экспрессию. Более того, сами микроРНК могут быть мишенями для эпигенетических модификаций в том случае, когда в области промоторов генов микроРНК изменяется уровень метилирования ДНК, что приводит к изменению их экспрессии. В свою очередь, микроРНК способны регулировать уровень метилирования ДНК, воздействуя на ДНК-метилтрансферазы или метил-CpG-связанные белки. Применение такого интегративного подхода к анализу многофакторных заболеваний может дополнить существующие представления об их патогенезе, а также сгенерировать новые знания, в том числе, определить маркерные молекулы, информативные для оценки тяжести заболевания и прогноза его осложнений, идентифицировать ключевые терапевтические молекулярные мишени, обеспечивая основу для прецизионной медицины.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований в рамках научного проекта № 20-115-50414.

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

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Libby P., Buring J.E., Badimon L., Hansson G.K., Deanfield J., Bittencourt M.S., Tokgözoğlu L., Lewis E.F. (2019) Atherosclerosis. *Nat. Rev. Dis. Primers.* **5**(1), 56. <https://doi.org/10.1038/s41572-019-0106-z>
- Basatemur G.L., Jørgensen H.F., Clarke M., Bennett M.R., Mallat Z. (2019) Vascular smooth muscle cells in atherosclerosis. *Nat. Rev. Cardiol.* **16**(12), 727–744. <https://doi.org/10.1038/s41569-019-0227-9>
- Chinetti-Gbaguidi G., Colin S., Staels B. (2015) Macrophage subsets in atherosclerosis. *Nat. Rev. Cardiol.* **12**(1), 10–17. <https://doi.org/10.1038/nrcardio.2014.173>
- Raitoharju E., Oksala N., Lehtimäki T. (2013) MicroRNAs in the atherosclerotic plaque. *Clin. Chem.* **59**(12), 1708–1721. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2013.204917>
- Andreou I., Sun X., Stone P.H., Edelman E.R., Feinberg M.W. (2015) miRNAs in atherosclerotic plaque initiation, progression, and rupture. *Trends. Mol. Med.* **21**(5), 307–318. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2015.02.003>
- Feinberg M.W., Moore K.J. (2016) MicroRNA regulation of atherosclerosis. *Circ. Res.* **118**(4), 703–720. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.115.306300>
- Кучер А.Н., Назаренко М.С. (2017) Роль микроРНК при атерогенезе. *Кардиология.* **57**(9), 65–76.
- Fasolo F., Di Gregoli K., Maegdefessel L., Johnson J.L. (2019) Non-coding RNAs in cardiovascular cell biology and atherosclerosis. *Cardiovasc. Res.* **115**(12), 1732–1756. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvz203>
- Friedman R.C., Farh K.K.-H., Burge C.B., Bartel D.P. (2009) Most mammalian mRNAs are conserved targets of microRNAs. *Genome Res.* **19**(1), 92–105. <https://doi.org/10.1101/gr.082701.108>
- Catalanotto C., Cogoni C., Zardo G. (2016) MicroRNA in control of gene expression: an overview of nuclear functions. *Int. J. Mol. Sci.* **17**(10), 1712. <https://doi.org/10.3390/ijms17101712>
- Lu Y., Thavarajah T., Gu W., Cai J., Xu Q. (2018) Impact of miRNA in atherosclerosis. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* **38**(9), e159–e170. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.118.310227>
- Kozomara A., Birgaoanu M., Griffiths-Jones S. (2019) miRBase: from microRNA sequences to function. *Nucl. Acids Res.* **47**(D1), D155–D162. <https://doi.org/10.1093/nar/gky1141>
- Laffont B., Rayner K.J. (2017) MicroRNAs in the pathobiology and therapy of atherosclerosis. *Can. J. Cardiol.* **33**(3), 313–324. <https://doi.org/10.1016/j.cjca.2017.01.001>
- Olena A.F., Patton J.G. (2010) Genomic organization of microRNAs. *J. Cell. Physiol.* **222**(3), 540–545. <https://doi.org/10.1002/jcp.21993>
- Morales S., Monzo M., Navarro A. (2017) Epigenetic regulation mechanisms of microRNA expression. *Biomol. Concepts.* **8**(5-6), 203–212. <https://doi.org/10.1515/bmc-2017-0024>
- Marsico A., Huska M.R., Lasserre J., Hu H., Vucicevic D., Musahl A., Orom U., Vingron M. (2013) PROMiRNA: a new miRNA promoter recognition method uncovers the complex regulation of intronic miRNAs. *Genome Biol.* **14**(8), R84. <https://doi.org/10.1186/gb-2013-14-8-r84>
- Chakraborty C., Das S. (2016) Profiling cell-free and circulating miRNA: a clinical diagnostic tool for different cancers. *Tumour Biol.* **37**(5), 5705–5714. <https://doi.org/10.1007/s13277-016-4907-3>

18. Wong L.L., Wang J., Liew O.W., Richards A.M., Chen Y.T. (2016) MicroRNA and heart failure. *Int. J. Mol. Sci.* **17**(4), 502. <https://doi.org/10.3390/ijms17040502>
19. Hinske L.C., França G.S., Torres H.A., Ohara D.T., Lopes-Ramos C.M., Heyn J., Reis L.F., Ohno-Machado L., Kreth S., Galante P.A. (2014) miRIAD-integrating microRNA inter- and intragenic data. *Database (Oxford)*. **2014**, bau099. <https://doi.org/10.1093/database/bau099>
20. Huang Z., Shi J., Gao Y., Cui C., Zhang S., Li J., Zhou Y., Cui Q. (2019) HMDD v3.0: a database for experimentally supported human microRNA-disease associations. *Nucl. Acids Res.* **47** (D1), D1013–D1017.
21. Sharma H., Estep M., Biredinc A., Afendy A., Moazzez A., Elariny H., Goodman Z., Chandhoke V., Baranova A., Younossi Z.M. (2013) Expression of genes for microRNA-processing enzymes is altered in advanced non-alcoholic fatty liver disease. *J. Gastroenterol. Hepatol.* **28**(8), 1410–1415. <https://doi.org/10.1111/jgh.12268>
22. Cipollone F., Felicioni L., Sarzani R., Ucchino S., Spigonardo F., Mandolini C., Malatesta S., Bucci M., Mammarella C., Santovito D., de Lutiis F., Marchetti A., Mezzetti A., Buttitta F. (2011) A unique microRNA signature associated with plaque instability in humans. *Stroke*. **42**(9), 2556–2563. <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.110.597575>
23. Lovren F., Pan Y., Quan A., Singh K.K., Shukla P.C., Gupta N., Steer B.M., Ingram A.J., Gupta M., Al-Omran M., Teoh H., Marsden P.A., Verma S. (2012) MicroRNA-145 targeted therapy reduces atherosclerosis. *Circulation*. **126**(11 Suppl. 1), S81–S90. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.111.084186>
24. Nazari-Jahantigh M., Wei Y., Noels H., Akhtar S., Zhou Z., Koenen R.R., Heyll K., Gremse F., Kiessling F., Grommes J., Weber C., Schober A. (2012) MicroRNA-155 promotes atherosclerosis by repressing Bcl6 in macrophages. *J. Clin. Invest.* **122**(11), 4190–4202. <https://doi.org/10.1172/JCI61716>
25. Santovito D., Mandolini C., Marcantonio P., De Nardis V., Bucci M., Paganelli C., Magnacca F., Ucchino S., Mastroiacovo D., Desideri G., Mezzetti A., Cipollone F. (2013) Overexpression of microRNA-145 in atherosclerotic plaques from hypertensive patients. *Expert. Opin. Ther. Targets*. **17**(3), 217–223. <https://doi.org/10.1517/14728222.2013.745512>
26. Di Gregoli K., Jenkins N., Salter R., White S., Newby A.C., Johnson J.L. (2014) MicroRNA-24 regulates macrophage behavior and retards atherosclerosis. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* **34**(9), 1990–2000. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.114.304088>
27. Bazan H.A., Hatfield S.A., O'Malley C.B., Brooks A.J., Lightell D. Jr., Woods T.C. (2015) Acute loss of miR-221 and miR-222 in the atherosclerotic plaque shoulder accompanies plaque rupture. *Stroke*. **46**(11), 3285–3287. <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.115.010567>
28. Cao J., Zhang K., Zheng J., Dong R. (2015) MicroRNA-146a and -21 cooperate to regulate vascular smooth muscle cell proliferation via modulation of the Notch signaling pathway. *Mol. Med. Rep.* **11**(4), 2889–2895. <https://doi.org/10.3892/mmr.2014.3107>
29. Maitrias P., Metzinger-Le Meuth V., Massy Z.A., M'Baya-Moutoula E., Reix T., Caus T., Metzinger L. (2015) MicroRNA deregulation in symptomatic carotid plaque. *J. Vasc. Surg.* **62**(5), 1245–1250.e1. <https://doi.org/10.1016/j.jvs.2015.06.136>
30. Di Gregoli K., Mohamad Anuar N.N., Bianco R., White S.J., Newby A.C., George S.J., Johnson J.L. (2017) MicroRNA-181b controls atherosclerosis and aneurysms through regulation of TIMP-3 and elastin. *Circ. Res.* **120**(1), 49–65. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.116.309321>
31. Bildirici A.E., Arslan S., Özbilüm Şahin N., Berkan Ö., Beton O., Yilmaz M.B. (2018) MicroRNA-221/222 expression in atherosclerotic coronary artery versus internal mammary artery and in peripheral blood samples. *Biomarkers*. **23**(7), 670–675. <https://doi.org/10.1080/1354750X.2018.1474260>
32. Gong F.H., Cheng W.L., Wang H., Gao M., Qin J.J., Zhang Y., Li X., Zhu X., Xia H., She Z.G. (2018) Reduced atherosclerosis lesion size, inflammatory response in miR-150 knockout mice via macrophage effects. *J. Lipid. Res.* **59**(4), 658–669. <https://doi.org/10.1194/jlr.M082651>
33. Jin H., Li D.Y., Chernogubova E., Sun C., Busch A., Eken S.M., Saliba-Gustafsson P., Winter H., Winski G., Raaz U., Schellinger I.N., Simon N., Hegenloh R., Matic L.P., Jagodic M., Ehrenborg E., Pelisek J., Eckstein H.H., Hedin U., Backlund A., Maegdefessel L. (2018) Local delivery of miR-21 stabilizes fibrous caps in vulnerable atherosclerotic lesions. *Mol. Ther.* **26**(4), 1040–1055. <https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2018.01.011>
34. Raitoharju E., Lyytikäinen L.P., Levula M., Oksala N., Mennander A., Tarkka M., Klopp N., Illig T., Kähönen M., Karhunen P.J., Laaksonen R., Lehtimäki T. (2011) miR-21, miR-210, miR-34a, and miR-146a/b are up-regulated in human atherosclerotic plaques in the Tampere Vascular Study. *Atherosclerosis*. **219**(1), 211–217. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2011.07.020>
35. Miller C.L., Haas U., Diaz R., Leeper N.J., Kundu R.K., Patlolla B., Assimes T.L., Kaiser F.J., Perisic L., Hedin U., Maegdefessel L., Schunkert H., Erdmann J., Quertermous T., Sczakiel G. (2014) Coronary heart disease-associated variation in TCF21 disrupts a miR-224 binding site and miRNA-mediated regulation. *PLoS Genet.* **10**(3), e1004263. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1004263>
36. Wang R., Dong L.D., Meng X.B., Shi Q., Sun W.Y. (2015) Unique microRNA signatures associated with early coronary atherosclerotic plaques. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **464**(2), 574–579. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2015.07.010>
37. Xue Y., Wei Z., Ding H., Wang Q., Zhou Z., Zheng S., Zhang Y., Hou D., Liu Y., Zen K., Zhang C.Y., Li J., Wang D., Jiang X. (2015) MicroRNA-19b/221/222 induces endothelial cell dysfunction via suppression of PGC-1 $\alpha$  in the progression of atherosclerosis. *Atherosclerosis*. **241**(2), 671–681. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2015.06.031>

38. Markus B., Grote K., Worsch M., Parviz B., Boening A., Schieffer B., Parahuleva M.S. (2016) Differential expression of microRNAs in endarterectomy specimens taken from patients with asymptomatic and symptomatic carotid plaques. *PLoS One*. **11**(9), e0161632. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0161632>
39. Parahuleva M.S., Lipps C., Parviz B., Hölschermann H., Schieffer B., Schulz R., Euler G. (2018) MicroRNA expression profile of human advanced coronary atherosclerotic plaques. *Sci. Rep.* **8**(1), 7823. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-25690-4>
40. Berkan Ö., Arslan S., Lalem T., Zhang L., Şahin N.Ö., Aydemir E.I., Korkmaz Ö., Eğilmez H.R., Çekin N., Devaux Y. (2019) Regulation of microRNAs in coronary atherosclerotic plaque. *Epigenomics*. **11**(12), 1387–1397. <https://doi.org/10.2217/epi-2019-0036>
41. Hao L., Wang X.G., Cheng J.D., You S.Z., Ma S.H., Zhong X., Quan L., Luo B. (2014) The up-regulation of endothelin-1 and down-regulation of miRNA-125a-5p, -155, and -199a/b-3p in human atherosclerotic coronary artery. *Cardiovasc. Pathol.* **23**(4), 217–223. <https://doi.org/10.1016/j.carpath.2014.03.009>
42. Katano H., Nishikawa Y., Yamada H., Yamada K., Mase M. (2018) Differential expression of microRNAs in severely calcified carotid plaques. *J. Stroke Cerebrovasc. Dis.* **27**(1), 108–117. <https://doi.org/10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2017.08.009>
43. Brennan E., Wang B., McClelland A., Mohan M., Marai M., Beuscart O., Derouiche S., Gray S., Pickering R., Tikellis C., de Gaetano M., Barry M., Belton O., Ali-Shah S.T., Guiry P., Jandeleit-Dahm K., Cooper M.E., Godson C., Kantharidis P. (2017) Protective effect of let-7 miRNA family in regulating inflammation in diabetes-associated atherosclerosis. *Diabetes*. **66**(8), 2266–2277. <https://doi.org/10.2337/db16-1405>
44. Kern F., Aparicio-Puerta E., Li Y., Fehlmann T., Kehl T., Wagner V., Ray K., Ludwig N., Lenhof H.P., Meese E., Keller A. (2021) miRTargetLink 2.0 – interactive miRNA target gene and target pathway networks. *Nucl. Acids Res.* **49**(W1), W409–W416. <https://doi.org/10.1093/nar/gkab297>
45. Chang L., Zhou G., Soufan O., Xia J. (2020) miRNet 2.0: network-based visual analytics for miRNA functional analysis and systems biology. *Nucl. Acids Res.* **48**(W1), W244–W251. <https://doi.org/10.1093/nar/gkaa467>
46. Kern F., Fehlmann T., Solomon J., Schwed L., Grammes N., Backes C., Van Keuren-Jensen K., Craig D.W., Meese E., Keller A. (2020) miEAA 2.0: integrating multi-species microRNA enrichment analysis and workflow management systems. *Nucl. Acids Res.* **48**(W1), W521–W528. <https://doi.org/10.1093/nar/gkaa309>
47. Huang H.Y., Lin Y.C., Li J., Huang K.Y., Shrestha S., Hong H.C., Tang Y., Chen Y.G., Jin C.N., Yu Y., Xu J.T., Li Y.M., Cai X.X., Zhou Z.Y., Chen X.H., Pei Y.Y., Hu L., Su J.J., Cui S.D., Wang F., Xie Y.Y., Ding S.Y., Luo M.F., Chou C.H., Chang N.W., Chen K.W., Cheng Y.H., Wan X.H., Hsu W.L., Lee T.Y., Wei F.X., Huang H.D. (2020) miRTarBase 2020: updates to the experimentally validated microRNA-target interaction database. *Nucl. Acids Res.* **48**(D1), D148–D154. <https://doi.org/10.1093/nar/gkz896>
48. (2021) STRING: protein-protein interaction networks functional enrichment analysis <https://string-db.org/>
49. Kanuri S.H., Ipe J., Kassab K., Gao H., Liu Y., Skaar T.C., Kreutz R.P. (2018) Next generation microRNA sequencing to identify coronary artery disease patients at risk of recurrent myocardial infarction. *Atherosclerosis*. **278**, 232–239. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2018.09.021>
50. Логинов В.И., Рыков С.В., Фридман М.В., Брага Э.А. (2015) Метилирование генов микроРНК и онкогенез. *Биохимия*. **80**(2), 184–203.
51. Chhabra R. (2015) miRNA and methylation: a multifaceted liaison. *ChemBiochem*. **16**(2), 195–203. <https://doi.org/10.1002/cbic.201402449>
52. Ma J., Hong L., Chen Z., Nie Y., Fan D. (2014) Epigenetic regulation of microRNAs in gastric cancer. *Dig. Dis. Sci.* **59**(4), 716–723. <https://doi.org/10.1007/s10620-013-2939-8>
53. Piletič K., Kunej T. (2016) MicroRNA epigenetic signatures in human disease. *Arch. Toxicol.* **90**(10), 2405–2419. <https://doi.org/10.1007/s00204-016-1815-7>
54. Kunej T., Godnic I., Ferdin J., Horvat S., Dovc P., Calin G.A. (2011) Epigenetic regulation of microRNAs in cancer: an integrated review of literature. *Mutat. Res.* **717**(1–2), 77–84. <https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2011.03.008>
55. Baer C., Claus R., Plass C. (2013) Genome-wide epigenetic regulation of miRNAs in cancer. *Cancer Res.* **73**(2), 473–477. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-12-3731>
56. Wang Z., Yao H., Lin S., Zhu X., Shen Z., Lu G., Poon W.S., Xie D., Lin M.C., Kung H.F. (2013) Transcriptional and epigenetic regulation of human microRNAs. *Cancer Lett.* **331**(1), 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2012.12.006>
57. Bell R.E., Golan T., Sheinboim D., Malcov H., Amar D., Salamon A., Liron T., Gelfman S., Gabet Y., Shamir R., Levy C. (2016) Enhancer methylation dynamics contribute to cancer plasticity and patient mortality. *Genome Res.* **26**(5), 601–611. <https://doi.org/10.1101/gr.197194.115>
58. Марков А.В., Назаренко М.С., Королёва Ю.А., Лебедев И.Н., Слепцов А.А., Фролов А.В., Попов В.А., Барбараш О.Л., Барбараш Л.С., Пузырев В.П. (2014) Уровень метилирования промоторного региона гена *HOXD4* у больных атеросклерозом. *Медицинская генетика*. **13**(1), 39–42.
59. Wang Z., Guo D., Yang B., Wang J., Wang R., Wang X., Zhang Q. (2014) Integrated analysis of microarray data of atherosclerotic plaques: modulation of the ubiquitin-proteasome system. *PLoS One*. **9**(10), e110288. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0110288>
60. Zaina S., Heyn H., Carmona F.J., Varol N., Sayols S., Condam E., Ramírez-Ruz J., Gomez A., Gonçalves I., Moran S., Esteller M. (2014) DNA methylation map of human atherosclerosis. *Circ. Cardiovasc. Genet.*

- 7(5), 692–700.  
<https://doi.org/10.1161/CIRCGENETICS.113.000441>
61. Aavik E., Lumivuori H., Leppänen O., Wirth T., Häkkinen S.K., Bräsen J.H., Beschoner U., Zeller T., Braspenning M., van Criekinge W., Mäkinen K., Ylä-Herttua S. (2015) Global DNA methylation analysis of human atherosclerotic plaques reveals extensive genomic hypomethylation and reactivation at imprinted locus 14q32 involving induction of a miRNA cluster. *Eur. Heart. J.* **36**(16), 993–1000.  
<https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehu437>
  62. Nazarenko M.S., Markov A.V., Lebedev I.N., Freidin M.B., Sleptcov A.A., Koroleva I.A., Frolov A.V., Popov V.A., Barbarash O.L., Puzyrev V.P. (2015) A comparison of genome-wide DNA methylation patterns between different vascular tissues from patients with coronary heart disease. *PLoS One.* **10**(4), e0122601.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0122601>
  63. Ehrlich K.C., Lacey M., Ehrlich M. (2019) Tissue-specific epigenetics of atherosclerosis-related *ANGPT* and *ANGPTL* genes. *Epigenomics.* **11**(2), 169–186.  
<https://doi.org/10.2217/epi-2018-0150>
  64. Nakahara M., Kobayashi N., Oka M., Nakano K., Okamura T., Yuo A., Sasaki K. (2018) miR-10b deficiency affords atherosclerosis resistance. *bioRxiv.* 248641.
  65. Shen X., Fang J., Lv X., Pei Z., Wang Y., Jiang S., Ding K. (2011) Heparin impairs angiogenesis through inhibition of microRNA-10b. *J. Biol. Chem.* **286**(30), 26616–26627.  
<https://doi.org/10.1074/jbc.M111.224212>
  66. Wang D., Xia M., Yan X., Li D., Wang L., Xu Y., Jin T., Ling W. (2012) Gut microbiota metabolism of anthocyanin promotes reverse cholesterol transport in mice via repressing miRNA-10b. *Circ. Res.* **111**(8), 967–981.  
<https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.112.266502>
  67. Yu X., Li Z., Chen G., Wu W.K. (2015) MicroRNA-10b induces vascular muscle cell proliferation through Akt pathway by targeting TIP30. *Curr. Vasc. Pharmacol.* **13**(5), 679–686.  
<https://doi.org/10.2174/1570161113666150123112751>
  68. Goossens E.A.C., de Vries M.R., Simons K.H., Putter H., Quax P.H.A., Nossent A.Y. (2019) miRMap: profiling 14q32 microRNA expression and DNA methylation throughout the human vasculature. *Front Cardiovasc. Med.* **6**, 113.  
<https://doi.org/10.3389/fcvm.2019.00113>
  69. Huan T., Mendelson M., Joehanes R., Yao C., Liu C., Song C., Bhattacharya A., Rong J., Tanriverdi K., Keefe J., Murabito J.M., Courchesne P., Larson M.G., Freedman J.E., Levy D. (2020) Epigenome-wide association study of DNA methylation and microRNA expression highlights novel pathways for human complex traits. *Epigenetics.* **15**(1–2), 183–198.  
<https://doi.org/10.1080/15592294.2019.1640547>
  70. Edwards S.L., Beesley J., French J.D., Dunning A.M. (2013) Beyond GWASs: illuminating the dark road from association to function. *Am. J. Hum. Genet.* **93**(5), 779–797.  
<https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2013.10.012>
  71. Borghini A., Andreassi M.G. (2018) Genetic polymorphisms offer insight into the causal role of mi-croRNA in coronary artery disease. *Atherosclerosis.* **269**, 63–70.  
<https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2017.12.022>
  72. Miao Y.R., Liu W., Zhang Q., Guo A.Y. (2018) IncRNAsNP2: an updated database of functional SNPs and mutations in human and mouse lncRNAs. *Nucl. Acids Res.* **46**(D1), D276–D280.  
<https://doi.org/10.1093/nar/gkx1004>
  73. Moszyńska A., Gebert M., Collawn J.F., Bartoszewski R. (2017) SNPs in microRNA target miRNA sites and their potential role in human disease. *Open Biol.* **7**(4), 170019.  
<https://doi.org/10.1098/rsob.170019>
  74. Zhang L., Yang J., Xue Q., Yang D., Lu Y., Guang X., Zhang W., Ba R., Zhu H., Ma X. (2016) An rs13293512 polymorphism in the promoter of let-7 is associated with a reduced risk of ischemic stroke. *J. Thromb. Thrombolysis.* **42**(4), 610–615.  
<https://doi.org/10.1007/s11239-016-1400-1>
  75. Cai M.Y., Cheng J., Zhou M.Y., Liang L.L., Lian S.M., Xie X.S., Xu S., Liu X., Xiong X.D. (2018) The association between pre-miR-27a rs895819 polymorphism and myocardial infarction risk in a Chinese han population. *Lipids Health Dis.* **17**(1), 7.  
<https://doi.org/10.1186/s12944-017-0652-x>
  76. Oner T., Arslan C., Yenmis G., Arapi B., Tel C., Aydemir B., Sultuybek G.K. (2017) Association of NFKB1A and microRNAs variations and the susceptibility to atherosclerosis. *J. Genet.* **96**(2), 251–259.  
<https://doi.org/10.1007/s12041-017-0768-9>
  77. He Y., Yang J., Kong D., Lin J., Xu C., Ren H., Ouyang P., Ding Y., Wang K. (2015) Association of miR-146a rs2910164 polymorphism with cardio-cerebrovascular diseases: a systematic review and meta-analysis. *Gene.* **565**(2), 171–179.  
<https://doi.org/10.1016/j.gene.2015.04.020>
  78. Xiong X.D., Cho M., Cai X.P., Cheng J., Jing X., Cen J.M., Liu X., Yang X.L., Suh Y. (2014) A common variant in pre-miR-146 is associated with coronary artery disease risk and its mature miRNA expression. *Mutat. Res.* **761**, 15–20.  
<https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2014.01.001>
  79. Bastami M., Choupani J., Saadatian Z., Zununi Vahed S., Mansoori Y., Daraei A., Samadi Kafil H., Messori A., Nariman-Saleh-Fam Z. (2019) Polymorphisms and risk of cardio-cerebrovascular diseases: a systematic review and meta-analysis. *Int. J. Mol. Sci.* **20**(2), 293.  
<https://doi.org/10.3390/ijms20020293>
  80. Bao M.H., Xiao Y., Zhang Q.S., Luo H.Q., Luo J., Zhao J., Li G.Y., Zeng J., Li J.M. (2015) Meta-analysis of miR-146a polymorphisms association with coronary artery diseases and ischemic stroke. *Int. J. Mol. Sci.* **16**(7), 14305–14317.  
<https://doi.org/10.3390/ijms160714305>
  81. Hamann L., Glaeser C., Schulz S., Gross M., Franke A., Nöthlings U., Schumann R.R. (2014) A micro RNA-146a polymorphism is associated with coronary restenosis. *Int. Immunogenet.* **41**(5), 393–396.  
<https://doi.org/10.1111/iji.12136>
  82. Shen J., Zhang M., Sun M., Tang K., Zhou B. (2015) The relationship of miR-146a gene polymorphism with carotid atherosclerosis in Chinese patients with

- type 2 diabetes mellitus. *Thromb. Res.* **136**(6), 1149–1155.  
<https://doi.org/10.1016/j.thromres.2015.10.013>
83. Zhu R., Liu X., He Z., Li Q. (2014) miR-146a and miR-196a2 polymorphisms in patients with ischemic stroke in the northern Chinese han population. *Neurochem. Res.* **39**(9), 1709–1716.  
<https://doi.org/10.1007/s11064-014-1364-5>
  84. Zhong H., Cai Y., Cheng J., Cai D., Chen L., Su C., Li K., Chen P., Xu J., Cui L. (2016) Apolipoprotein E epsilon 4 enhances the association between the rs2910164 polymorphism of miR-146a and risk of atherosclerotic cerebral infarction. *J. Atheroscler. Thromb.* **23**(7), 819–829.  
<https://doi.org/10.5551/jat.32904>
  85. Jeon Y.J., Kim O.J., Kim S.Y., Oh S.H., Oh D., Kim O.J., Shin B.S., Kim N.K. (2013). Association of the miR-146a, miR-149, miR-196a2, and miR-499 polymorphisms with ischemic stroke and silent brain infarction risk. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* **33**(2), 420–430.  
<https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.112.300251>
  86. Zhu J., Yue H., Qiao C., Li Y. (2015) Association between single-nucleotide polymorphism (SNP) in miR-146a, miR-196a2, and miR-499 and risk of ischemic stroke: a meta-analysis. *Med. Sci. Monit.* **21**, 3658–3663.  
<https://doi.org/10.12659/msm.895233>
  87. Qu J.Y., Xi J., Zhang Y.H., Zhang C.N., Song L., Song Y., Hui R.T., Chen J.Z. (2016) Association of the microRNA-146a SNP rs2910164 with ischemic stroke incidence and prognosis in a Chinese population. *Int. J. Mol. Sci.* **17**(5), 660.  
<https://doi.org/10.3390/ijms17050660>
  88. Sung J.H., Kim S.H., Yang W.I., Kim W.J., Moon J.Y., Kim I.J., Cha D.H., Cho S.Y., Kim J.O., Kim K.A., Kim O.J., Lim S.W., Kim N.K. (2016) miRNA polymorphisms (miR-146a, miR-149, miR-196a2 and miR-499) are associated with the risk of coronary artery disease. *Mol. Med. Rep.* **14**(3), 2328–2342.  
<https://doi.org/10.3892/mmr.2016.5495>
  89. Zhi H., Wang L., Ma G., Ye X., Yu X., Zhu Y., Zhang Y., Zhang J., Wang B. (2012) Polymorphisms of miRNAs genes are associated with the risk and prognosis of coronary artery disease. *Clin. Res. Cardiol.* **101**(4), 289–296.  
<https://doi.org/10.1007/s00392-011-0391-3>
  90. Осьмак Г.Ж., Матвеева Н.А., Титов Б.В., Фаворова О.О. (2018) Связь полиморфизма гена *MIR196A2* с инфарктом миокарда и возможное вовлечение микроРНК miR-196a2 в сигнальные пути, участвующие в формировании патологического фенотипа. *Молекуляр. биология.* **52**(6), 1006–1013.
  91. Kim J., Choi G.H., Ko K.H., Kim J.O., Oh S.H., Park Y.S., Kim O.J., Kim N.K. (2016) Association of the single nucleotide polymorphisms in microRNAs 130b, 200b, and 495 with ischemic stroke susceptibility and post-stroke mortality. *PLoS One.* **11**(9), e0162519.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0162519>
  92. Jha C.K., Mir R., Elfaki I., Khullar N., Rehman S., Javid J., Banu S., Chahal S. (2019) Potential impact of microRNA-423 gene variability in coronary artery disease. *Endocr. Metab. Immune Disord. Drug Targets.* **19**(1), 67–74.  
<https://doi.org/10.2174/1871530318666181005095724>
  93. Chen C., Hong H., Chen L., Shi X., Chen Y., Weng Q. (2014) Association of microRNA polymorphisms with the risk of myocardial infarction in a Chinese population. *Tohoku J. Exp. Med.* **233**(2), 89–94.  
<https://doi.org/10.1620/tjem.233.89>
  94. Darabi H., Salmaninejad A., Jaripour M.E., Azarpazhoo M.R., Mojarrad M., Sadr-Nabavi A. (2019) Association of the genetic polymorphisms in immunoinflammatory microRNAs with risk of ischemic stroke and subtypes in an Iranian population. *J. Cell. Physiol.* **234**(4), 3874–3886.  
<https://doi.org/10.1002/jcp.27159>
  95. Liu Y., Ma Y., Zhang B., Wang S.X., Wang X.M., Yu J.M. (2014) Genetic polymorphisms in pre-microRNAs and risk of ischemic stroke in a Chinese population. *J. Mol. Neurosci.* **52**(4), 473–480.  
<https://doi.org/10.1007/s12031-013-0152-z>
  96. Zhang Z., Xu G., Cai B., Zhang H., Zhu W., Liu X. (2017) Genetic variants in microRNAs predict recurrence of ischemic stroke. *Mol. Neurobiol.* **54**(4), 2776–2780.  
<https://doi.org/10.1007/s12035-016-9865-7>
  97. Ghanbari M., de Vries P.S., de Looper H., Peters M.J., Schurmann C., Yaghootkar H., Dörr M., Frayling T.M., Uitterlinden A.G., Hofman A., van Meurs J.B., Erkeland S.J., Franco O.H., Dehghan A. (2014) A genetic variant in the seed region of miR-4513 shows pleiotropic effects on lipid and glucose homeostasis, blood pressure, and coronary artery disease. *Hum. Mutat.* **35**(12), 1524–1531.  
<https://doi.org/10.1002/humu.22706>
  98. (2021) Reference SNP (rs) Report: rs2910164.  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs2910164>
  99. Li Q., Chen L., Chen D., Wu X., Chen M. (2015) Influence of microRNA-related polymorphisms on clinical outcomes in coronary artery disease. *Am. J. Transl. Res.* **7**(2), 393–400.
  100. (2021) Ensembl rs4225 SNP Allele: frequency (count)  
[https://www.ensembl.org/Homo\\_sapiens/Variation/Population?db=core;r=11:116832455-116833455;v=rs4225;vdb=variation;vf=164407333](https://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Variation/Population?db=core;r=11:116832455-116833455;v=rs4225;vdb=variation;vf=164407333)
  101. Hu S.L., Cui G.L., Huang J., Jiang J.G., Wang D.W. (2016) An APOC3 3'UTR variant associated with plasma triglycerides levels and coronary heart disease by creating a functional miR-4271 binding site. *Sci. Rep.* **6**, 32700.  
<https://doi.org/10.1038/srep32700>
  102. Wagschal A., Najafi-Shoushtari S.H., Wang L., Goedeke L., Sinha S., deLemos A.S., Black J.C., Ramírez C.M., Li Y., Tewhey R., Hatoum I., Shah N., Lu Y., Kristo F., Psychogios N., Vrbanac V., Lu Y.C., Hla T., de Cabo R., Tsang J.S., Schadt E., Sabeti P.C., Kathiresan S., Cohen D.E., Whetstone J., Chung R.T., Fernández-Hernando C., Kaplan L.M., Bernards A., Gerszten R.E., Näär A.M. (2015) Genome-wide identification of microRNAs regulating cholesterol and triglyceride homeostasis. *Nat. Med.* **21**(11), 1290–1297.  
<https://doi.org/10.1038/nm.3980>
  103. Jazdzewski K., Murray E.L., Franssila K., Jarzab B., Schoenberg D.R., de la Chapelle A. (2008) Common SNP in pre-miR-146a decreases mature miR expres-



- sion and predisposes to papillary thyroid carcinoma. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **105**(20), 7269–7274. <https://doi.org/10.1073/pnas.0802682105>
104. Wang D., Atanasov A.G. (2019) The microRNAs regulating vascular smooth muscle cell proliferation: a minireview. *Int. J. Mol. Sci.* **20**(2), 324. <https://doi.org/10.3390/ijms20020324>
105. Sun X., Icli B., Wara A.K., Belkin N., He S., Kobzik L., Hunninghake G.M., Vera M.P., MICU Registry, Blackwell T.S., Baron R.M., Feinberg M.W. (2012) MicroRNA-181b regulates NF- $\kappa$ B-mediated vascular inflammation. *J. Clin. Invest.* **122**(6), 1973–1990. <https://doi.org/10.1172/JCI161495>
106. Dweep H., Georgiou G.D., Gretz N., Deltas C., Voskarides K., Felekis K. (2013) CNVs-microRNAs interactions demonstrate unique characteristics in the human genome. An interspecies *in silico* analysis. *PLoS One*. **8**(12), e81204. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0081204>
107. Marcinkowska M., Szymanski M., Krzyzosiak W.J., Kozlowski P. (2011) Copy number variation of microRNA genes in the human genome. *BMC Genomics*. **12**, 183. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-12-183>
108. Sohrabifar N., Ghaderian S., Vakili H., Ghaedi H., Rouhani B., Jafari H., Heidari L. (2021) MicroRNA-copy number variations in coronary artery disease patients with or without type 2 diabetes mellitus. *Arch. Physiol. Biochem.* **127**(6), 497–503. <https://doi.org/10.1080/13813455.2019.1651340>
109. Nazarenko M.S., Sleptcov A.A., Lebedev I.N., Skryabin N.A., Markov A.V., Golubenko M.V., Koroleva I.A., Kazancev A.N., Barbarash O.L., Puzyrev V.P. (2017) Genomic structural variations for cardiovascular and metabolic comorbidity. *Sci. Rep.* **7**, 41268. <https://doi.org/10.1038/srep41268>
110. Lins T.C. de L. (2014) Variação estrutural no número de cópias e sua implicação na expressão de microRNA em humanos. <https://repositorio.unb.br/handle/10482/16506>
111. Xing H.J., Li Y.J., Ma Q.M., Wang A.M., Wang J.L., Sun M., Jian Q., Hu J.H., Li D., Wang L. (2013) Identification of microRNAs present in congenital heart disease associated copy number variants. *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* **17**(15), 2114–2120.
112. Chen L.J., Lim S.H., Yeh Y.T., Lien S.C., Chiu J.J. (2012) Roles of microRNAs in atherosclerosis and restenosis. *J. Biomed. Sci.* **19**(1), 79. <https://doi.org/10.1186/1423-0127-19-79>
113. Schober A., Weber C. (2016) Mechanisms of microRNAs in atherosclerosis. *Annu. Rev. Pathol.* **11**, 583–616. <https://doi.org/10.1146/annurev-pathol-012615-044135>
114. Johnson J.L. (2019) Elucidating the contributory role of microRNA to cardiovascular diseases (a review). *Vascul. Pharmacol.* **114**, 31–48. <https://doi.org/10.1016/j.vph.2018.10.010>
115. Tao J., Xia L., Cai Z., Liang L., Chen Y., Meng J., Wang Z. (2021) Interaction between microRNA and DNA methylation in atherosclerosis. *DNA Cell Biol.* **40**(1), 101–115. <https://doi.org/10.1089/dna.2020.6138>
116. Mens M., Maas S., Klap J., Weverling G.J., Klatser P., Brakenhoff J., van Meurs J., Uitterlinden A.G., Ikram M.A., Kavousi M., Ghanbari M. (2020) Multi-omics analysis reveals microRNAs associated with cardiometabolic traits. *Front Genet.* **11**, 110. <https://doi.org/10.3389/fgene.2020.00110>
117. Vohra M., Sharma A.R., Prabhu B.N., Rai P.S. (2020) SNPs in sites for DNA methylation, transcription factor binding, and miRNA targets leading to allele-specific gene expression and contributing to complex disease risk: a systematic review. *Public Health Genomics.* **23**(5–6), 155–170. <https://doi.org/10.1159/000510253>

## miRNA REGULOME IN DIFFERENT ATHEROSCLEROSIS PHENOTYPES

M. S. Nazarenko<sup>1, 2, \*</sup>, I. A. Koroleva<sup>1</sup>, A. A. Zarubin<sup>1</sup>, and A. A. Sleptcov<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, 634050 Russia*

<sup>2</sup> *Siberian State Medical University, Tomsk, 634050 Russia*

\*e-mail: maria.nazarenko@medgenetics.ru

Dysregulation of miRNA expression is associated with a susceptibility to many diseases, including atherosclerotic lesions of the coronary and carotid arteries and the development of clinical complications such as coronary heart disease, myocardial infarction, chronic cerebral ischemia, ischemic stroke. Recently, more and more studies analyze the miRNA regulome including a network of regulatory elements for the expression of microRNA itself and targets under their control. The review summarizes the data from articles concerned with miRNA expression and changes in DNA methylation in the miRNA genes in human atherosclerotic arteries, as well as with the analysis of the association between single nucleotide polymorphisms and copy number variations in the miRNA genes with clinical complications of atherosclerosis.

**Keywords:** microRNA regulome, expression, DNA methylation, single nucleotide variants, copy number variations, atherosclerosis, ischemic heart disease, myocardial infarction, ischemic stroke