

## РОЛЬ НЕКОДИРУЮЩИХ РНК В КЛЕТКАХ ЧЕЛОВЕКА ПОСЛЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ ИОНИЗИРУЮЩЕЙ РАДИАЦИИ

© Г. Д. Засухина,<sup>1,\*</sup> В. Ф. Михайлов,<sup>2,\*</sup> Л. В. Шуленина,<sup>2</sup>  
И. М. Васильева<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Институт общей генетики им. Н. И. Вавилова РАН, Москва, 117971, и

<sup>2</sup> ГНЦ Федеральный медицинский биофизический центр им. А. И. Бурназяна  
ФМБА России, Москва, 123098;

\* электронный адрес: Zasukhina@vigg.ru; vfmi@mail.ru

Известно, что 2 % транскриптов генома человека ассоциированы с протеин-кодирующими генами, тогда как остальная часть связана с некодирующими последовательностями. Регуляторные некодирующие РНК состоят в основном из двух групп — микроРНК (примерно 20 нуклеотидов) и длинных РНК (более 200 нуклеотидов). В обзоре приведены данные об уровнях экспрессии некодирующих РНК в зависимости от особенностей генотипа клеток, тканевой специфичности и природы мутагенного воздействия (главным образом ионизирующей радиации). Специальный раздел посвящен связи микроРНК—длинные РНК—гены в реализации различных заболеваний человека, а также возможности использования некодирующих РНК в диагностике, прогнозе заболевания и подходе к лечению. Рассмотрена роль некодирующих РНК в формировании клеточного ответа при малых дозах радиации. Обсуждается проблема радиационного гормезиса, в том числе адаптивного ответа. Оцениваются перспективы использования некодирующих РНК в биологии и медицине.

Ключевые слова: некодирующие белки РНК, микроРНК, длинные некодирующие РНК, клетки человека, ионизирующая радиация.

В настоящее время установлено, что гены, кодирующие белки, составляют около 2 % от всего генома. Остальные синтезируемые РНК, получившие название некодирующие РНК, являются молекулами РНК, не транслирующимися в белки. Последовательность ДНК, из которой транскрибируется функциональная некодирующая РНК, часто называют РНК-генами. К числу некодирующих РНК относятся тРНК, рРНК, микроРНК, малые интерферирующие РНК, малые ядерные РНК, внеклеточные РНК, рiРНК, длинные некодирующие РНК и др. Дисфункция экспрессии некодирующих РНК может приводить к развитию заболеваний.

Реакция клеток человека на стрессовое воздействие является комплексной и выражается в одновременной активации различных сигнальных путей. Результатом этих воздействий является изменение пролиферации клеток, их дифференцировки, модуляции метилирования и экспрессии генов, в том числе митохондриальных и некодирующих РНК, или гибель клеток. Экспрессия некодирующих РНК зависит от многих факторов, в том числе от дозы радиации и типа мутагенного воздействия, чувствительности клеток к радиации и способности клеток к репарации ДНК после облучения. Некодирующие РНК играют важную роль в регуляции экспрессии генов на разных уровнях, включая модификацию хроматина, транскрипционные и посттранскрипционные процессы, метилирование генов (Chaudhry, 2013; Schmith et al., 2016). МикроРНК и длинные РНК-регуляторы актив-

ности генов обладают супрессорными или онкогенными свойствами (Mendell, Olson, 2012).

В настоящей работе дана краткая характеристика микроРНК и длинных РНК, проанализирована роль этих соединений в радиоответе в зависимости от клеточного типа, рассмотрена возможность использования их в качестве маркеров для диагностики, прогноза и подходов к лечению различных патологий человека, в основном злокачественных новообразований, а также в реализации биологических эффектов малых доз радиации, в частности гормезиса и адаптивного ответа.

### Группы и подгруппы некодирующих РНК

Некодирующие РНК можно разделить на два основных типа — инфраструктурные и регуляторные РНК. Инфраструктурные некодирующие РНК участвуют в трансляции и сплайсинге и включают в себя такие виды РНК, как рибосомальные, тРНК и небольшие ядерные РНК. Регуляторные некодирующие РНК интересны с эпигенетической точки зрения, так как они участвуют в модификации других РНК. Они могут быть разделены на малые некодирующие РНК (около 20 нуклеотидов) и длинные РНК (около 200 нуклеотидов и более).

Малые некодирующие РНК включают в себя микроРНК, малые интерферирующие РНК (siRNAs) и PIWI — взаимодействующие РНК (piRNAs). Эхансерные РНК пред-

ставляют собой некодирующие транскрипты со средним значением размера 800 нуклеотидов. Считается, что энхансерные РНК функционируют как транскрипционные активаторы. Длинные некодирующие РНК делятся на линейные и циклические, а по размеру — на «малые» (от 200 до 950 нуклеотидов), «средние» (от 950 до 4800) и большие (более 4800 нуклеотидов) (Ma et al., 2013). Длинные некодирующие РНК могут связываться с микроРНК и ингибировать ее активность.

Аналогично протеинкодирующим генам экспрессия микроРНК и длинных РНК модулируется на транскрипционном или посттранскрипционном уровне. Гены, отвечающие за пути восстановления индуцированных повреждений ДНК, так же как и другие, являются мишенями для микроРНК и длинных РНК.

### МикроРНК

МикроРНК имеют размер 19—24 нуклеотида и обладают посттранскрипционными регуляторными функциями. В клетках млекопитающих микроРНК комплементарны определенному фрагменту одной или нескольких мРНК в 3'-нетранслируемом регионе (3'-UTR) мишенной мРНК. В настоящее время очевидно, что микроРНК включаются в регуляцию пролиферации клеток, апоптоза, репарации, дифференцировки, в ответ на стрессовые воздействия (Mendel, Olson, 2012). Биогенез микроРНК включает в себя эндонуклеотическое расщепление с помощью энзимов — рибонуклеазы III Droscha и рибонуклеазы Dicer. Первичный транскрипт микроРНК (pri-mi-RNA) вначале подвергается действию рибонуклеазы III Droscha и кофактора DGCR8, являясь предшественником пре-микроРНК (pre-mi-RNA), который транспортируется в цитоплазму, где расщепляется с помощью Dicer и его кофактора, в результате чего образуется зрелый 22-нуклеотидный дуплекс (Liu, Lu, 2012, и др.). Одна нить дуплекса инкорпорируется в Ago-протеин, формируя РНК-индуцируемый комплекс выключения гена (RISC), тогда как другая нить деградирует. Зрелая микроРНК, взаимодействуя с мРНК гена-мишени, либо ингибирует трансляцию, либо активирует деградацию мРНК.

Ответ на возникновение повреждения ДНК осуществляется поэтапно, дифференциально регулируется и контроль экспрессии микроРНК. Следует подчеркнуть, что различные мутагены (алкилирующие соединения, ультрафиолет, радиация) индуцируют разную степень экспрессии ряда микроРНК, которая может сохраняться в клеточных поколениях. Частыми причинами изменения экспрессии микроРНК являются активация гена микроРНК транскрипционным фактором, ингибирование промотора гена при его метилировании, возникновении делеций, модификации гистонов (Haunonen et al., 2014; Tarasov et al., 2016).

### Длинные некодирующие РНК

Длинные некодирующие РНК содержат около 200 нуклеотидов и больше. Они характеризуются отсутствием открытой рамки считывания. Большинство длинных некодирующих РНК транскрибируются РНК-полимеразой II и полиаденилируются (Gibb et al., 2011). Экспрессия длинных некодирующих РНК регулируется в зависимости от типа клеток и специфичности тканей. Длинные не-

кодирующие РНК делятся на 5 субклассов — внутригенный, интронный, бессмысленный, смыслоперекрывающий и направленный (Вауоми et al., 2016). Длинные некодирующие РНК регулируют экспрессию генов разными механизмами: одни действуют как молекулярные «гиды» или как «подмости» для повышения взаимодействия ДНК с протеинами; другие функционируют как молекулярные «ловушки» для протеинов, включая транскрипционные факторы. Таким путем они моделируют и направляют комплексы, модифицирующие хроматин, к локусам-мишеням ДНК. Длинные некодирующие РНК действуют как эндогенные «губки» как для микроРНК, так и для мРНК. В геноме человека идентифицировано около 15 000 длинных РНК, из которых функционально охарактеризована лишь малая часть, около 1 % (Jiao et al., 2015; Gupta, Tripathi, 2016). Они могут действовать как транскрипционные модуляторы, регуляторы сплайсинга и посттранскрипционных процессов, как энхансерные хроматиновые регуляторы и быть полезны для взаимодействий протеин—протеин, протеин—ДНК и протеин—РНК. При этом длинные некодирующие РНК могут модулировать выживаемость, пролиферацию, инвазию, метастазирование и ангиогенез раковых клеток, функционируя как супрессор или онкоген (Sahu et al., 2015). Кроме того, описаны условия экспрессии митохондриальных длинных РНК, называемых смысловыми митохондриальными некодирующими РНК и антисмысловыми митохондриальными некодирующими РНК (Burzio et al., 2009; Villota et al., 2012).

### Спектр и уровень экспрессии некодирующих РНК в зависимости от особенностей генотипа клеток

Потенциал генетической активности и путей реализации активности отдельных генов может определяться с помощью исследования некодирующих РНК, влияния метилирования, хроматиновой организации, транскрипционных и посттранскрипционных процессов, характера стрессовых воздействий, например радиации. В последнем случае главным является зависимость радиоответа клеток от особенностей генотипа (дикий или мутантный, изменяющий чувствительность клетки к экзогенным воздействиям).

Как известно, ответ клетки на ионизирующее воздействие является комплексным и характеризуется вовлеченностью большего числа различных путей, многие из которых зависят от *p53*-статуса. В этой связи ряд исследований посвящен ответу на ионизирующее облучение *p53*-позитивных и *p53*-негативных мутантных клеток (Chaudhry, 2013). Так, длинные РНК MALAT1 и SOX20T при облучении активировались и в *p53*-позитивных и *p53*-негативных мутантных клетках, тогда как SPA1 — только в *p53*-позитивных клетках. Интересно, что уровень экспрессии SOX20T снижался в течение 8 ч в *p53*-положительных клетках, повышаясь к 12 ч. В *p53*-негативных клетках контрастным было наличие самого высокого уровня экспрессии SOX20T через 8 ч (Chaudhry, 2013). Следовательно, значение имеет не только уровень экспрессии, но и динамика ее индукции. Различия наблюдали также и в экспрессии микроРНК: в одних клетках происходила их индукция, в других — ингибирование. Дифференциация экспрессии длинных РНК иллюстрируется в эксперименте на клетках HeLa и MCF

Таблица 1

Относительная экспрессия микроРНК и гена *p53* после ионизирующего облучения

мРНК <i>p53</i> и зрелые микроРНК	Клетки Jurkat		Клетки крови			RD-клетки		
	облучение в разных дозах, Гр							
	5	10	1	3	5	2	3	5
мРНК <i>p53</i>	1.15	2.00	2.14 <sup>a</sup>	0.84	1.62 <sup>a</sup>	0.69	0.86	1.28
miR-107	0.41	0.09	2.93 <sup>a</sup>	1.41	1.37	—	—	—
miR-181a	0.10	0.47	1.11	0.24	0.31	—	—	—
miR-124	—	—	—	0.33	4.29	—	—	—
miR-34a	—	—	—	0.8	—	0.406	0.75	1.23
miR-21	—	—	—	0.59	—	0.46	0.58	0.37
miR-145	—	—	—	10.37 <sup>a</sup>	—	0.68	3.07 <sup>a</sup>	3.36 <sup>a</sup>

Примечание. Данные (из: Михайлов и др., 2015) показаны по сравнению с контролем, условно принятым за 1.

<sup>a</sup>Значимость различия при  $P \leq 0.05$ .

(Özgür et al., 2013). Экспрессия MALAT1 была снижена в клетках, обработанных блеомицином, но повышена при воздействии ионизирующей радиации. MALAT1 регулирует миграцию клеток, формирование синапса и клеточный цикл, подтверждая свою вовлеченность в ответ на повреждение ДНК

В нашей работе были использованы радиостойчивые и радиочувствительные клетки — клетки здоровых доноров и клетки пациентов с синдромом Дауна (Засухина и др., 2016; Михайлов и др., 2017). Были выявлены достоверные различия уровня экспрессии ряда генов в клетках здоровых доноров и в клетках пациентов с синдромом Дауна. Мы исследовали изменение активности некоторых генов металлопротеиназ (ММП), реагирующих на стрессовые воздействия и имеющих значение для формирования отдаленных последствий ионизирующего облучения, принимая участие в инвазивном росте опухолевых клеток. Активность ММП контролируется генами *TIMP*, которые могут подавлять развитие опухолей. Оказалось, что активность *TIMP1* и *TIMP2* была в 15 раз выше в клетках здоровых доноров по сравнению с клетками пациентов с синдромом Дауна. Ключевую роль при синдроме Дауна играет микроРНК-1246, экспрессия которой при дозе облучения 3 Гр возрастала более чем на 2 порядка, а активность гена *DYRK1A* при этом синдроме увеличивалась в 3 раза. Изменение уровня экспрессии было также отмечено и для микроРНК-34, участвующей в работе *p53*-зависимого сигнального пути, который приводит к активизации процессов репарации, остановке клеточного цикла, а при отсутствии устранения повреждения ДНК — и к апоптозу.

Нами также были выявлены особенности радиоответа в зависимости от типа клеток, представленные в табл. 1 (Михайлов и др., 2015). Для идентификации и количественной характеристики содержания микроРНК и мРНК гена *p53* использовали метод ПЦР в реальном времени. Изучение мРНК гена *p53* важно, поскольку время жизни в клетках как белка, так и мРНК гена *p53* составляет от нескольких минут до десятка минут, и модуляции белокнекодирующими РНК экспрессии этого гена на посттранскрипционном уровне могут играть важную роль для функционирования *p53*-зависимой системы сохранения стабильности генома после генотоксических воздействий. Из данных табл. 1 видно, что участвующие в поддержании стабильности генома *p53* и микроРНК неодинаково

во изменяют свою экспрессию после облучения в перерабатываемых клетках человека линий Jurkat и RD и в ФГА-стимулированных клетках крови. Отмечена активация экспрессии *p53*, miR-107 и miR-145 в клетках крови после воздействия радиации.

Установлено, что для большинства микроРНК в качестве мРНК генов-мишеней потенциально могут выступать десятки генов, однако реальная модуляция в различных клетках осуществляется для значительно меньшего числа генов. В связи с этим увеличение содержания определенных микроРНК после генотоксического воздействия может приводить к разным результатам: для одних клеток может способствовать их гибели, а для других — онкотрансформации. Так, биоинформационный анализ показал, что мишенями для микроРНК-125 являются мРНК проапоптотических генов (*vak1*, *vmf*, *p53* и *puma*), а также мРНК генов, участвующих в антиапоптотическом ответе (*bcl* и *mcl1*). В зависимости от взаимодействия с мРНК-мишенями в различных клетках микроРНК-125 может ингибировать либо активировать митохондриальные пути апоптоза (Sun et al., 2013). Приведенные данные демонстрируют, что особенности генотипа можно считать фактором, определяющим участие РНК, не кодирующих белок, в формировании радиоответа.

### Экспрессия некодирующих РНК при стрессовых воздействиях

Клетка отвечает на стрессовое воздействие остановкой клеточного цикла, модуляцией генной экспрессии, обеспечивая репарацию ДНК или апоптоз. Воздействие различными типами генотоксических агентов (гамма-радиация, УФ-облучение и химические мутагены) сопровождается неодинаковым изменением экспрессии микроРНК в клетках различных типов (Yosson, 2008). Повышение или понижение экспрессии микроРНК наступает через несколько часов после повреждения ДНК и чаще всего возвращается к начальному уровню через 24 ч. Это дало основание считать, что существует этап между ответом в виде быстрой модификации белков и слабым транскрипционным репрограммированием генов. Следует подчеркнуть еще раз специфичность экспрессии микроРНК, например при гамма-облучении, в зависимости от клеточного типа. При этом другие ДНК-повреждающие

агенты (УФ-лучи, цисплатин и др.) в свою очередь вызывают индукцию других уникальных сообществ микроРНК в тех же клетках (Liu, Lu, 2012). Экспрессия некоторых микроРНК регулируется транскрипционными факторами — семейством опухолевых супрессоров *p53* (*p53* и *тар63*), которые активируются в ответ на стресс и поддерживают или ингибируют транскрипцию некоторых микроРНК. В свою очередь повреждение ДНК регулирует сеть микроРНК на посттранскрипционном уровне. *p53* связан с *Drosha/DGCR8* через взаимодействие с *p68/p72*, поддерживает процессинг некоторых при-микроРНК в пре-микроРНК. Таким образом, показано, что экспрессия микроРНК может регулироваться повреждениями ДНК в зависимости не только от их природы и степени, но и от типа клеток.

Установлено, что после воздействия ионизирующей радиации в дозах от 1 до 10 Гр на лимфобластные клетки IM9 человека профиль экспрессии микроРНК изменялся. Мишенями микроРНК, экспрессия которых более чем в 2 раза отличалась от контрольных значений, служили гены репарации ДНК, остановки клеточного цикла, апоптоза. Авторы полагают, что обнаруженные пострadiационные изменения экспрессии микроРНК важны для формирования радиоответа (Cha et al., 2009).

В ответ на повреждение ДНК ATM- или ATR-киназа активировала *p53*, который в свою очередь трансаktивировал гены клеточного цикла, апоптоза и др. (Liu, Lu, 2012). Семейство микроРНК-34 увеличивало свою экспрессию в ответ на активацию *p53*. МикроРНК-34а приводила к остановке клеточного цикла в фазе  $G_1$ , микроРНК-34с индуцировала активность *p53* вслед за повреждением ДНК. При отсутствии *p53* альтернативный путь включал в себя индукцию микроРНК-34с. Были также обнаружены и другие транскрипционные регуляторы *p53*: микроРНК-192, -194, -215, -17 и -92. Было показано, что гены семейства *p53* (*p63* и *p73*) могут функционировать как позитивные и негативные регуляторы процессов индукции микроРНК (Liu, Lu, 2012). Кроме того, при повреждении ДНК был идентифицирован ряд других транскрипционных факторов — cMyc, cREB и E2F1, которые также способны модулировать экспрессию микроРНК и изменять клеточный ответ (Liu, Lu, 2012).

Клеточный ответ на повреждение ДНК включает в себя сложную сеть процессов, направленных на распознавание повреждения и восстановление ДНК. Выявлено, что увеличение экспрессии многих микроРНК при повреждении ДНК зависит от присутствия ATM-киназы, поскольку при отсутствии ATM этого увеличения не наблюдали (Zhang et al., 2011).

В ответ на повреждение ДНК изменяется также регуляция экспрессии длинных РНК (Moran et al., 2012). Изучение длинных РНК относительно ново в радиационной биологии, и пока из выявленных длинных РНК идентифицировано немного таких, которые чувствительны к действию ионизирующей радиации. К их числу принадлежит длинная РНК — CCND1, которая образует рибонуклеопротеидный комплекс и репрессировывает транскрипцию CCND1 после повреждения ДНК (Wang et al., 2008). CCND1-некодирующая длинная РНК локализована в регулирующем районе гена *ccnd1*. После радиационного воздействия на клетки линий рака шейки матки и молочной железы человека три длинных РНК (CDKN2B-AS1, lncRNA-CCND1 и GAS5) были значительно активированы и зависели от типа клеток (Özğür et al., 2013).

Другой длинной РНК, принимающей участие в ответе на повреждения ДНК и контроле клеточного цикла, является длинная РНК-*p21*, ассоциированная с *p53*-ответом на повреждение ДНК (Wang, Chang, 2011). К некодирующим РНК относится также PANDA, которая индуцируется в ответ на генотоксический стресс, являясь промоторассоциированной (Hung et al., 2011). Было обнаружено 216 предполагаемых длинных РНК, связанных с 56 генами клеточного цикла (циклин, циклинзависимые киназы и циклинзависимые ингибиторы).

Новый класс РНК, названный как «регулирующие повреждения ДНК», был обнаружен в районе двухнитевых разрывов ДНК, образующихся после ионизирующего облучения и приводящих к наиболее тяжелым повреждениям клетки (Francia et al., 2012). Следовательно, имеются сайт-специфические РНК, которые были описаны другой группой исследователей как Dicer-зависимые малые РНК (Wei et al., 2012). Эти данные свидетельствуют об универсальности феномена сайт-специфических РНК при повреждениях ДНК, вовлекающих хроматинмодифицирующие комплексы в сайты повреждений или в сигналинг репарации ДНК.

Описаны различные пути регулирования стресс-ответа клеток экспрессией генов некодирующих РНК. Известно, что в ядре гистон H2AX играет критическую роль в репарации ДНК и геномной стабильности (Fillingham et al., 2006). Ингибирование *h2ax* приводило к увеличению радиочувствительности (Bassing et al., 2002). *H2ax* является мишенью микроРНК-24. Прямой путь регулирования микроРНК демонстрируется на примере гистонового варианта *h2ax*. Повышение экспрессии микроРНК-24 снижает регулирующее действие *h2ax* в клетках крови, что сопровождается гиперчувствительностью к гамма-радиации, дефектами в репарации двухнитевых разрывов ДНК и хромосомной нестабильностью (Liu, Lu, 2012). Кроме того, увеличение экспрессии микроРНК-24 влияет и на активность *h2ax*, расположенного на наружной мембране митохондрий, что приводит к нарушению митохондриальных функций, о чем свидетельствуют содержание АТФ, мембранный потенциал и потребление кислорода (Jeong et al., 2017).

МикроРНК могут принимать участие в регулировании радиоответа, понижая экспрессию гена *p53*, играющего главную роль в поддержании стабильности генома и являющегося супрессором опухолевого роста. К таким микроРНК относятся микроРНК-125 и -504, для которых, как показывает биоинформационный анализ, мРНК гена *p53* является мишенью. Повышение экспрессии этих микроРНК приводило к снижению уровня экспрессии *p53* и соответственно снижению апоптоза в клетках человека. Установлено, что подобное взаимодействие между мРНК *p53* и микроРНК-125 и -504 зависит от фенотипа и для многих клеток млекопитающих может не наблюдаться (Шуленина и др., 2015). Кроме того, активность *p53* регулируется *p53*-ассоциированными факторами. Так, Mdm2 (является E3-убиквитинлигазой) известна как негативный регулятор активности *p53*. Повреждение ДНК приводит к распаду комплекса Mdm2 и *p53* и быстрой активации *p53*. В регулировании *p53* также принимает участие микроРНК-605, снижая экспрессию Mdm2 и, таким образом, повышая транскрипционную активность *p53*. В качестве негативных регуляторов Mdm2 выступают также микроРНК-192, -194 и -215 (Pichiorri et al., 2010). МикроРНК-122, понижая активность MDM-2, повышает активность *p53*.

Что касается длинных РНК, то они включаются в огромный спектр клеточных процессов, связанных с регулированием транскрипции или мРНК-процессингом. Однако в отличие от микроРНК длинные РНК принимают участие в комплексе более сложных функций. Многие длинные РНК (XIST, ANRIL, HOTAIR и др.) включаются в эпигенетическое регулирование генов-мишеней (Gurta et al., 2010; Liu, Lu, 2012, и др.). Эти длинные РНК взаимодействуют с комплексами гистонмодифицированных протеинов и сопровождают их до специфических локусов, изменяя их функции. Так, например, 1 из 39 длинных РНК (Tug1) индуцируется в клетке, имеющей *p53* дикого типа (но не в клетке с мутантным *p53*), и действует как репрессор *p53*-зависимого транскрипционного ответа через взаимодействие с хроматинмодифицированным комплексом (Khalil et al., 2009).

Кроме того, некоторые длинные РНК индуцируются в ответ на специфические стимулы и активируют транскрипционные программы, которые позволяют клеткам отвечать на эти воздействия. Так, в ответ на повреждение ДНК происходит активация *p53*, *linc-P21* и *PANDA*, что приводит к развитию апоптоза (Huarte et al., 2010; Hung et al., 2011). Установлено, что некодирующая РНК MEG3 может функционировать как супрессор опухоли. Действие MEG3 опосредуется как *p53*-зависимыми, так и *p53*-независимыми путями (Zhou, 2007). Инактивирование *p53* в результате мутаций ингибирует экспрессию *linc-P21* и защищает облученные клетки от программируемой гибели (Hall et al., 2015).

Таким образом, пути клеточного сигналинга в ответ на повреждение ДНК состоят из нескольких этапов — распознавание повреждения ДНК, передача сигнала и иницирование репарации поврежденной ДНК, что приводит либо к остановке клеточного цикла для репарации повреждения и последующему выживанию клеток, либо к апоптозу в случае тяжелого повреждения. Показано, что повреждения ДНК стимулируют регулирование биогенеза некодирующих РНК на транскрипционном и посттранскрипционном уровнях. Некоторые длинные РНК могут регулировать активность микроРНК на посттранскрипционном уровне, связываясь с микроРНК напрямую, работают подобно «губке», предохраняющей специфические микроРНК от их мРНК-мишеней (Cesana et al., 2011).

Одним из компонентов ответа на повреждение ДНК, которое приводит к увеличению экспрессии и активности *p53*, является длинная РНК DINO, поскольку в отсутствие DINO протеин *p53* дестабилизируется. Транскрипционный фактор *p53* в свою очередь стимулирует экспрессию DINO (Schmitt et al., 2016). Поэтому взаимодействие *p53* и длинной РНК DINO является необходимым для сохранения стабильности генома. Таким образом, DINO может регулировать *p53*-сигналинг.

Длинная РНК MEG3 может также повышать активность *p53*, влияя на множество других длинных РНК, регулирующих активность *p53* (Zhou, 2007).

### Роль связи микроРНК—длинные РНК—гены в реализации заболеваний человека

МикроРНК и длинные РНК, являясь регуляторами активности генов, играют огромную роль в патофизиологии человека. Аберрантная экспрессия этих некодирующих РНК и их воздействие на гены-мишени описаны при

Таблица 2

#### Ассоциация некодирующих длинных РНК, микроРНК и генов при некоторых заболеваниях человека

Заболевание	Длинная РНК	МикроРНК	Ген-мишень
Рак простаты	PCAT1	Mir-366, -7, -3p	<i>c-Myc</i>
Рак груди	HOTAIR	Mir-7	<i>SETDB1</i>
	HOTAIR	Mir-568	<i>HOTAIR</i>
Нейродегенерация	SCA7	Mir-124	<i>ATXN7</i>
Атеросклероз	RP5-833 A20.1	Mir-382-5p	<i>NFIA</i>
Инфаркт	APF	Mir-188-3p	<i>ATG7</i>
	H19	Mir-103/107	<i>FADD</i>

Примечание. Данные взяты из: Bayomi, 2016.

различных заболеваниях человека — некоторых видах рака, сердечных заболеваниях, нейродегенеративных процессах. В табл. 2 представлены сводные данные о связи между некоторыми некодирующими РНК и патологией человека (Bayomi et al., 2016).

МикроРНК регулируют экспрессию генов, ингибируя трансляцию, или индуцируют деградацию мРНК-мишени. Длинные РНК регулируют экспрессию генов, работая в качестве «молекулярного гида» для повышения взаимодействия ДНК с протеином или функционируют как «молекулярные ловушки» для протеинов, включая транскрипционные факторы. Таким образом, они являются фактором эпигенетики, сопровождая хроматинмодифицированные комплексы к локусу-мишени ДНК. Кроме того, длинные РНК действуют как губка для микроРНК и мРНК. Так, при раке простаты отмечено, что онкогенная длинная РНК PSAT-1 взаимодействует с *c-myc*, повышая экспрессию *c-myc*, связываясь с 3'-UTR *c-myc* (Prensner et al., 2014). Авторы полагают, что активность PSAT-1 зависит от стабилизации белка *c-Myc*. Кроме того, было обнаружено, что семейство микроРНК-34 и микроРНК-3667-3p способно связываться с *c-myc* и PSAT-1. Фактически PSAT-1 осуществляет свое протекторное влияние на экспрессию *c-myc*, когда микроРНК-34a сверхэкспрессируется, а микроРНК-3667-3p снижает клеточную пролиферацию через путь PSAT-1/*c-myc*. При раке груди длинная РНК HOTAIR характеризуется сверхэкспрессией и ассоциируется с прогрессией этого вида патологии. Низкий уровень микроРНК-7 ингибировал метилтрансферазу гистонов через активацию HOTAIR, снижая регуляцию STAT3-пути (Zhang et al., 2014). Другими авторами было показано, что супрессия микроРНК-145 привела к повышению уровня регулирования гена-мишени *arfb*, который содействует метастазированию, т. е., по-видимому, микроРНК-145 не оказывает влияния на пролиферацию или апоптоз, но регулирует клеточную инвазию (Eades et al., 2015).

В работе Байоми и соавторов (Bayomi et al., 2016) обобщены данные о вовлеченности длинных РНК и микроРНК при других видах рака (рака желудка, глиомы, гепатоцеллюлярной карциномы и др.), а также при нейродегенеративных заболеваниях, сердечно-сосудистой патологии, инфаркте и др. (Wang et al., 2015). Интересно, что генистайн (соевый изофлавоид), обладая антиканцерогенной активностью *in vitro* и *in vivo*, приводил к снижению уровня комплекса микроРНК с HOTAIR12 (Chiyomaru et al., 2013). При этом повышалась экспрессия

Уровень экспрессии длинных РНК как показатель при диагностике, прогнозе и метастазировании

Длинные РНК	Тип рака	Уровень экспрессии длинных РНК при		
		диагностике	прогнозе	метастазировании
MALAT1	Рак предстательной железы	Повышен		
	Рак груди		Понижен	
	Рак шейки матки		Повышен	Повышен
NOTAIR	Скваматозная карцинома	»		»
	Рак предстательной железы	»		
	Гепато-целлюлярная карцинома			»
PVT1	Рак груди		»	
ncRuPAR	Рак желудка	»	»	
	То же		Понижен	

Примечание. Данные взяты из: Gubta, Tripathi, 2016.

микроРНК-34. При раке груди (табл. 2) было обнаружено повышение экспрессии NOTAIR, которое ассоциировалось с прогрессией заболевания. Уровень микроРНК-7 был при этом понижен. Авторы указывают, что микроРНК-7 ингибирует гистоновую метилтрансферазу Setdb1 (Zhang et al., 2014). Другие авторы указывают на снижение регуляции NOTAIR через активность микроРНК-568, которая приводит к повышению экспрессии одного из генов мишеней *nfat5* (Li et al., 2014). Этот ген вовлекался в клеточную инвазию и метастазирование. В то же время сообщается, что повышение метастазирования осуществляется геном-регулятором *mtr*. Все эти данные демонстрируют, что изменение в регуляторной связи микроРНК-длинная РНК ответственно за регуляцию активности гена, в результате чего и развивается повышенная способность к метастазированию.

Следует подчеркнуть, что исследование роли и вклада в процессы метастазирования клеток различных микроРНК и длинных РНК и пути их активации трактуется авторами по-разному. Если большинство исследователей считают NOTAIR главным фактором, влияющим на эти процессы при раке груди, то микроРНК авторы исследуют разные и соответственно оценивают неодинаково их роль в развитии патологических процессов.

Дисрегуляция длинных РНК aHIF, ANRIL, KSNQ10T1, MIAT и MALAT1 также была обнаружена при инфаркте. Другим примером могут служить данные по инфаркту, при котором наблюдается aberrantная экспрессия микроРНК-1, -133, -208a1v, -499 и -328 (D'Alessandra et al., 2010).

### Длинные РНК как потенциал для диагностики, прогноза заболеваний, метастазирования и лечения

Длинные РНК характеризуются дисрегуляцией при различных видах рака, проявляя при этом высокую степень и тканевой, и клеточной специфичности. В табл. 3 обобщены некоторые данные по диагностике, прогнозу и метастазированию при некоторых формах рака на основе определения ассоциации между отдельными видами патологий и уровнями экспрессии длинных РНК (Gubta, Tripathi, 2016). Так, была выявлена связь повышения уровня активности длинной РНК MALAT1 при исследовании мочи пациентов с раком предстательной железы по сравнению с показателями в контрольной группе (Wang et al., 2014; Gubta, Tripathi, 2016). Другие авторы для диагностики рака использовали комбинацию длинных РНК, включая FRO348383 (Zhang et al., 2015). Диагностическим маркером служил также показатель экспрессии NOTAIR (Berrondo et al., 2016).

В понятие прогноз входит оценка течения заболевания и шансы на ремиссию и выздоровление. Естественно, что на прогноз влияют такие факторы, как тип и размер опухоли, ее локализация и реакция пациента на лечение. Повышение или понижение регулирующих длинных РНК у пациента связано с этими особенностями и может быть использовано как прогностический маркер. Так, экспрессия MALAT1 была снижена в опухолевых клетках при раке груди по сравнению с нормальными клетками. Это подтверждает, что эта длинная РНК может служить в качестве показателя супрессора опухоли при данном виде рака (Xu et al., 2015).

Обобщая, можно сказать, что отмечается корреляция между уровнями экспрессии длинных РНК и прогнозом

заболевания при разных видах рака, хотя пути вовлеченности генов и, возможно, других длинных РНК и микроРНК значительно различаются.

Чрезвычайно важным является возможность прогноза метастазирования и ремиссии заболевания, которая может иметь короткий или более длительный период времени начала лечения. Так, обнаружена сверхэкспрессирующаяся длинная РНК NOTAIR у пациентов с гепатоцеллюлярной карциномой как показатель метастазирования после трансплантации печени (Yang et al., 2011). Другая группа авторов также показала ассоциацию NOTAIR с прогрессией гепатоцеллюлярной карциномы (Geng et al., 2011). Следует подчеркнуть, что в большинстве случаев экспрессия некодирующих РНК (H19, NEIN, lncBCL2L11-3, ASLINC22381 и др.) при разных типах рака — назофарингеальной карциноме, глиобластоме и др. — была повышена (Gupta, Tripathi, 2016). В ряде случаев, например при аденокарциноме, экспрессия длинной РНК PRINS была подавлена (Glover et al., 2015).

Следовательно, ряд авторов полагают, что профили некодирующих РНК могут служить маркером для диагностики и прогноза метастазирования опухолей. При этом остается неясным, являются эти показатели причиной или последствием развития рака. Вместе с тем выполнены работы по использованию длинных РНК как показателей риска развития рака. Так, в китайской популяции была выявлена ассоциация между длинной РНК H19 и риском развития рака мочевого пузыря (Hua et al., 2016).

Длинные РНК могут быть использованы как мишень для лечения рака пациентов (Gupta, Tripathi, 2016). С учетом множественности функций и высокой клеточно-тканевой специфичности длинные РНК могут быть использованы в таргетной терапии. Так, было показано, что внутриопухолевая инъекция плазмиды, несущий ген

дифтерийного токсина под контролем длинной РНК H19, индуцировала экспрессию дифтерийного токсина, который снижал размер опухолей разного типа (Mizrahi et al., 2009). Комбинированная плаزمиды BC819, которая состоит из двухцепочечной ДНК, несущей ген дифтерийного токсина, под контролем длинной РНК H19, была эффективна у пациентов с раком поджелудочной железы при дозе 8 мг дважды в неделю (Hanna et al., 2012). Кроме того, молекулярные ингибиторы также могут ограничивать метастазирование при раке груди, предохраняя связь длинной РНК HOTAIR с PRC2- или с LSD1- комплексами (Tsay et al., 2011).

Таким образом, использование длинных РНК как мишеней для терапии с помощью различных ингибиторов, подавляющих их активность, может расцениваться как новый подход к терапии онкозаболеваний.

### Некодирующие РНК — регуляторы клеточных процессов при малых дозах радиации

Вопрос о влиянии малых доз радиации до настоящего времени является остро дискуссионным. По этой причине в нашем сообщении приведены литературные данные исследований, не только *in vitro*, но и на популяционном уровне доказывающих существование гормезиса.

В настоящее время существуют три основные модели оценки действия малых доз радиации на человека (Nguyen Wu, 2011; Vae et al., 2015). Во-первых, линейная беспороговая модель, которая больше применима для высоких доз радиации, но которая позволяет предполагать, что даже малые дозы могут повышать риск канцерогенеза. Во-вторых, пороговая модель, которая (несмотря на беспороговую модель) позволяет предполагать, что некоторый низкий уровень радиации является безопасным. Третья модель связана с гормезисом, или адаптивным ответом, который предполагает, что малые дозы радиации потенциально обладают протекторным действием, т. е. индуцируют радиорезистентность клеток или организмов. Кроме того, малые дозы радиации могут защищать клетки от эффекта свидетеля (*bystander effect*, поражения клеток, находящихся вне зоны действия радиации, но контактирующих с облучаемыми клетками), в том числе от клеточной инактивации, индуцированной альфа-частицами (Tang, Loke, 2015). Важным является то, что малые дозы радиации индуцируют адаптивный ответ не только в клетках, но и в тканях и органах всего организма в целом (Feinendegen et al., 2011).

Радиационный гормезис (или радиационный гомеостаз) — это стимуляция определенных систем, индуцируемых малыми дозами радиации. Это явление изучается в разных группах людей: жертв атомных бомбардировок, работников атомной промышленности, радиотехника, космонавтов и летчиков, жителей, проживающих в регионах с повышенным уровнем радиации. Рядом авторов было показано снижение онкозаболеваний у работников плутониевого комплекса «Маяк», постоянно получавших малые дозы радиации; у ликвидаторов Чернобыльской аварии, получивших дозу 50 мГр, число онкозаболеваний снизилось на 12 % по сравнению с общей популяцией. Уровень смерти от лейкемии у работников атомных предприятий, получивших 400 мЗв (данные по трем странам) был снижен вдвое (Tubiana et al., 2005). Положительные эффекты малых доз радиации были описаны для людей, проживающих в условиях естественно повышенного фо-

на радиации, которые заключались в повышении показателей продолжительности жизни и улучшении иммунного ответа, обеспечивающего устойчивость к некоторым заболеваниям (Tang, Loke, 2015).

Адаптивный ответ формируется при облучении клеток или организмов низкой дозой радиации (меньше 10 сГр) с последующим (через 4–6 ч) облучением повреждающей дозой или действием высокой дозой алкилирующих мутагенов или тяжелых металлов. При этом формируется устойчивость клеток к повреждающим агентам (повышается выживаемость, снижается число генных мутаций и хромосомных aberrаций) по сравнению с контрольной группой (Засухина, 2008).

Важнейшая роль регулятора радиоответа в клетках принадлежит микроРНК. Так, микроРНК-34, которая регулируется опухолевым супрессорным протеином p53 при радиоответе, индуцируется *in vitro* и *in vivo* (Liu et al., 2011). При радиоответе ряда клеточных линий были идентифицированы также микроРНК-16, -202, -303 и -572, некоторые из которых могут служить маркерами ответа на малые дозы радиации. Было показано, что в нормальных фибробластах человека профили микроРНК различаются через 6 и 24 ч после облучения (Vae et al., 2015). Эти же авторы показали, что малые дозы (0.1 Гр) регулируют активность генов, контролирующих коллагены (*col1a1* и *col1a2*), а также экспрессию генов металлопротеиназ (ММР), которые негативно регулируют уровни коллагена путем его деградации. Было обнаружено, что уровень экспрессии 16 микроРНК, включая микроРНК-3937 и -1825, повышался более чем в 40 раз через 24 ч после облучения, хотя выживаемость клеток и клеточный цикл к этому времени не отличались от контрольных показателей (необлученных клеток). Авторы полагают, что по показателям микроРНК могут быть выявлены ранний и поздний радиоадаптивные ответы после облучения в дозе 0.1 Гр. Ранний ответ характеризовался огромным повышением экспрессии микроРНК-3656 и -3125, которые можно расценивать как главные мишени в механизме радиоадаптивного ответа. Вместе с тем изменение экспрессии микроРНК обнаружено и через 6, и через 24 ч после облучения (микроРНК-129, -17 и -33 — в 3 раза, а микроРНК-1825, -3180, -3646 и -431 — в 5 раз) (Vae et al., 2015). Эти данные указывают на то, что экспрессия микроРНК происходит постоянно, независимо от времени после облучения.

Различия в уровнях экспрессии микроРНК при малых дозах облучения были выявлены в В-клетках, инфицированных вирусом Эпштейн—Барра (EBV-B), когда после облучения регистрируется повышение экспрессии микроРНК-let-7a, -15b, -16 и -21, а также микроРНК-23b, принимающей участие в липидном метаболизме. Однако эти микроРНК характеризовались пониженными уровнями экспрессии в клетках EBV-B, облученных совместно со стромальными клетками MSC, выделенными из костного мозга (MSC+EBV-B). Фермент липидного обмена глицерол-3-фосфатацетилтрансфераза был общей мишенью для этих микроРНК, имел пониженный уровень экспрессии на уровне белка и мРНК клетках в EBV-B и повышенную экспрессию в клетках MSC+EBV-B (Tabe et al., 2016). Эти данные свидетельствуют о регуляторных механизмах, контролирующих ответ клетки на малые дозы радиации, и о влиянии особенностей клетки на специфику экспрессии генов.

Одной из длинных РНК, экспрессия которой повышается после облучения малой дозой радиации, является

ся PARTICLE, играющая роль «подмостков» для опухолевого супрессора — метионинаденозилтрансферазы (MAT2A) и платформой для транскрипционной репрессии (O'Leary et al., 2015). PARTICLE и MAT2A ассоциируются вместе после облучения, образуя триплекс с CpG-островком.

При анализе генов, включенных в ответ на малые дозы радиации, оказалось, что пути реализации конечных событий в клетках разные (Tang, Loke, 2015). Так, в индукцию гормезиса включаются гены *atm*, *erk*, *mapk*, *jnk* и *p53*; в индукцию генетической нестабильности — *atm*, *erk*, *mapk*, *jnk*, *p53*, *ros* и *tnfa*; в эффект свидетеля — *cox2*, *erk*, *mapk*, *ros* и *tnfa*. Поэтому, с одной стороны, активация ряда путей индуцирует защитный эффект (повышение иммунитета, детоксикацию свободных радикалов, репарацию ДНК и пролиферацию стволовых клеток), а с другой — активация некоторых сигнальных путей, таких как *atm*, *mapk* и *erk*, может индуцировать такие повреждающие последствия, как геномная нестабильность.

Для адаптивного ответа характерна кросс-адаптация. Нами ранее в перевиваемых клетках человека и в клетках крови было показано, что малые дозы радиации индуцируют адаптивный ответ к повреждающему действию хлорида кадмия, и наоборот, низкие дозы хлорида кадмия индуцируют устойчивость клеток к действию радиации (Засухина, 2011). Возможно, что хроническое облучение малыми дозами радиации и повышение экспрессии антиоксидантных энзимов и является механизмом, индуцирующим стрессовую толерантность. Механизм кросс-адаптации связывают также с ролью металлопротеинов (МП), контролирующих процессы детоксикации, осуществляемой помимо антиоксидантной системы. Было показано, что МП индуцируются с повышенной активностью в облученных клетках по сравнению с необлученными, а с активностью их гена связывают кросс-адаптацию ионизирующего облучения и, например, действия тяжелых металлов (Ghoshal et al., 2015).

Обобщая данные по влиянию малых доз радиации на клетки, можно полагать, что адаптивный ответ может рассматриваться как специфический ответ гормезиса, являясь феноменом радиорезистентности, которая может препятствовать развитию эффекта свидетеля, индуцирующего в свою очередь геномную нестабильность. Естественно, что во многих сигнальных путях клеток, индуцируемых малыми дозами радиации, активность генов модулируются некодирующими РНК.

В заключение можно констатировать, что открытие некодирующих РНК как регуляторов активности генов, исследуемых *in vitro*, позволило понять механизмы многих процессов, протекающих в организме в норме, при патологии и в стрессовых ситуациях. Использование некодирующих РНК как мишеней не только в целях диагностики, но и для лечения может служить подходом к персонализированной медицине. Обнаружение путей регуляции генной активности и их взаимосвязь между собой позволят оценить норму реакции генотипа клетки при стрессовых воздействиях с новых позиций.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект 16-03-00013).

## Список литературы

- Засухина Г. Д. 2008. Адаптивный ответ — общебиологическая закономерность: факты, гипотезы, вопросы. Радиобиол. Радиоэкол. 48 (4) : 464—473. (Zasukhina G. D. 2008. Adaptive response — biological tendency: facts, hypothesis, questions. Rad. Biol. Rad. Ecol. 48 (4) : 464—473.)
- Засухина Г. Д. 2011. Механизмы устойчивости клеток человека к мутагенам. Успехи соврем. биол. 1 (6) : 496—508. (Zasukhina G. D. 2011. Human cells' resistance mechanism against mutagens. Biol. Bull. Rev. 1 (6) : 496—508.)
- Засухина Г. Д., Михайлов В. Ф., Васильева И. М., Шуленина Л. В. 2016. Клетки пациентов с синдромом Дауна — модель для изучения механизмов онкогенеза, повышенной чувствительности к генотоксикантам и антимуtagenеза. Успехи соврем. биол. 136 (2) : 126—137. (Zasukhina G. D., Mikhailov V. F., Vasilyeva I. M., Shulenina L. V. 2016. Cells of patients with Down syndrome — a model to study mechanisms of oncogenesis and hypersensitivity to genotoxicants and antimutagenesis. Biol. Bull. Rev. 6 (6) : 531—544.)
- Михайлов В. Ф., Шишкина А. А., Васильева И. М., Шуленина Л. В., Раева Н. Ф., Rogozhin E. A., Старцев М. И., Засухина Г. Д., Громов С. П., Алфимов М. В. 2015. Сравнительный анализ природных и синтетических антимуtagenенов как регуляторов экспрессии генов в клетках человека при воздействии ионизирующего облучения. Генетика. Т. 51. (2) : 147—154. (Mikhailov V. F., Shishkina A. A., Vasilyeva I. M., Shulenina L. V., Raeva N. F., Rogozhin E. A., Startsev M. I., Zasukhina G. D., Gromov S. P., Alfimov M. V. 2015. Comparative analysis of natural and synthetic antimutagens as regulators of gene expression in human cells under exposure to ionizing radiation. Rus. J. Genet. 51. (2) : 130—137.)
- Михайлов В. Ф., Шуленина Л. В., Васильева И. М., Старцев М. И., Засухина Г. Д. 2017. МикроРНК как регуляторы активности генов в клетках человека при воздействии ионизирующей радиации. Генетика. 53 (3) : 265—278. (Mikhailov V. F., Shulenina L. V., Vasilyeva I. M., Startsev M. I., Zasukhina G. D. 2017. The miRNA as human cell gene activity regulator after ionizing radiation. Russian J. Genetics. 53 (3) : 285—296.)
- Тарасов В. А., Бойко Н. В., Махоткин М. А., Шин Е. Ф., Тютякина М. Г., Чукунов И. Е., Набока А. В., Машкарина А. Н., Кирпий А. А., Матишов Д. Г. 2016. Зависимость индуцированной митомцином aberrантной экспрессии микроРНК от метилирования ДНК. Генетика. 52 (11) : 1233—1243. (Tarasov V. A., Boyko N. V., Mahotkin M. A., Shin E. F., Tuatyakina M. G., Chikunov I. E., Naboka A. V., Mashkarina A. N., Kirpiy A. A., Matishov D. G. 2016. The miRNA aberrant expression dependence on DNA methylation in HeLa cells treated with mitomycin C. Rus. J. Genet. 52 (11) : 1117—1123.)
- Шуленина Л. В., Михайлов В. Ф., Калистратова В. С., Иванов А. А., Самойлов А. С. 2015. Замедление вакциной «Гриппол» радиационно-индуцированного развития опухолей молочной железы у крыс: роль микроРНК. Мед. экстремальных ситуаций. 53 (3) : 38—48. (Shulenina L. V., Mikhailov V. F., Kalistratova V. S., Ivanov A. A., Samoilov A. S. 2015. The «Grip-pol» vaccine in rats shows growth inhibition in radiation-induced mammary tumors: the role of microRNA. Med. Extreme Situations. 53 (3) : 38—48.)
- Bae S., Kim K., Cha H., Choi Y., Shin S. H., An I., Lee J. H., Lee S. J., Kim J. Y., Nam S. Y., An S. 2015. Low-dose  $\gamma$ -irradiation induced dual radioadaptive responses depending on the post-irradiation time by altering micro-RNA expression profiles in normal dermal fibroblasts. Int. J. Mol. Med. 35 : 227—237.
- Bassing C., Chua K., Sekiguchi J., Suh H., Whitlow S., Fleming J., Monroe B., Ciccone D., Yan C., Vlasakova K., Livingston D., Ferguson D., Scully R., Alt F. 2002. Increased ionizing radiation sensitivity and genomic instability in the absence of histone H2AX. Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 99 : 8173—8178.
- Bayoumi A., Sayed A., Broskova Z., Teoh J., Wilson J., Su H., Tang Y., Kim I. 2016. Crosstalk between long non-coding RNAs and microRNAs in health and disease. Int. J. Mol. Sci. 17 : 356—365.



- Berrondo C., Flax J., Kucherov V., Siebert A., Osinski T., Rosenberg A., Fucile C., Richheimer S., Beckham C. 2016. Expression of long non-coding RNA HOTAIR correlated with disease progression in bladder cancer and is contained in bladder cancer patient urinary exosomes. PLoS ONE. 11 : e0147236.
- Burzio V., Villota C., Villegas J., Landerer E., Boccardo E, Villa L., Martinez R., Lopez C., Gaete F., Toro V., Rodriguez X., Burzio L. 2009. Expression of a family of non-coding mitochondrial RNAs distinguishes normal from cancer cells. Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 106 : 9430—9434.
- Cesana M., Cacehiarelli D., Legnini I., Santini T., Stander O., Chinappi M., Tramontano A., Bozzoni I. 2011. A long non-coding RNA controls muscle differentiation by functioning as a competing endogenous RNA. Cell. 147 : 358—369.
- Cha H., Shin S., Yoo H., Lee E. M., Bae S., Yang K. H., Lee S. J., Park I. C., Jin Y. W., An S. 2009. Identification of ionizing radiation response micro RNA in the IM9 human B lymphocytic cell line. Int. J. Oncol. 34 : 1661—1668.
- Chaudry M. 2013. Expression pattern of small nucleolar RNA host genes and long non-coding RNA in X-rays treated lymphoblastoid cells. Int. J. Mol. Sci. 14 : 9099—9110.
- Chiyomaru T., Yamamura S., Fukuhara S. 2013. Genistein inhibits prostate cancer cell growth by targeting miR-34a and oncogenic HOTAIR. PLoS ONE. 8 : e70372.
- D'Alessandra Y., Devanna P., Limana F., Straino S., Di Carlo A., Brambilla P. G., Rubino M., Carena M. C., Spazzafumo L., De Simone M., Micheli B., Biglioli P., Achilli F., Martelli F., Maggolini S., Marenzi G., Pompilio G., Capogrossi M. C. 2010. Circulating micro RNAs are new and sensitive biomarkers of myocardial infarction. Eur. Heart. 31 : 2765—2773.
- Eades G., Wolfson B., Zhang Y., Li Q., Yao Y., Zhou Q. 2015. Linc RNA-ROR and miR-145 regulates invasion in triple-negative breast cancer via targeting ARF-6. Mol. Cancer Res. 13 : 330—338.
- Feinendegen L., Books A., Morgen W. 2011. Biological consequences and health risks of low-level exposure to ionizing radiation. Health Phys. 100 : 247—260.
- Fillingham J., Keogh M. C., Krogan N. J. 2006. GammaH2AX and its role in DNA double-strand break repair. Biochem. Cell Biol. 84 : 568—577.
- Francia S., Micheli F., Saxena A., Tang D., de Hoon M., Anelli V., Mione M., Carninci P., d'Adda di Fagagna F. 2012. Site-specific DICE R and DROSHA RNA products control the DNA-damage response. Nature. 488 : 231—235.
- Geng Y., Xie S., Li Q., Ma J., Wang G. Y. 2011. Large intervening non-coding RNA HOTAIR is associated with hepatocellular carcinoma progression. J. Int. Med. Res. 39 : 2119—2128.
- Ghoshal N., Talapatru S., Talukder P., Sengupta M., Ray S. K., Chakraborty A., Raychaudhuri S. S. 2015. Cross-adaptation to cadmium stress in *Plantago ovata* by pre-exposure to low dose of gamma rays effects in metallothionein and metal content. Int. J. Rad. Biol. 91 : 611—623.
- Gibb E., Brown C., Lam W. 2011. The functional role of long-coding RNA in human carcinomas. Mol. Cancer. 10 : 38—44.
- Glover A., Zhao J., Ep J., Lee J. C., Robinson B. G., Gill A. J., Soon H., Sidhu S. B. 2015. Long non-coding RNA profiles of adrenocortical cancer can be used to predict recurrence. Endocr. Relat. Cancer. 22 : 99—109.
- Gupta R., Chah N., Wang K. C., Kim J., Horlings H. M., Wong D. J., Tsai M. C., Hung T., Argani P., Rinn J. L., Wang Y., Brzoska P., Kong B., Li R., West R. B., van de Vijver M. J., Sukumar S., Chang H. Y. 2010. Long non-coding RNA HOTAIR reprograms chromatin state to promote cancer metastasis. Nature. 464 : 1071—1076.
- Gupta S., Tripathi Y. 2016. Potential of long non-coding RNAs in cancer patients: from biomarkers to therapeutic target. Int. J. Cancer. 2 : 37—46.
- Hall J., Messenger Z., Tam H., Phillips S. L., Recio L., Smart R. C. 2015. Long noncoding RNA lincRNA-p21 is the major mediator of UVB-induced and p53-dependent apoptosis in keratinocytes. Cell Death Disease. 6 : e1700. Doi: 10.1038/cddis.2015.67.
- Hanna N., Ohana P., Konikoff F., Leichtmann G., Hubert A., Appelbaum L., Kopelman Y., Czerniak A., Hochberg A. 2012. Phase 1/2a, dose-escalation, safety, pharmacokinetic and preliminary efficacy study of intratumoral administration of BC-819 in patients with unresectable pancreatic cancer. Cancer Gen. Ther. 19 : 374—381.
- Hua Q., Lv X., Gu X., Chen Y., Chu H., Du M., Gong W., Wang M., Zhang Z. 2016. Genetic variants in Lnc RNA H19 are associated with the risk of bladder cancer in Chinese population. Mutagenesis. 31 (5) : 531—538. Doi: 10.1093/mutage/gew018.
- Huarte M., Guttman M., Fildser D., Garber M., Koziol M. J., Kenzelmann-Broz D., Khalil A. M., Zuk O., Amit I., Rabani M., Attardi L. D., Regev A., Lander E. S., Jacks T., Rinn J. L. 2010. A large intergenic non-coding RNA induced by P53 mediates global gene repression in the p53 response. Cell. 142 : 409—419.
- Hung T., Wang G., Lin M., Koegel A. K., Kotake Y., Grant G. D., Horlings H. M., Shah N., Umbricht C., Wang P., Wang Y., Kong B., Langerod A., Borresen-Dale A. L., Kim S. K., van de Vijver M., Sukumar S., Whitfield M. L., Kellis M., Xiong Y., Wong D. J., Chang H. Y. 2011. Extensive and coordinated transcription of non-coding RNAs with cell-cycle promoters. Nat. Genet. 43 : 621—629.
- Huomonen R., Korkalainen M., Viluksela M. 2014. Role of micro RNAs and DNA methyltransferases in transmitting induced genomic instability between cell generations. Front. Public Health. 2014 : <http://doi.org.secure.sci-hub.cc/10.3389/fpubh.2014.00139>.
- Jeong J. H., Kang Y. C., Piao Y., Kang S., Pak Y. K. 2017. MiR-24-mediated knockdown of H2AX damages mitochondria and the insulin signaling pathway. Exper. Mol. Med. 49 (4) : e313. Doi: 10.1038/emm.2016.174.
- Jiao Y., Liu C., Cui F., Xu J., Tong J., Qi X., Wang L., Zhu W. 2015. Long intergenic non-coding RNA induced by X-ray irradiation regulates DNA damage response signaling in the human bronchial epithelial BEAS-2B cell line. Oncol. Lett. 9 (1) : 169—176.
- Khalil A., Guttman M., Huarte M., Garbera M., Rajd A., Morales D., Thomasa K., Pressera A., Bernsteina B. E., van Oudenardend A., Regeva A., Landera E. S., Rinna J. L. 2009. Many human large intergenic non-coding RNAs associate with chromatin-modifying complexes and affect gene expression. Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 106 : 11667—11672.
- Li J., Wang L., Zhao G., Yang T., Li W., Zhao J., Yu F., Wang L., Meng Y., Liu N., X. Zhu , Gao C., Jia L., Yang A. 2014. Nuclear factor of activated T cell 5 maintained by HOTAIR suppression of miRNA-568 upregulates 5100 calcium binding protein A4 to promote breast cancer metastasis. Breast Cancer Res. 16 : 454. Doi: 10.1186/s13058-014-0454-2.
- Liu C., Zhou C., Gao F., Cai S., Zhang C., Zhao L., Zhao F., Cao F., Lin J., Yang Y., Ni J., Jia J., Wu W., Zhou L., Cui J., Zhang W., Li B. 2011. MiR-34a in age and tissue related radiosensitivity and serum miR-34a as a novel indicator of radiation injury. Int. J. Biol. Sci. 2011. 7 (2) : 221—233. doi: 10.7150/ijbs.7.221.
- Liu Y., Lu V. 2012. Non-coding RNA's in DNA damage response. Amer. J. Cancer Res. 2 : 658—675.
- Ma L., Bajic V. B., Zhang Z. 2013. On the classification of long non-coding RNAs. RNA Biol. 10 : 925—933.
- Mendell J., Olson E. 2012. MicroRNAs in stress signaling and human disease. Cell. 148 : 1172—1187.
- Mizrahi A., Czerniak A., Levi T., Amiur S., Gallula J., Matouk I., Abu-lail R., Sorin V., Birman T., de Groot N., Hochberg A., Ohana P. 2009. Development of targeted therapy for ovarian mediated by a plasmid expressing diphtheria toxin under the control of H19 regulatory sequences. J. Transl. Med. 7 : 69—78.
- Moran V., Perera J., Khalil A. 2012. Emerging functional and mechanistic paradigms of mammalian long non-coding RNAs. Nucleic Acids. Res. 40 : 6391—6400.
- Nguyen P., Wu J. 2011. Radiation exposure from imaging tests: is there an increased cancer risk? Expert Rev. Cardiovas. 9 : 177—183.

- O'Leary V. B., Ovsepiyan S. V., Carrascosa L. G., Buske F. A., Radulovic V., Niyazi M., Moertl S., Trau M., Atkinson M. J., Anastasov N. 2015. PARTICLE, a triplex-forming long ncRNA, regulates locus-specific methylation in response to low-dose irradiation. *Cell Reports*. 11 : 474—485.
- Özgür E., Mert U., Isin M., Okutan M., Dalay N. 2013. Differential expression of long-coding RNAs during genotoxic-stress-induced apoptosis in HeLa and MCF-7 cells. *Clin. Exp. Med.* 13 : 119—126.
- Pichiorri F., Suh S. S., Rocci A., De Luca L., Taccioli C., Sant'hanam R., Zhou W., Benson D. M. Jr., Hofmainster C., Alder H., Garofalo M., Di Leva G., Volinia S., Lin H. J., Perrotti D., Kuehl M., Aqeilan R. I., Palumbo A., Croce C. M. 2010. Downregulation of p53-inducible microRNAs 192, 194, 215 impairs the p53/MDM2 autoregulatory loop in multiple myeloma development. *Cancer Cell*. 18 : 367—381.
- Prensner J., Chen W., Han S., Iyer M. K., Cao Q., Kothari V., Evans J. R., Knudsen K. E., Paulsen M. T., Ljungman M., Lawrence T. S., Chinnaiyan A. M., Feng F. Y. 2014. The long non-coding RNA PCAT-1 promote prostate cancer cell proliferation through cMyc. *Neoplasia*. 16 : 900—908.
- Sahu A., Sighal U., Chinnaiyan A. 2015. Long non-coding RNAs in cancer: from function to translation. *Trends Cancer*. 1 : 93—109.
- Schmitt A. M., Garcia J. T., Hung T., Flynn R. A., Shen Y., Qu K., Payumo A. Y., Peres-da-Silva A., Broz D. K., Baum R., Guo S., Chen J. K., Attardi L. D., Chang H. Y. 2016. An inducible long non-coding RNA amplifies DNA damage signaling. *Nature Genet.* 48 (11) : 1370—1378.
- Sun Y., Lin K., Chen Y. 2013. Diverse functions of miR-125 family in different cell contexts. *J. Hematol. Oncol.* 6 : 1—8.
- Tabe Y., Hatanaka Y., Nakashiro M., Sekihara K., Yamamoto S., Matsushita H., Kazuno S., Fujimura T., Ikegami T., Nakanga K., Matsumoto H., Ueno T., Aoki J., Yokomizo T., Konopleva M., Andreeff M., Miida T., Iwabuchi K., Sasai K. 2016. Integrative genomic and proteomic analyses identifies glycerol-3-phosphate acyltransferase as a target of low-dose ionizing radiation in EBV infected-B cells. *Int. J. Rad. Biol.* 92 : 24—34.
- Tang F., Loke V. 2015. Molecular mechanism of low dose ionizing-induced hormesis, adaptive response, radio-resistance, bystander effects find genomic instability. *Int. J. Rad. Biol.* 91 : 13—27.
- Tsai M., Spitale R., Chang H. 2011. Long intergenic non-coding RNA: new links in cancer progression. *Cancer Res.* 71 : 3—7.
- Tubiana M., Aurengo A., Averbeck D., Bonin A., Le Guen B., Masse R., Monier R., Valleron A.-J., and de Vathaire F. 2005. Dose-effect relationships and estimation of the carcinogenic effects of low doses of ionizing radiation. *Académie des Sciences Report March 30, 2005. Nat. Acad. Med. (France). Académie Nationale de Médecine report.*
- Villota C., Campos A., Vidaurre S., Oliveira-Cruz L., Boccardo E., Burzio V. A., Varas M., Villegas J., Villa L. L., Valenzuela P. D. T., Socias M., Roberts S., Burzio L. O. 2012. Expression of mitochondrial non-coding RNAs is modulated by high risk huma papillo mavirus oncogenes. *J. Biol. Chem.* 287 : 21 303—21 315.
- Wang F., Ren S., Chen R., Lu J., Shi X., Zhu Y., Zhang W., Jing T., Zhang C., Shen J., Xu C., Wang H., Wang H., Wang Y., Liu B., Li Y., Fang Z., Guo F., Qiao M., Wu C., Wei Q., Xu D., Shen D., Lu X., Gao X., Hou J., Sun Y. 2014. Development and prospective multicenter evaluation of the long non-coding RNA MALAT1 as a diagnostic urinary biomarker for prostate cancer. *Oncotarget*. 5 : 11091—11102.
- Wang J. X., Zhang X. J., Li Q., Wang K., Wang Y., Jiao J. Q., Feng C., Teng S., Zhou L. Y., Gong Y., Zhou Z. X., Liu J., Wang J. L., Li P. F. 2015. Micro RNA 103/107 regulate programmed necrosis and myocardial ischemia (reperfusion injury through targeting FADD). *Circ. Res.* 117 : 352—369.
- Wang K., Chang H. 2011. Molecular mechanisms of long non-coding RNAs. *Mol. Cell*. 43 : 904—914.
- Wang X., Arai S., Song X., Reichart D., Du K., Pascual G., Tempst P., Rosenfeld M. G., Glass C. K., Kurokawa R. 2008. Induced ncRNAs allosterically modify RNA-binding proteins in cis to inhibit transcription. *Nature*. 454 : 126—130.
- Wei W., Ba Z., Gao M., Wu Y., Ma Y., Amiard S., White C., Rendtlew Danielsen J. M., Yang Y. G., Qi Y. 2012. A role for small RNAs in DNA-double strand break repair. *Cell*. 149 : 101—112.
- Xu S., Sui S., Zhang J., Bai N., Shi Q., Zhang G., Gao S., You Z., Zhan C., Liu F., Pang D. 2015. Downregulation of long non-coding RNA MALAT1 induces epithelial-to-mesenchymal transition via the P13K-AKT pathway in breast cancer. *Int. J. Clin. Exp. Pathol.* 8 : 4881—4891.
- Yang Z., Zhou L., Wu L. M., Lai M. C., Xie H. Y., Zhang F., Zheng S. S. 2011. Overexpression of long non-coding RNA HOTAIR predicts tumor recurrence in hepatocellular carcinoma patients following liver transplantation. *Ann. Surg. Oncol.* 18 : 1243—1250.
- Zhang H., Cai K., Wang J., Wang X., Cheng K., Shi F., Jiang L., Zhang Y., Dou J. 2014. MiR-7 inhibited indirectly by line RNA HOTAIR, directly inhibited SET DB1 and reverse the EMT of breast cancer stem cells by downregulating the STAT 3 pathway. *Stem Cells*. 32 : 2858—2868.
- Zhang W., Ren S. C., Shi X. L., Liu Y. W., Zhu Y. S., Jing T. L., Wang F. B., Chen R., Xu C. L., Wang H. Q., Wang H. F., Wang Y., Liu B., Li Y. M., Fang Z. Y., Guo F., Lu X., Shen D., Gao X., Hou J. G., Sun Y. H. 2015. A novel urinary non-coding RNA transcript improves diagnostic accuracy in patients undergoing prostate biopsy. *Prostate*. 75 : 653—661.
- Zhang X., Wan G., Berger F., He X., Lu X. 2011. The ATM kinase induces microRNA biogenesis in DNA damage response. *Mol. Cell*. 41 : 371—383.
- Zhou J. 2007. Activation of p53 by MEG3 non-coding RNA. *J. Biol. Chem.* 282 : 24 731—24 742.

Поступила 30 V 2017

## ROLE OF NON-CODING RNA IN HUMAN CELLS AFTER RADIATION EXPOSURE

G. D. Zasukhina,<sup>1,\*</sup> V. F. Mikhailov,<sup>2,\*</sup> L. V. Shulenina,<sup>2</sup> I. M. Vasilyeva<sup>1</sup>

<sup>1</sup> N. I. Vavilov Institute of General Genetics RAS, Moscow, 117971, and

<sup>2</sup> Burnazyan Federal Medical Biophysical Center, Federal Medical-Biological Agency, Moscow, 123098;

\* e-mail: Zasukhina@vigg.ru; vfmi@mail.ru

It is known that only 2 % of human genome transcripts are associated with protein-coding gens whereas the rest part is associated with non-coding sequences. Regulatory non-coding RNA mainly consist from two groups: micro RNA (approximately 20 nucleotides) and long RNA (greater than 200 nucleotides). Some data concerned non-coding RNA expression are given as function of cells genotype peculiarities, tissue characteris-

tics, mutagens influence type (mainly ionizing radiation). Special section is devoted to micro RNA—long RNA—gens interaction to develop different human diseases and possibility as well to use non-coding RNA in diagnostics, disease prognosis, the approach to treatment. Non-coding RNA role in forming cell response to little doses of radiation is observed too. Radiohormesis problem is discussed in particular in adaptive response. Non-coding RNA's use in biology and medicine is estimated.

Key words: non-coding RNA, micro RNA, long RNA, human cells, ionizing radiation.

---