



Світ мікроРНК гепатобіліарної системи

For citation: Zdorov'e Rebenka. 2021;16(1):84-93. doi: 10.22141/2224-0551.16.1.2021.226462

Резюме. У науковому огляді наведений світ мікроРНК гепатобіліарної системи. Для написання статті здійснювався пошук інформації з використанням баз даних Scopus, Web of Science, MedLine, PubMed, Google Scholar, EMBASE, Global Health, The Cochrane Library, CyberLeninka. Було підкреслено, що мікроРНК у клітинах відіграють важливу роль у регуляції активності експресії генів і контролюють численні фізіологічні процеси, такі як обмін речовин, проліферація, диференціювання, апоптоз клітин. Відображена асоціація деяких захворювань зі зміною вмісту мікроРНК у периферійному руслі крові. У статті наведена коротка характеристика групи некодуючих РНК. Надана характеристика основних баз даних мікроРНК із відображенням електронних адрес. Для визначення мікроРНК використовують як традиційні методи, засновані на технології ампліфікації, так і нові методи детекції (секвенування нового покоління, електрохімічне детектування на основі посилення ферментативного сигналу, ідентифікація за допомогою лігування і застосування золотих наночастинок). Автори проводять порівняння різних методів детекції мікроРНК. Зазначено, що надекспресія або інгібування генерації специфічних мікроРНК супроводжуються порушеннями найважливіших функцій печінки і розвитком захворювань гепатобіліарної системи. Продемонстровано, що зміни деяких мікроРНК у сироватці крові або тканині печінки є високодіагностичними маркерами деяких захворювань печінки. Таким чином, ідентифікація зміни рівня презентабельності певних мікроРНК може дати цінну діагностичну інформацію практикуючому лікарю, а вплив на процеси утворення та матурації мікроРНК за допомогою лікарських засобів становить собою новий напрямок терапії широкого спектра захворювань. Особливий інтерес викликає сучасне уявлення про діагностичне значення мікроРНК при захворюваннях біліарного тракту в дітей та можливості медикаментозного управління активністю процесу їх генерації.

Ключові слова: геном; мікроРНК; методи детекції; гепатобіліарна система; огляд

Вступ

Ядерний геном людини містить приблизно 3,2 мільярда пар основ, що організовані в 22 пари соматичних хромосом і в 2 статеві хромосоми. Геном складається приблизно з 20 000 білок-кодуєчих генів, що містять ~ 180 000 екзонів, які утворені приблизно 35 мільйонами пар основ, що становить усього 1,1 % геному [27]. На сьогодні функціональне значення 98,5 % геному залишається невідомим. Ця величезна ділянка геному отримала назву «темна матерія» геному [13].

Переважає більшість генів транскрибується з утворенням РНК, які не беруть участі в трансляції та відомі як некодуючі РНК (нкРНК). Транскрипція геному генерує більше 50 000 нкРНК, у тому числі понад 2000

мікроРНК. РНК становлять собою першу й єдину реплікативну молекулу: вона може реплікуватися, як ДНК, і каталізувати хімічні реакції, як протеїни. Наявність рибози надає молекулі РНК здатність формувати складні третинні структури і специфічно взаємодіяти з білками і іншими молекулами, а також каталізувати хімічні реакції [14]. Таким чином, РНК не тільки несуть з ядра в цитоплазму генетичну інформацію для синтезу протеїнів, а й беруть участь у складній мережі регуляторних молекулярних механізмів життєдіяльності клітини. В останнє десятиліття були надані експериментальні докази того, що нкРНК, до яких належать і мікроРНК (miR), виконують численні функції в життєдіяльності клітини [12].

© 2021. The Authors. This is an open access article under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International License, CC BY, which allows others to freely distribute the published article, with the obligatory reference to the authors of original works and original publication in this journal.

Для кореспонденції: Абатуров Олександр Євгенович, доктор медичних наук, професор, завідувач кафедри педіатрії 1 та медичної генетики, ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», вул. Вернадського, 9, м. Дніпро, 49044, Україна; e-mail: alexabaturov@i.ua

For correspondence: Olexandr Abaturov, MD, PhD, Professor, Head of the Department of pediatrics 1 and medical genetics, State Institution "Dnipropetrovsk Medical Academy of the Ministry of Health of Ukraine", Vernadsky st., 9, Dnipro, 49044, Ukraine; e-mail: alexabaturov@i.ua

Full list of author information is available at the end of the article.

MiR становлять собою малу некодуючу молекулу РНК, що складається з приблизно 18–25 нуклеотидів. МікроРНК як одна з некодуючих молекул РНК була виявлена на початку 1990-х років групою вчених, які виконували дослідження геному нематод *Caenorhabditis elegans* під керівництвом Victor Ambros [22, 23].

У ссавців більше 90 % miR кодуються послідовностями, що локалізуються в інтрони, у той же час у черв'яків і мух тільки 14 % miR кодуються інтронними послідовностями [2].

Передбачається, що в ссавців miR контролюють активність приблизно 30 % всіх білок-кодуючих генів і, як було показано, беруть участь у регуляції майже кожного клітинного процесу [17]. У клітинах miR відіграють важливу роль у регуляції активності експресії генів і контролюють численні фізіологічні процеси, такі як обмін речовин, проліферація, диференціювання, апоптоз клітин [29]. Активність експресії генів miR регулюють шляхом зв'язування з 3'-нетрансльованою ділянкою (UTR) мРНК. Це зв'язування призводить до деградації мРНК і, як наслідок, до пригнічення трансляції протеїну [39]. МікроРНК можуть не тільки пригнічувати, а й посилювати активність трансляції цільових генів [45].

Зміна генерації miR, порушуючи експресію таргетних генів, може зумовити розвиток запальних [36], обмінних, неопластичних й іншого генезу захворювань [33, 47, 50] різних органів і систем людини: серцево-судинної системи [30], респіраторного [12], травного тракту [9], у тому числі біліарної [1, 48, 52] та сечовидільної систем [20]. Незважаючи на те, що в позаклітинному просторі постійно наявні рибонуклеази в концентрації, достатній для здійснення каталітичної

діяльності, молекули miR, перебуваючи в асоціації з білками, ліпідами і ліпопротеїнами, виявляють резистентність до їх нуклеолітичної активності. У 2008 році Patrick S. Mitchell і співавтори [34] продемонстрували, що miR можуть бути виявлені в сироватці крові людини і є високорезистентними до дії РНКаз. Так, miR, асоційовані з протеїнами AGO (argonaute), ідентифікуються в периферичному руслі крові навіть через 2 місяці після лізису клітини [44]. Високий рівень стабільності молекул miR у сироватці крові та інших біологічних рідинах надає їм особливу цінність як діагностичним і прогностичним біомаркерам [49]. Зокрема, показано, що девіації від референтного рівня вмісту конкретних miR є діагностично важливими ознаками деяких захворювань (табл. 1).

Коротка характеристика групи некодуючих РНК

МікроРНК належать до групи нкРНК, що складається з декількох класів, які відокремлені за морфофункціональними критеріями РНК. Некодуючі РНК залежно від довжини розподілені на дві групи: довгі (складаються більше ніж із 200 нуклеотидів) і малі нкРНК (складаються з 18–200 нуклеотидів). У каталог нкРНК (www.encodegenes.org/) на сьогодні внесено 15 512 транскриптів (табл. 2) [16, 41, 42].

Бази даних мікроРНК

МікроРНК — малі некодуючі молекули РНК довжиною у 21–23 нуклеотиди, що регулюють експресію генів на посттранскрипційному рівні шляхом РНК-інтерференції (RNAi) [3, 5, 18, 21, 24]. Первинний репозиторій для послідовностей miR (www.mirbase.org)

Таблиця 1. Асоціація деяких захворювань зі зміною вмісту miR у периферичному руслі крові [19]

Патологічний процес	miR	Концентрація
Артеріальна гіпертензія	let-7e, miR-130a, miR-195	↑
Інфаркт міокарда	miR-1, miR-21, miR-133a, miR-208	↑
Ішемічна хвороба серця	miR-17-5p	↓
Атерогенні й адипогенні процеси	let-7b, miR-143, miR-221	↓
Сімейна гіперхолестеринемія і кардіо-метаболичні порушення	miR-33	↑
Метаболічний синдром	miR-23a, miR-27a, miR-130, miR-195, miR-197, miR-320a, miR-509-5p	↓
Метаболічний синдром у жінок	let-7g, miR-221	↑
Неалкогольна жирова хвороба печінки	miR-122	↑
Ожиріння	miR-17-5p, miR-132	↓
Ожиріння в дитей	miR-122, miR-199a	↑
Помірно огрядні пацієнти	miR-140-5p, miR-142-3p, miR-222	↑
	miR-532-5p, miR-125b, miR-130b, miR-221, miR-15a, miR-423-5p, miR-520c-3p	↓
Ураження печінки і стеатоз печінки	miR-122	↑
Цукровий діабет I типу	miR-375	↓
Цукровий діабет II типу	miR-126	↓

дебютував у 2006 році з опису 218 miR. З того часу за допомогою нових високопродуктивних методів секвенування ідентифіковано майже 30 000 зрілих miR, з яких більше ніж 2500 miR належать людині (miRBase Registry; www.mirbase.org) [6].

Характеристика основних баз даних miR наведена в табл. 3.

Методи детекції мікроРНК

Для визначення miR використовують як традиційні методи, засновані на технології ампліфікації, так і нові методи детекції (секвенування нового покоління, електрохімічне детектування на основі посилення ферментативного сигналу, ідентифікація за допомогою лігування і застосування золотих наночастинок) (табл. 4) [25].

Таблиця 2. Основні класи регуляторних некодуєчих РНК [35]

нкРНК	Повна назва	Довжина (кількість нуклеотидів)	Функції
Довгі нкРНК			
NAT	Натуральні антисмислові транскрипти	> 200	Беруть участь у регуляції експресії генів, редагуванні РНК, трансляції і підтримці стабільності
PALR	Промотор-асоційовані довгі РНК	200–1000	Регулюють експресію генів
PROMPT	Транскрипти, що асоційовані з промотором, розташованим до ініціюючого кодону	200–600	Впливають на метилювання промоторів і регулюють транскрипцію
T-UCR	Регіони, що транскрибовані, ультраконсервативні	> 200	Часто локалізуються у фрагільних сайтах і в геномних регіонах, асоційованих із розвитком раку
Інтронні РНК	Інтронні РНК	> 200	Беруть участь в контролі експресії генів, альтернативному сплайсингу, що генерує короткі регулюючі РНК
eРНК (eR)	Енхансер-асоційовані РНК	> 200	Беруть участь у регуляції функціонування енхансерів
дмнкРНК (lincR)	Довгі міжгенних РНК	> 200	Регулюють експресію генів і активність деяких клітинних процесів
uaРНК (uaR)	3'UTR-асоційовані РНК	< 1000	Функції мало вивчені
циркРНК (circR)	Кругла РНК	100–> 4000	Різноманітні функції від шаблонів для реплікації вірусів до транскрипційних регуляторів
Малі нкРНК			
мякРНК (snoR)	Малі ядерцеві РНК	60–300	Беруть участь у модифікації мРНК, впливаючи на стабільність при взаємодії з протеїнами
мяРНК (snR)	Малі ядерні РНК	150	Сприяють сплайсингу інтронів
мікроРНК (miR)	miR	21–23	Асоціюються з РНК-індукованим сайленсинговим комплексом (RISC) і пригнічують експресію генів-мішеней в основному посттранскрипційно
піРНК (piR)	Piwi-взаємодіючі РНК	25–33	Асоційовані з висококонсервативним протеїном Piwi сімейства білків Argonaute і беруть участь у сайленсингу ретротранспозонів геному клітин зародкової лінії, епігенетичних модифікаціях
паРНК	Промотор-асоційовані РНК	22–200	Функції мало вивчені
TASR	Терміни-асоційовані малі РНК	22–200	Функції мало вивчені
міРНК (siR)	Малі інтерферуючі РНК	21–23	Індукують деградацію повністю комплементарної цільової РНК
тіРНК (tiR)	Які ініціюють транскрипцію РНК	15–30	Функції мало вивчені

Таблиця 3. Бази даних miR [7, 8, 15, 38]

База даних	Електронна адреса	Організм	Коротка характеристика
1	2	3	4
HMDD (The human microRNA disease database)	http://202.38.126.151/hmdd/mirna/md/	<i>H. sapiens</i>	База даних, в якій показані асоціації miR із захворюваннями людини
dPORE-miRNA	http://cbrc.kaust.edu.sa/dpore/	<i>H. sapiens</i>	База даних, яка об'єднує інформацію щодо промоторної ділянки генів miR людини, SNP і передбачених TFBS у ділянках промотора. Основна увага приділяється SNP, які впливають на TFBS або призводять до створення TFBS
MicroCosm	http://www.ebi.ac.uk/enright-srv/microcosm/htdocs/targets/v5/	Різні організми	Вебресурс, розроблений лабораторією Enright в EMBL-EBI, містить відомості про мішені miR, визначені на основі обчислень
MicroPIR2	http://www4a.biotec.or.th/micropir2/	<i>H. sapiens, mouse</i>	База даних щодо miR-мішеней, ядерної/цитоплазматичної локалізації miR, сайтів зв'язування білків Ago
Microrna.org	http://www.microrna.org/microrna/	<i>H. sapiens, M. musculus, R. norvegicus, D. melanogaster, C. elegans</i>	База даних щодо експресії miR експериментальних моделей і прогнозованих мішеней miR
mir2disease	http://www.mir2disease.org/	<i>H. sapiens</i>	Опис асоціацій miR із захворюваннями
miRBase	http://www.mirbase.org	Кілька організмів, включаючи рослини і тварин	База даних щодо послідовностей miR та їх анотації
miRCancer	http://mircancer.ecu.edu/	<i>H. sapiens</i>	База даних щодо miR, асоційованих із раком
miRDB	http://mirdb.org/miRDB/	<i>H. sapiens, M. musculus, R. norvegicus, C. lupus, G. gallus</i>	База даних щодо miR та їх мішеней
miRdSNP	http://mirdsnp.ccr.buffalo.edu/	<i>H. sapiens</i>	База даних SNP у цільових сайтах miR
miRecords	http://mirecords.biolead.org/	<i>H. sapiens, M. musculus, R. norvegicus, C. elegans, D. melanogaster, G. gallus, D. rerio</i>	Вебресурс про взаємодію miR із мішенями
miR-Editar	http://microrna.osumc.edu/mireditar	<i>H. sapiens</i>	База даних про передбачені A-to-I редагування і сайти зв'язування miR
miRGator	http://mirgator.kobic.re.kr/	<i>H. sapiens</i>	Вебджерело про різноманітність й експресії miR на підставі даних глибокого секвенування
miRGen	http://diana.cslab.ece.ntua.gr/mirgen/	Різні організми	База даних щодо геномного місцезнаходження попередників miR і пов'язаних із ними факторів транскрипції
miRNASNP	http://bioinfo.life.hust.edu.cn/miRNASNP2/index.php	Різні організми	База даних щодо варіантів генів miR, анотації розташування, прогнозування взаємодій вторинної структури РНК, прогнозування таргетних сайтів miR
miRNAbodymap	http://www.mirnabodymap.org/	<i>H. sapiens</i>	Вебресурс про експресії RTR-qPCR miR і функціональне значення miR при стані здоров'я і хворобі людини
miRNAmap	http://mirnamap.mbc.nctu.edu.tw/	Ссавці	База даних щодо геномних карт генів miR та їх генів-мішеней ссавців

1	2	3	4
miRNA SNIpe	http://www.integratomicstime.com/miRNA-SNIpe/	Різні організми	База даних щодо варіантів генів miR, анотації розташування
miROrtho	http://cegg.unige.ch/mirortho	Тварини	База даних генів-попередників miR
miRSEL	http://services.bio.ifi.lmu.de/mirsel/	<i>H. sapiens</i> , <i>M. musculus</i> , <i>R. norvegicus</i>	Документальна база даних про асоціації між miR та їх мішеней
miRT	http://www.isical.ac.in/bioinfo_miu/miRT/miRT.php	<i>H. sapiens</i>	База даних щодо при-miR і сайтів початку транскрипції (TSS)
miRVaS	http://mirvas.bioinf.be/		База даних щодо місцезнаходження, програма, призначена для прогнозування взаємодії miR із РНК
miRvar	http://genome.igib.res.in/mirlovd/home.php	<i>H. sapiens</i>	База даних щодо варіантів генів miR, анотації розташування, взаємодії з Dicer і RISC
miRWalk	http://www.umm.uni-heidelberg.de/apps/zmf/mirwalk/	<i>H. sapiens</i> , <i>M. musculus</i> , <i>R. norvegicus</i>	База даних, яка надає інформацію про miR людини, миші і щура
MiRwalk2	http://zmf.umm.uni-heidelberg.de/apps/zmf/mirwalk2/	<i>H. sapiens</i> , <i>M. musculus</i> , <i>R. norvegicus</i>	База даних про взаємодію miR з мішенями. Подані ділянки зв'язування miR у всіх ділянках гена (промотор, 5'UTR, CDS і 3'UTR)
PhenomiR	https://omictools.com/phenomir-tool	<i>H. sapiens</i>	База даних, яка надає інформацію щодо диференційно регульованої експресії miR при різних захворюваннях і біологічних процесах
PITA	http://genie.weizmann.ac.il/pubs/mir07/mir07_data.html	<i>H. sapiens</i> , <i>C. elegans</i> , <i>D. melanogaster</i> , <i>M. musculus</i>	База даних щодо прогнозованих мішеней miR
Plant microRNA database	http://bioinformatics.cau.edu.cn/PMRD/	Рослини	База даних про miR рослин
PolymiRTS Database	http://compbio.uthsc.edu/miRSNP/		База даних щодо seed-ділянки miR і прогнозований вплив на мішені
Starbase	http://starbase.sysu.edu.cn/	<i>H. sapiens</i>	База даних, в якій показані взаємодії miR-lncR, miR-miR, miR-circR, miR-псевдогенів, miR-sncR, протеїнів-lncR, протеїнів-sncR, протеїнів-miR і протеїнів-псевдогенів
TarBase	http://mirtarbase.mbc.nctu.edu.tw/	Деякі організми, включаючи рослини і тварини	База даних щодо експериментально підтверджених мішеней miR
VIRmiRNA	http://crdd.osdd.net/servers/virmirna/	Віруси	База даних щодо вірусних miR

Найбільш ефективним методом детекції miR є методи секвенування нового покоління (next-generation DNA sequencing — NGS). У дослідженнях геному, що використовують методи NGS, ідентифікували раніше не виявлені людські miR, які відрізняються високою тканинною специфічністю [4, 26, 28]. Методи NGS були розроблені у 2010 році. Всеохоплюючим методом NGS є секвенування повної послідовності геному (whole genome sequencing — WGS), який досліджує весь геном пацієнта і дозволяє ідентифікувати варіанти у всіх кодуючих і некодуючих ділянках геному. Другим методом за ступенем повноти дослідження геному є секвенування повного екзому

(whole exome sequencing — WES). Метод WES — це цілеспрямована технологія, що дозволяє досліджувати виключно ділянки, які містять білок-кодуючі гени (85 % мутацій). Також використовують високоцілеспрямований підхід NGS — панель групи таргетних генів (targeted gene panel — TGP) та інші (табл. 5, 6) [10, 31, 37].

miR-транскриптома гепатобілярної системи

Систематичний аналіз розподілу miR показав наявність тканинно- і клітинно-специфічного способу їх експресії. Так, miR-122 становить собою дуже ге-

патоспецифічну miR, представництво якої становить близько 70 % всієї гепатоцитарної miR-транскриптоми в людей. Також високо експресується в гепатоцитах miR-29, у зірчастих клітинах печінки — miR-21, miR-194/192 [46].

Brenda C. Minatel і співавтори [32] ідентифікували 103 miR-кандидати, які раніше не були описані, що специфічно експресуються в тканині печінки, і 723 білок-кодуєчі РНК-мішені для даних miR. Автори показали, що дані мРНК-мішені переважно асоційовані з такими внутрішньоклітинними молекулярними каскадами, як сигнальний шлях рецептора фактора росту фібробластів (fibroblast growth factor receptor — FGFR), сигнальний шлях рецептора епідермального фактора росту (epidermal growth factor receptor — EGFR), протеїну, що зв'язує протеїнтирозинову кіназу TYRO (TYRO protein tyrosine kinase binding protein — TYROBP) і гранулоцитарно-макрофагальний колонієстимулюючий фактор (colony stimulating factor 2 — CSF2/GM-CSF). Сигнальний шлях, що асоційований із FGFR, бере

участь у регенерації тканини печінки, регуляції обміну холестерину і жирних кислот і пов'язаний із розвитком хронічних захворювань печінки і гепатоцелюлярної карциноми (hepatocellular carcinoma — HCC/ГЦК). Сигнальні шляхи, асоційовані з TYROBP і CSF2, контролюють імунну відповідь, регулюють активність запальної реакції, модулюючи матурацію печінкових дендритних клітин.

Надекспресія або інгібування генерації специфічних miR супроводжуються порушеннями найважливіших функцій печінки і розвитком захворювань гепатобілярної системи. Продемонстровано, що зміни деяких miR у сироватці крові або тканині печінки є високодіагностичними маркерами деяких захворювань печінки (табл. 7) [43, 48, 51].

Висновок

Таким чином, ідентифікація зміни рівня презентабельності певних miR може дати цінну діагностичну інформацію практикуючому лікарю, а вплив на про-

Таблиця 4. Порівняння різних методів детекції miR [25]

Метод	Характеристика		
	Чутливість	Специфічність	Пропускна здатність
Традиційні методи			
ПЦР у реальному часі	Висока	Средня	Низька
MiR-мікрочип	Низька	Низька	Висока
Нові методи			
Електрохімічне детектування на основі посилення ферментатного сигналу	Висока	Висока	Низька
Ідентифікації miR за допомогою лігування	Висока	Висока	Низька
Детекція miR із використанням наночастинок золота	Висока	Висока	Висока
Секвенування нового покоління	Висока	Висока	Висока

Таблиця 5. Порівняння методів секвенування повного екзому і повної послідовності геному [40]

Характеристика	Методи секвенування нового покоління		
	WGS	WES	TGP
Субстрат дослідження	Весь геном	2 % геному	300 генів
Вартість дослідження одного зразка (в дол. США)	\$1400–1600	\$800	\$250–500
Обсяг дослідження геному	~ 4 000 000	~ 20 000	Варіабельний: залежить від розміру панелі
Переваги	Дозволяє визначити нові генетичні причини захворювання в кодуєчих і некодуєчих ділянках. Виявляє структурні варіанти Найбільш однорідна глибина дослідження послідовності	Дозволяє визначити нові генетичні причини захворювання в кодуєчих регіонах Більш низька вартість	Настроюваність Мінімальна вартість
Обмеження	Дуже висока вартість дослідження Складність аналізу великого обсягу отриманих результатів	Неможливість виявлення некодуєчих або структурних варіантів	Рестрикція по попередньо обраній групі генів Потрібні панелі генів при виявленні нових мутацій Неможливість виявлення структурних варіантів

Таблиця 6. Порівняння різних платформ і технологій NGS [25]

Платформа	Технології	Обсяг даних, згенерованих за один прогін (ГБ)	Середня довжина прочитання (bp)	Переваги	Недоліки
Генетичний аналізатор Illumina	Синтетичне секвенування	До 900 (Illumina HiSeq X на сьогодні є платформою з найвищою продуктивністю)	До 300	Потрібна невелика кількість зразків, невелика помилка даних, процес простий	Кількість помилок збільшується з довжиною читання
Секвенатор геному Roche454	Паралельне секвенування синтезу пірофосфату	До 0,7	До 1000	Довжина зчитування послідовності є найдовшою при секвенуванні другого покоління, яке в основному використовується для секвенування геному і транскриптому нових видів	Постійне введення гомополімеру призводить до помилок. Відносно високі ціни реагентів
Система SOLiD від AB Life technologies	Секвенування ДНК із паралельними клонами магнітних кульках	До 320	До 75	Найвища точність, підходить для дослідження малих фрагментів РНК	Відносно короткі зчитувальні послідовності
Ion Torrent	Виявлення зміни рН за допомогою іонно-чутливого польового транзистора (ISFET)	До 15	До 600	Включення основ нуклеїнових кислот може бути визначене безпосередньо, синтез ДНК у природних умовах (не потрібні модифіковані підстави)	Покроковий процес елюювання може призвести до накопичення помилок, існують потенційні труднощі при зчитуванні часто повторюваних і гомополістичних послідовностей
Сиквел Pacific Biosciences	Синтетичне секвенування Флуоресценція/оптика	До 7	До 350 000	Висока і середня довжина зчитування, відсутність ампліфікації	ДНК-полімерази не можуть бути ефективно додані в масив для секвенування, низька ймовірність досягнення стандарту, розкладання ДНК-полімерази в масиві
Нанопори PromethION (Beta)	Електричний струм	До 4000	Від сотень до тисяч кілобайт	Не потрібні флуоресцентне маркування або оптичні засоби	Можуть бути неправильно спрямовані відірвані нуклеотиди, складно робити пристрої з декількома паралельними отворами

Таблиця 7. Нозоспецифічні зміни експресії miR [46]

Захворювання	miR	Вміст		Цільові транскрипти
		У сироватці крові	У тканині печінки	
1	2	3	4	5
Автоімунний гепатит	miR-155	↓	↑	Ship1
Неалкогольна жирова хвороба печінки	miR-21	↑	↑	Foxo1, Foxa2, Hnf4a, Stat3, Insig2, HBP1, PTEN, Ppara
	miR-29	?	?	Pgc1a, G6Pase

Закінчення табл. 7

1	2	3	4	5
	miR-122	↑	↑ при стеатозі	DGAT1/Dgat1, AGPAT1/Agpat, Cidec, Ccl2, Klf6
	miR-192	↑	↑ при стеатозі	RICTOR
	miR-223	↑	↑	Cxcl10, Taz, SR-BI, HMGCS1, SC4MOL, SP3
Гостра печінкова недостатність	miR-21	↑	↑	Btg2, Rhob, PDCD4
	miR-223	↑	↑	Ikka
Фіброз печінки	miR-21	?	↑	Smad7, Pdc4, Pten
	miR-29, 29a	↓	↓	Col1a1, Col4a5, Col5a3
	miR-223	↑ або ↓	↑	Nlrp3
Гепатокарцинома	miR-21	↑	↑	PTEN, PDCD4, RECK, ARHGAP24, TIMP3, SPAY1, SPRY2
	miR-29	↑	↓	DNMT3A, MCL-1, BCL2
	miR-122	↑	↓	CCNG1, IGF1R, ADAM10, SRF, WNT1, CUTL1, Cux1, Rhoa, Iqgap1, Mapre1, Nedd4l, Slc25a34, Prom1
	miR-155	?	↑	CEBPb, APC, SMAD1, MYLK
	miR-192	↑	↓	PABPC4, EREG, ALCAM, MSN/Msn, CDH2, RAC1, HBEGF, IGF1R
	miR-194	↑	↓	GYG1, SETD5, SUMO2, CLN4B, RAP2B, FZD6
	miR-223	↑ або ↓	↓	STMN1, Cxcl10, Taz, Serpinb9, Nrxa1, Slc1a4, Slc16a6, Dock11

цеси утворення та матурації miR за допомогою лікарських засобів становить собою новий напрямок терапії широкого спектра захворювань. Особливий інтерес викликає сучасне уявлення про діагностичне значення miR при захворюваннях біліарного тракту в дітей та можливості медикаментозного управління активністю процесу їх генерації.

References

1. Abaturov OE, Babych VL. The role of microRNA in diseases of the biliary system. *Zdorov'e rebenka*. 2017;12(7):155-161. doi:10.22141/2224-0551.12.7.2017.116191. (in Ukrainian).
2. Fedyanin MYu, Ignatova EO, Tyulyandin SA. The role of microRNAs in solid tumors. *Zlokačestvennye opuholi*. 2013;(1):3-14. (in Russian).
3. Ambros V. The functions of animal microRNAs. *Nature*. 2004 Sep 16;431(7006):350-355. doi:10.1038/nature02871.
4. Backes C, Meder B, Hart M, et al. Prioritizing and selecting likely novel miRNAs from NGS data. *Nucleic Acids Res*. 2016 Apr 7;44(6):e53. doi:10.1093/nar/gkv1335.
5. Bartel DP. Metazoan MicroRNAs. *Cell*. 2018 Mar 22;173(1):20-51. doi:10.1016/j.cell.2018.03.006.
6. Bertoli G, Cava C, Castiglioni I. MicroRNAs: New Biomarkers for Diagnosis, Prognosis, Therapy Prediction and Therapeutic Tools for Breast Cancer. *Theranostics*. 2015 Jul 13;5(10):1122-1143. doi:10.7150/thno.11543.
7. Budak H, Bulut R, Kantar M, Alptekin B. MicroRNA nomenclature and the need for a revised naming prescription. *Brief Funct Genomics*. 2016 Jan;15(1):65-71. doi:10.1093/bfpg/elv026.
8. Cammaerts S, Strazisar M, De Rijk P, Del Favero J. Genetic variants in microRNA genes: impact on microRNA expression, function, and disease. *Front Genet*. 2015 May 21;6:186. doi:10.3389/fgene.2015.00186.
9. Cao B, Zhou X, Ma J, et al. Role of MiRNAs in Inflammatory Bowel Disease. *Dig Dis Sci*. 2017 Jun;62(6):1426-1438. doi:10.1007/s10620-017-4567-1.
10. Cao Y, Fanning S, Proos S, Jordan K, Srikumar S. A Review on the Applications of Next Generation Sequencing Technologies as Applied to Food-Related Microbiome Studies. *Front Microbiol*. 2017 Sep 21;8:1829. doi:10.3389/fmicb.2017.01829.
11. Cech TR, Steitz JA. The noncoding RNA revolution—trashing old rules to forge new ones. *Cell*. 2014 Mar 27;157(1):77-94. doi:10.1016/j.cell.2014.03.008.
12. Chen J, Hu C, Pan P. Extracellular Vesicle MicroRNA Transfer in Lung Diseases. *Front Physiol*. 2017 Dec 12;8:1028. doi:10.3389/fphys.2017.01028.
13. Crawford NP. Deciphering the Dark Matter of Complex Genetic Inheritance. *Cell Syst*. 2016 Mar 23;2(3):144-146. doi:10.1016/j.cels.2016.03.003.
14. Delilhas N. Discovery and characterization of the first non-coding RNA that regulates gene expression, micF RNA: A historical per-

- spective. *World J Biol Chem.* 2015 Nov 26;6(4):272-280. doi:10.4331/wjbc.v6.i4.272.
15. Dweep H, Gretz N. miRWalk2.0: a comprehensive atlas of microRNA-target interactions. *Nat Methods.* 2015 Aug;12(8):697. doi:10.1038/nmeth.3485.
 16. ENCODE Project Consortium. An integrated encyclopedia of DNA elements in the human genome. *Nature.* 2012 Sep 6;489(7414):57-74. doi:10.1038/nature11247.
 17. Filipowicz W, Bhattacharyya SN, Sonenberg N. Mechanisms of post-transcriptional regulation by microRNAs: are the answers in sight? *Nat Rev Genet.* 2008 Feb;9(2):102-14. doi:10.1038/nrg2290.
 18. Finch ML, Marquardt JU, Yeoh GC, Callus BA. Regulation of microRNAs and their role in liver development, regeneration and disease. *Int J Biochem Cell Biol.* 2014 Sep;54:288-303. doi:10.1016/j.biocel.2014.04.002.
 19. Iacomino G, Siani A. Role of microRNAs in obesity and obesity-related diseases. *Genes Nutr.* 2017 Sep 25;12:23. doi:10.1186/s12263-017-0577-z.
 20. Ichii O, Horino T. MicroRNAs associated with the development of kidney diseases in humans and animals. *J Toxicol Pathol.* 2018 Jan;31(1):23-34. doi:10.1293/tox.2017-0051.
 21. Jeon TI, Osborne TF. miRNA and cholesterol homeostasis. *Biochim Biophys Acta.* 2016 Dec;1861(12 Pt B):2041-2046. doi:10.1016/j.bbali.2016.01.005.
 22. Lee R, Feinbaum R, Ambros V. A short history of a short RNA. *Cell.* 2004 Jan 23;116(2 Suppl):S89-92, 1 p following S96. doi:10.1016/s0092-8674(04)00035-2.
 23. Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V. The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*. *Cell.* 1993 Dec 3;75(5):843-854. doi:10.1016/0092-8674(93)90529-y.
 24. Letelier P, Riquelme I, Hernández AH, Guzmán N, Fariás JG, Roa JC. Circulating MicroRNAs as Biomarkers in Biliary Tract Cancers. *Int J Mol Sci.* 2016 May 23;17(5):791. doi:10.3390/ijms17050791.
 25. Liu K, Tong H, Li T, Wang X, Chen Y. Research progress in molecular biology related quantitative methods of MicroRNA. *Am J Transl Res.* 2020 Jul 15;12(7):3198-3211.
 26. Londin E, Loher P, Telonis AG, et al. Analysis of 13 cell types reveals evidence for the expression of numerous novel primate- and tissue-specific microRNAs. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2015 Mar 10;112(10):E1106-1115. doi:10.1073/pnas.1420955112.
 27. Marian AJ, van Rooij E, Roberts R. Genetics and Genomics of Single-Gene Cardiovascular Diseases: Common Hereditary Cardiomyopathies as Prototypes of Single-Gene Disorders. *J Am Coll Cardiol.* 2016 Dec 27;68(25):2831-2849. doi:10.1016/j.jacc.2016.09.968.
 28. McCall MN, Kim MS, Adil M, et al. Toward the human cellular microRNAome. *Genome Res.* 2017 Oct;27(10):1769-1781. doi:10.1101/gr.222067.117.
 29. McGeary SE, Lin KS, Shi CY, et al. The biochemical basis of microRNA targeting efficacy. *Science.* 2019 Dec 20;366(6472):eaav1741. doi:10.1126/science.aav1741.
 30. Mellis D, Caporali A. MicroRNA-based therapeutics in cardiovascular disease: screening and delivery to the target. *Biochem Soc Trans.* 2018 Feb 19;46(1):11-21. doi:10.1042/BST20170037.
 31. Meyts I, Bosch B, Bolze A, et al. Exome and genome sequencing for inborn errors of immunity. *J Allergy Clin Immunol.* 2016 Oct;138(4):957-969. doi:10.1016/j.jaci.2016.08.003.
 32. Minatel BC, Martinez VD, Ng KW, et al. Large-scale discovery of previously undetected microRNAs specific to human liver. *Hum Genomics.* 2018 Mar 27;12(1):16. doi:10.1186/s40246-018-0148-4.
 33. Mingardi J, Musazzi L, De Petro G, Barbon A. miRNA Editing: New Insights into the Fast Control of Gene Expression in Health and Disease. *Mol Neurobiol.* 2018 Oct;55(10):7717-7727. doi:10.1007/s12035-018-0951-x.
 34. Mitchell PS, Parkin RK, Kroh EM, et al. Circulating microRNAs as stable blood-based markers for cancer detection. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2008 Jul 29;105(30):10513-10518. doi:10.1073/pnas.0804549105.
 35. Panzeri I, Rossetti G, Abrignani S, Pagani M. Long Intergenic Non-Coding RNAs: Novel Drivers of Human Lymphocyte Differentiation. *Front Immunol.* 2015 Apr 15;6:175. doi:10.3389/fimmu.2015.00175.
 36. Papanagnou P, Stivarou T, Tsironi M. The Role of miRNAs in Common Inflammatory Arthropathies: Osteoarthritis and Gouty Arthritis. *Biomolecules.* 2016 Nov 11;6(4):44. doi:10.3390/biom6040044.
 37. Picard C, Fischer A. Contribution of high-throughput DNA sequencing to the study of primary immunodeficiencies. *Eur J Immunol.* 2014 Oct;44(10):2854-2861. doi:10.1002/eji.201444669.
 38. Piriyaopongsa J, Bootchai C, Ngamphiw C, Tongsimma S. microPIR2: a comprehensive database for human-mouse comparative study of microRNA-promoter interactions. *Database (Oxford).* 2014 Nov 25;2014:bau115. doi:10.1093/database/bau115.
 39. Ramassone A, Pagotto S, Veronese A, Visone R. Epigenetics and MicroRNAs in Cancer. *Int J Mol Sci.* 2018 Feb 3;19(2):459. doi:10.3390/ijms19020459.
 40. Seleman M, Hoyos-Bachiloglou R, Geha RS, Chou J. Uses of Next-Generation Sequencing Technologies for the Diagnosis of Primary Immunodeficiencies. *Front Immunol.* 2017 Jul 24;8:847. doi:10.3389/fimmu.2017.00847.
 41. Siggens L, Ekwall K. Epigenetics, chromatin and genome organization: recent advances from the ENCODE project. *J Intern Med.* 2014 Sep;276(3):201-214. doi:10.1111/joim.12231.
 42. Signal B, Gloss BS, Dinger ME. Computational Approaches for Functional Prediction and Characterisation of Long Noncoding RNAs. *Trends Genet.* 2016 Oct;32(10):620-637. doi:10.1016/j.tig.2016.08.004.
 43. Takata A, Otsuka M, Yoshikawa T, Kishikawa T, Ohno M, Koike K. MicroRNAs and liver function. *Minerva Gastroenterol Dietol.* 2013 Jun;59(2):187-203.
 44. Turchinovich A, Weiz L, Langheinz A, Burwinkel B. Characterization of extracellular circulating microRNA. *Nucleic Acids Res.* 2011 Sep 1;39(16):7223-7233. doi:10.1093/nar/gkr254.
 45. Valinezhad Orang A, Safaralizadeh R, Kazemzadeh-Bavili M. Mechanisms of miRNA-Mediated Gene Regulation from Common Downregulation to mRNA-Specific Upregulation. *Int J Genomics.* 2014;2014:970607. doi:10.1155/2014/970607.
 46. Wang X, He Y, Mackowiak B, Gao B. MicroRNAs as regulators, biomarkers and therapeutic targets in liver diseases. *Gut.* 2020 Oct 30;gutjnl-2020-322526. doi:10.1136/gutjnl-2020-322526.
 47. Wang Y, Xu D, Wang B, Hou X. Could MicroRNAs be Regulators of Gout Pathogenesis? *Cell Physiol Biochem.* 2015;36(6):2085-2092. doi:10.1159/000430176.
 48. Wasik U, Kempinska-Podhorodecka A, Bogdanos DP, Milkiewicz P, Milkiewicz M. Enhanced expression of miR-21 and miR-150 is a feature of anti-mitochondrial antibody-negative primary biliary cholangitis. *Mol Med.* 2020 Jan 16;26(1):8. doi:10.1186/s10020-019-0130-1.
 49. Weber JA, Baxter DH, Zhang S, et al. The microRNA spectrum in 12 body fluids. *Clin Chem.* 2010 Nov;56(11):1733-1741. doi:10.1373/clinchem.2010.147405.

50. Willeit P, Skroblin P, Kiechl S, Fernández-Hernando C, Mayr M. Liver microRNAs: potential mediators and biomarkers for metabolic and cardiovascular disease? *Eur Heart J*. 2016 Nov 14;37(43):3260-3266. doi:10.1093/eurheartj/ehw146.

51. Yin X, Chai Z, Sun X, et al. Overexpression of microRNA-96 is associated with poor prognosis and promotes proliferation, migration and invasion in cholangiocarcinoma cells via MTSS1. *Exp Ther Med*. 2020 Apr;19(4):2757-2765. doi:10.3892/etm.2020.8502.

52. Zhang T, Yang Z, Kusumanchi P, Han S, Liangpunsakul S. Critical Role of microRNA-21 in the Pathogenesis of Liver Diseases. *Front Med (Lausanne)*. 2020 Jan 31;7:7. doi:10.3389/fmed.2020.00007.

Отримано/Received 06.12.2020

Рецензовано/Revised 20.12.2020

Прийнято до друку/Accepted 26.12.2020 ■

Information about authors

A.E. Abatur, MD, PhD, Professor, Head of the Department of pediatrics 1 and medical genetics, State Institution "Dnipropetrovsk Medical Academy of the Ministry of Health of Ukraine", Dnipro, Ukraine; <http://orcid.org/0000-0001-6291-5386>.

V.L. Babych, PhD, Assistant at the Department of pediatrics 1 and medical genetics, State Institution "Dnipropetrovsk Medical Academy of the Ministry of Health of Ukraine", Dnipro, Ukraine; <https://orcid.org/0000-0001-9261-9051>.

A.E. Abatur, V.L. Babych

State Institution "Dnipropetrovsk Medical Academy of the Ministry of Health of Ukraine", Dnipro, Ukraine

The world of microRNAs of the hepatobiliary system

Abstract. The scientific review presents the significance of the world of microRNAs of the hepatobiliary system. For writing the article, information was searched using Scopus, Web of Science, MedLine, PubMed, Google Scholar, EMBASE, Global Health, The Cochrane Library, CyberLeninka databases. It is emphasized that microRNAs in cells play an important role in regulating the activity of gene expression and control numerous physiological processes, such as metabolism, proliferation, differentiation, apoptosis of cells. The association of some diseases with changes in the content of microRNAs in the peripheral bloodstream is shown. The article presents a brief description of the group of non-coding RNAs. The characteristic of the basic microRNA databases with display of electronic addresses is given. Both traditional methods based on amplification technology and new detection methods (next-generation sequencing, electrochemical detection based on enzyme signal amplification, identification by ligation and application of gold nanoparticles) are used to

determine microRNAs. The authors compare different methods of microRNA detection. It is noted that overexpression or inhibition of the generation of specific microRNAs is accompanied by impaired liver function and the development of diseases of the hepatobiliary system. Changes in some microRNAs in serum or liver tissue have been shown to be highly diagnostic markers of some liver diseases. Thus, the identification of changes in the level of representativeness of certain microRNAs may have valuable diagnostic information to the practitioner, and the impact on the processes of formation and maturation of microRNAs by drugs is a new direction in the treatment of a wide range of diseases. The modern idea of the diagnostic value of microRNAs in diseases of the biliary tract in children and the possibilities of drug management of the activity of the process of their generation are of particular interest.

Keywords: genome; microRNA; detection methods; hepatobiliary system; review

Абатур А.Е., Бабич В.Л.

ГУ «Днепропетровская медицинская академия Министерства здравоохранения Украины», г. Днепр, Украина

Мир микроРНК гепатобилиарной системы

Резюме. В научном обзоре представлен мир микроРНК гепатобилиарной системы. Для написания статьи осуществлялся поиск информации с использованием баз данных Scopus, Web of Science, MedLine, PubMed, Google Scholar, EMBASE, Global Health, The Cochrane Library, CyberLeninka. Было подчеркнуто, что микроРНК в клетках играют важную роль в регуляции активности экспрессии генов и контролируют многочисленные физиологические процессы, такие как обмен веществ, пролиферация, дифференцировка, апоптоз клеток. Отражена ассоциация некоторых заболеваний с изменением содержания микроРНК в периферическом русле крови. В статье представлена краткая характеристика группы некодирующих РНК. Дана характеристика основных баз данных микроРНК с отображением электронных адресов. Для определения микроРНК используют как традиционные методы, основанные на технологии амплификации, так и новые методы детекции (секвенирование нового поколения, электрохимическое детектирование на основе усиления ферментативного сигнала, идентификация с помощью лигирования и применения золотых наночастиц). Авторы про-

водят сравнения различных методов детекции микроРНК. Отмечено, что надэкспрессия или ингибирование генерации специфических микроРНК сопровождаются нарушениями важнейших функций печени и развитием заболеваний пищеварительной системы. Продемонстрировано, что изменения некоторых микроРНК в сыворотке крови или ткани печени являются высокодиагностическими маркерами некоторых заболеваний печени. Таким образом, идентификация изменения уровня представительности определенных микроРНК может дать ценную диагностическую информацию практикующему врачу, а влияние на процессы образования и матурации микроРНК при помощи лекарственных средств представляет собой новое направление терапии широкого спектра заболеваний. Особый интерес вызывает современное представление о диагностическом значении микроРНК при заболеваниях билиарного тракта у детей и возможностях медикаментозного управления активностью процесса их генерации.

Ключевые слова: геном; микроРНК; методы детекции; гепатобилиарная система; обзор