

АНАЛИЗ СВЯЗИ УРОВНЯ МЕТИЛИРОВАНИЯ ГЕНОВ *MIR10B* И *MIR21* В ЛЕЙКОЦИТАХ КРОВИ С КЛИНИЧЕСКИ ВЫРАЖЕННЫМ АТЕРОСКЛЕРОЗОМ СОННЫХ АРТЕРИЙ

Ю. А. Королева^{1*}, А. А. Зарубин^{1,2}, А. В. Марков¹, А. Н. Казанцев³, О. Л. Барбараш³, М. С. Назаренко^{1,2,3}

¹ Научно-исследовательский институт медицинской генетики, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, 634050, Российская Федерация, Томск, ул. Набережная р. Ушайки, 10

² Сибирский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации, 634050, Российская Федерация, Томск, Московский тракт, 2

³ Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний, 650000, Российская Федерация, Кемерово, Сосновый б-р, 6

Осложнения атеросклероза остаются ведущей причиной заболеваемости и смертности в мире. Во все процессы патогенеза вовлечены микро-РНК — короткие регуляторные молекулы, экспрессия которых регулируется метилированием ДНК. Известно, что метилирование и/или экспрессия генов *MIR10B* и *MIR21* варьируют в клетках пораженных атеросклерозом тканей артерий, но данные об изменении уровня метилирования этих генов в лейкоцитах крови и его связи с факторами риска атеросклероза отсутствуют.

Цель работы: оценить связь уровня метилирования в генах *MIR10B* и *MIR21* в лейкоцитах крови с факторами риска и патогенетически значимыми признаками атеросклероза сонных артерий.

Материал и методы. ДНК для исследования выделена из лейкоцитов крови 122 больных клинически выраженным атеросклерозом сонных артерий, а также лейкоцитов крови 135 индивидов контрольной группы. Уровень метилирования ДНК проанализирован методом бисульфитного пиросеквенирования.

Результаты и обсуждение. В лейкоцитах больных атеросклерозом уровень метилирования генов *MIR10B* и *MIR21* выше, чем в лейкоцитах контрольной группы. У пациентов с атеросклерозом сонных артерий в лейкоцитах выявлена связь уровня метилирования промотора гена *MIR21* с сахарным диабетом 2-го типа и уровнем холестерина в сыворотке, а кодирующего региона гена *MIR10B* — с курением.

Выводы. Уровень метилирования ДНК в области генов *MIR10B* и *MIR21* в лейкоцитах крови ассоциирован с риском развития клинически выраженного атеросклероза сонных артерий.

Ключевые слова: *MIR10B*, *MIR21*, атеросклероз, метилирование ДНК, микро-РНК

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов

Прозрачность финансовой деятельности: исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 16-15-10150)

Для цитирования: Королева Ю. А., Зарубин А. А., Марков А. В., Казанцев А. Н., Барбараш О. Л., Назаренко М. С. Анализ связи уровня метилирования генов *MIR10B* и *MIR21* в лейкоцитах крови с клинически выраженным атеросклерозом сонных артерий. Сибирский медицинский журнал. 2018; 33(2): 77–82. <https://doi.org/10.29001/2073-8552-2018-33-2-77-82>

ANALYSIS OF THE ASSOCIATION OF THE METHYLATION LEVELS OF *MIR10B* AND *MIR21* GENES IN BLOOD LEUKOCYTES WITH ADVANCED CAROTID ATHEROSCLEROSIS

Iu. A. Koroleva^{1*}, A. A. Zarubin^{1,2}, A. V. Markov¹, A. N. Kazancev³, O. L. Barbarash³, M. S. Nazarenko^{1,2,3}

¹ Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, 10, Nab. Ushaiki str., Tomsk, 634050, Russian Federation

² Siberian State Medical University, 2, Moskovsky tract, Tomsk, 634050, Russian Federation

³ Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases, 6, Sosnoviy bulv., Kemerovo, 650000, Russian Federation

Complications of atherosclerosis remain the leading cause of morbidity and mortality worldwide. MiRNAs are short regulatory molecules that are involved in all processes of pathogenesis. Expression of miRNAs is regulated by DNA methylation. Methylation and/or expression of *MIR10B* and *MIR21* genes are known to vary in atherosclerotic tissues of the arteries, but there is no data about the changes in the methylation levels of these genes in blood leukocytes and their association with atherosclerosis risk factors.

Objective. To evaluate the association of methylation levels of *MIR10B* and *MIR21* genes in the blood leukocytes with risk factors and pathogenetically significant traits of carotid atherosclerosis.

Material and Methods. DNA for the study was extracted from the samples of blood leukocytes of 122 patients with advanced carotid atherosclerosis as well as from blood leukocytes of 135 individuals in the control group. The DNA methylation level was analyzed by bisulfite pyrosequencing.

Results. The methylation level of the *MIR10B* and *MIR21* genes in leukocytes of patients with atherosclerosis is higher than in the leukocytes of the control group. In leukocytes of patients with carotid atherosclerosis the methylation level of the *MIR21* gene promoter was correlated with type 2 diabetes and serum cholesterol level, and the methylation level of the coding region of the *MIR10B* gene was correlated with smoking.

Conclusions. The level of DNA methylation in the regions of *MIR10B* and *MIR21* genes in blood leukocytes is associated with the risk of advanced atherosclerosis of the carotid arteries.

Keywords: *MIR10B*, *MIR21*, atherosclerosis, methylation DNA, miRNA

Conflict of interest: the authors do not declare a conflict of interest

Financial disclosure: the study was supported by the Russian Science Foundation (№ 14-15-00305)

For citation: Koroleva Iu. A., Zarubin A. A., Markov A. V., Kazancev A. N., Barbarash O. L., Nazarenko M. S. Analysis of the Association of the Methylation Levels of *MIR10B* and *MIR21* Genes in Blood Leukocytes with Advanced Carotid Atherosclerosis. Siberian Medical Journal. 2018; 33(2): 77–82. <https://doi.org/10.29001/2073-8552-2018-33-2-77-82>

Введение

Атеросклеротическое поражение сосудов является одной из основных проблем современного здравоохранения, поскольку может приводить к таким серьезным осложнениям, как ишемическая болезнь сердца и ишемический инсульт, которые в течение последних 15 лет остаются ведущей причиной заболеваемости и смертности в мире. Чаще всего атеросклероз поражает определенные участки сосудистого русла — коронарные и сонные артерии. Во все процессы и стадии атеросклеротического поражения — от ранней дисфункции эндотелия до механизмов, приводящих к эрозии и разрыву атеросклеротической бляшки, — вовлечены такие биомолекулы, как микро-РНК [1–6].

Микро-РНК представляют собой некодирующие одноцепочечные РНК длиной около 22 нуклеотидов [7]. Их экспрессия тканеспецифична и может отличаться в норме и при патологии, что подтверждается многочисленными экспериментальными исследованиями [3, 8]. В тканях человека обнаружено более 2500 микро-РНК, которые потенциально участвуют в регуляции до 60% белок-кодирующих генов [5, 9–11]. В свою очередь, экспрессия генов микро-РНК (обозначаются как *MIR*) также подвергается регуляции, в том числе с помощью такого механизма, как метилирование ДНК. В ходе этого процесса метильная группа присоединяется к цитозину, связанному фосфодиэфирной связью с гуанином. Такие динуклеотиды называют CpG-сайтами [8, 12]. Как правило, избыточное метилирование (гиперметилирование) CpG-сайтов в области гена (преимущественно в промоторном регионе) подавляет транскрипцию и, следовательно, ингибирует экспрессию этого гена, а деметилирование (гипометилирование) способствует усиленной транскрипции [8, 10, 13].

Нарушение уровня метилирования генов часто выявляется при злокачественных новообразованиях, поэтому

метилирование генов микро-РНК активно изучается при данных патологических состояниях [8, 10, 11, 14–16], в то время как исследования микро-РНК при атеросклерозе преимущественно посвящены анализу их экспрессии [17–19]. Так, согласно литературным данным, в клетках артерий, пораженных атеросклерозом, значительно усиливается экспрессия *MIR21* [19].

Исследование уровня метилирования гена *MIR10B* проводилось в лаборатории популяционной генетики НИИ медицинской генетики ТНИМЦ. Показано, что метилирование *MIR10B* значительно отличается в клетках сосудов, пораженных атеросклерозом, по сравнению с клетками непораженных сосудов [20]. Однако не проводились исследования и отсутствуют литературные данные об уровне метилирования данных генов в лейкоцитах крови пациентов с клинически выраженным атеросклерозом сонных артерий по сравнению с лейкоцитами крови относительно здоровых индивидов. Также отсутствуют литературные данные о связи уровня метилирования генов *MIR10B* и *MIR21* с факторами риска и признаками атеросклеротического поражения сосудов. Проведение такого анализа представляет значительный исследовательский интерес.

Цель работы: оценить связь уровня метилирования в промоторном и кодирующем регионах гена *MIR10B* и предполагаемом промоторном регионе *MIR21* в лейкоцитах периферической крови с факторами риска и патогенетически значимыми признаками клинически выраженного атеросклероза сонных артерий.

Материал и методы

Выборка больных с клинически выраженным атеросклерозом сонных артерий составила 122 пациента в возрасте от 40 до 83 лет (в среднем 64 года), из них 107 мужчин и 15 женщин. У всех пациентов обнаружен стеноз сонной артерии >70%, в связи с чем им была про-

ведена операция каротидная эндартерэктомия. Также у всех пациентов наблюдалась артериальная гипертензия. Гиперхолестеринемия обнаружена у 91 пациента (74,6%), сахарный диабет 2-го типа выявлен у 36 (29,5%) больных. Факт курения в анамнезе отмечался у 93 (76,23%) пациентов. Острое нарушение мозгового кровообращения в анамнезе выявлено у 55 (45%) пациентов. В данной группе образцы периферической крови были взяты до оперативного вмешательства.

В контрольную группу вошли 135 относительно здоровых индивидов в возрасте от 38 до 84 лет (в среднем 63 года), из них 103 мужчины и 32 женщины. У всех индивидов при ультразвуковом исследовании сонных артерий не было выявлено гемодинамически значимых атеросклеротических бляшек (толщина КИМ справа — $0,84 \pm 0,20$ мм и слева — $0,88 \pm 0,23$ мм); стеноз правой и/или левой сонной артерии не превышал 40%.

Данное исследование одобрено этическим комитетом, и от всех участников получено письменное информированное согласие. Биологический материал хранился при температуре -80°C до проведения молекулярного анализа.

Молекулярно-генетические методы исследования включали выделение ДНК из лейкоцитов периферической венозной крови, бисульфитную модификацию ДНК, полимеразную цепную реакцию на участки генов *MIR10B* и *MIR21* и пиросеквенирование этих участков с определением уровня метилирования расположенных в них CpG-сайтов. Выделение ДНК проводилось с использованием стандартного фенол-хлороформного метода с ее последующей бисульфитной конверсией с помощью набора EZ DNA Methylation™ Kit (Zymo Research).

Последовательность праймеров для анализа уровня метилирования отдельных CpG-сайтов в области промотора *MIR10B* взята из публикации Kim Y. S. и соавт. [14], а в области промотора *MIR21* — Adams A. T. и соавт. [15]. Праймеры на кодирующий регион гена *MIR10B* были подобраны в более ранних исследованиях лаборатории популяционной генетики НИИ медицинской генетики ТНИМЦ [12, 20].

Уровень метилирования ДНК проанализирован методом пиросеквенирования на приборе PyroMark Q24 (Qiagen) для 4 CpG-сайтов, принадлежащих промоторному региону гена *MIR10B*, 4 CpG-сайтов, принадлежащих кодирующей области гена *MIR10B* и 3 CpG-сайтов, относящихся к промоторному региону гена *MIR21*. Координаты CpG-сайтов приведены для сборки генома GRCh37/hg19. Для каждого образца получены количественные данные об уровне метилирования каждого изучаемого CpG-сайта. Метилирование выражается в процентах, где 0% указывает на наличие только неметилированных аллелей, а 100% — на полное метилирование всех CpG-сайтов в данном положении.

Статистический анализ данных, полученных как для каждого CpG-сайта в отдельности, так и регионов в целом, проводился в свободно распространяемом программном обеспечении PSPP. В этой же программе осуществлялся

анализ ассоциации уровня метилирования генов *MIR10B* и *MIR21* со всеми факторами риска и признаками, относящимися к клинической информации о пациентах. Сравнение уровней метилирования CpG-сайтов между группами выполнено с использованием критерия Манна — Уитни. Для изучения корреляции между измеряемыми величинами использовался непараметрический тест ранговой корреляции Спирмена. Контроль ложноположительных результатов (FDR) при множественном тестировании статистических гипотез был проведен по методу Бенджамини — Хохберга с использованием поправки к полученным значениям p на уровне значимости 0,05.

Результаты и обсуждение

В результате проведенного исследования выявлено, что уровень метилирования обоих проанализированных регионов гена *MIR10B* (как отдельных CpG-сайтов, так и регионов в целом) в лейкоцитах больных атеросклерозом на 2–4% выше ($p < 0,05$), чем в лейкоцитах индивидов контрольной группы (табл. 1).

Таблица 1

Уровень метилирования CpG-сайтов исследованных регионов генов *MIR10B* и *MIR21* (Q2 [Q1;Q3]; %)

Анализируемые CpG-сайты (локализация по GRCh37/hg19)	Уровень метилирования CpG-сайтов в лейкоцитах		Уровень значимости p
	больных атеросклерозом	контрольной группы	
chr2:177014950	27 [24;33]	24 [20;30]	0,012
chr2:177014960	22 [17;26]	19 [15;21]	0,001
chr2:177014963	24 [21;29]	22 [20;25]	0,002
chr2:177014967	20 [16;25]	17 [15;21]	0,010
Промоторный регион <i>MIR10B</i> в целом	24 [20;27]	20 [18;24]	<0,001
chr2:177015044	12 [10;17]	14 [13;15]	0,282
chr2:177015070	17 [13;20]	16 [15;17]	0,014
chr2:177015088	33 [27;38]	31 [30;33]	0,001
chr2:177015104	17 [14;22]	20 [17;21]	0,384
Кодирующая область <i>MIR10B</i> в целом	21 [16;25]	20 [17;21]	0,023
chr17:57915717	34 [28;40]	31 [27;37]	0,023
chr17:57915741	19 [16;22]	18 [16;21]	0,707
chr17:57915774	36 [27;41]	37 [25;43]	0,523
Промоторный регион <i>MIR21</i> в целом	29 [25;34]	29 [23;32]	0,054

Примечание: курсивом выделен уровень значимости $p < 0,05$, полужирным — $p < 0,01$, полужирным курсивом — $p < 0,001$.

Уровень метилирования CpG-сайта гена *MIR21*, расположенного в регионе chr17:57915717, в лейкоцитах крови пациентов с атеросклерозом сонных артерий также оказался выше, чем у здоровых индивидов ($p < 0,05$) (табл. 1). Сравнение уровней метилирования других CpG-сайтов промоторного региона гена *MIR21* не показало

статистически значимых отличий между лейкоцитами больных атеросклерозом и здоровых индивидов.

При сравнении уровня метилирования изучаемых генов у пациентов с атеросклерозом в зависимости от наличия сахарного диабета 2-го типа (СД2) средний уровень метилирования анализируемого CpG-сайта гена *MIR21* (chr17:57915717) в лейкоцитах при СД2 оказался на 3,75% выше, чем у пациентов с атеросклерозом, но без данного заболевания (35,00 против 31,25%; $p < 0,05$).

В лейкоцитах больных атеросклерозом сонных артерий уровни метилирования всех CpG-сайтов промотора *MIR21* показали отрицательную статистически значимую корреляцию с уровнем общего холестерина в сыворотке крови. Для отдельных CpG-сайтов гена *MIR10B* и его кодирующего региона в целом была показана слабая положительная корреляция с курением (табл. 2). Значимых ассоциаций уровня метилирования CpG-сайтов генов *MIR10B* и *MIR21* с другими показателями (как количественными, так и качественными) атеросклеротического поражения сонных артерий не установлено.

Таблица 2

Корреляции уровней метилирования CpG-сайтов исследованных регионов генов *MIR10B* и *MIR21* с показателями атеросклероза (приведены только значимые корреляции)

Анализируемые CpG-сайты (локализация по GRCh37/hg19)	Коэффициент корреляции Спирмена r	Уровень значимости p
Курение		
chr2:177014960	0,213	0,029
chr2:177015088	0,283	0,005
Кодирующая область <i>MIR10B</i> в целом	0,211	0,038
Уровень холестерина в сыворотке крови		
chr17:57915717	-0,359	<0,001
chr17:57915741	-0,303	0,003
chr17:57915774	-0,338	0,001
Промоторный регион <i>MIR21</i> в целом	-0,361	<0,001

Примечание: курсивом выделен уровень значимости $p < 0,05$, полужирным — $p < 0,01$, полужирным курсивом — $p < 0,001$.

Поскольку метилирование ДНК является относительно стабильной модификацией, а оценка его уровня возможна при помощи нескольких доступных технологий, это позволяет говорить о перспективности использования уровня метилирования генов в качестве диагностического и прогностического биомаркера. Данные, полученные в описанном исследовании, могут предоставить информацию для исследований в направлении выявления новых биомаркеров атеросклеротического поражения сосудов и разработки диагностических панелей. Тем не менее для решения подобной масштабной задачи требуется продолжение фундаментальных исследований, посвященных анализу связи регуляции экспрессии (в том числе посредством метилирования) генов микро-

РНК с факторами риска и патогенетически значимыми признаками атеросклероза.

Выводы

Уровень метилирования ДНК в области генов *MIR10B* и *MIR21* в лейкоцитах крови ассоциирован с риском развития клинически выраженного атеросклероза сонных артерий. У пациентов с атеросклерозом сонных артерий в лейкоцитах выявлена связь уровня метилирования промотора гена *MIR21* с сахарным диабетом 2-го типа и уровнем холестерина в сыворотке, а кодирующего региона гена *MIR10B* — с курением.

Литература

- Madrigal-Matute J., Rotllan N., Aranda J. F., Fernández-Hernando C. MicroRNAs and atherosclerosis. *Curr. Atheroscler. Rep.* 2013; 15(5): 322–335. DOI: 10.1007/s11883-013-0322-z.
- Kumar S., Kim C. W., Simmons R. D., Jo H. Role of flow-sensitive microRNAs in endothelial dysfunction and atherosclerosis: mechanosensitive athero-miRs. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2014; 34: 2206–2216. DOI: 10.1161/ATVBAHA.114.303425.
- Andreou I., Sun X., Stone P. H., Edelman E. R., Feinberg M. W. miRNAs in atherosclerotic plaque initiation, progression, and rupture. *Trends Mol. Med.* 2015; 21: 307–318. DOI: 10.1016/j.molmed.2015.02.003.
- Volný O., Kašičková L., Coufalová D., Cimřlová P., Novák J. MicroRNAs in Cerebrovascular Disease. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2015; 888: 155–195. DOI: 10.1007/978-3-319-22671-2_9.
- Feinberg M. W., Moore K. J. MicroRNA Regulation of Atherosclerosis. *Circ. Res.* 2016; 118(4): 703–720. DOI: 10.1161/CIRCRESA.115.306300.
- Santovito D., Egea V., Weber C. Small but smart: MicroRNAs orchestrate atherosclerosis development and progression. *Biochim. Biophys. Acta.* 2016; 1861(12 Pt B): 2075–2086. DOI: 10.1016/j.bbali.2015.12.013.
- Fang Z., Du R., Edwards A., Flemington E. K., Zhang K. The sequence structures of human microRNA molecules and their implications. *PLoS One.* 2013; 8(1): e54215. DOI: 10.1371/journal.pone.0054215.
- Piletić K., Kunej T. MicroRNA epigenetic signatures in human disease. *Arch. Toxicol.* 2016; 90(10): 2405–2419. DOI: 10.1007/s00204-016-1815-7.
- Friedman R. C., Farh K. K.-H., Burge C. B., Bartel D. P. Most mammalian mRNAs are conserved targets of microRNAs. *Genome Res.* 2009; 19: 92–105. DOI: 10.1101/gr.082701.108.
- Логинов В. И., Рыков С. В., Фридман М. В., Брага Э. А. Метилирование генов микроРНК и онкогенез. *Биохимия.* 2015; 80(2): 184–203.
- Kurozumi S., Yamaguchi Y., Kurosumi M., Ohira M., Matsumoto H., Horiguchi J. Recent trends in microRNA research into breast cancer with particular focus on the associations between microRNAs and intrinsic subtypes. *J. Hum. Genet.* 2017; 62(1): 15–24. DOI: 10.1038/jhg.2016.89.
- Nazarenko M. S., Markov, Lebedev I. N., Freidin M. B., Sleptcov A. A., Koroleva I. A., Frolov A. V., Popov V. A., Barbarash O. L., Puzyrev, V. P. A comparison of genome-wide DNA methylation patterns between different vascular tissues from patients with coronary heart disease. *PLoS One.* 2015; 10(4): e0122601. DOI: 10.1371/journal.pone.0122601.
- Chhabra R. MiRNA and methylation: a multifaceted liaison. *Chembiotechnol.* 2015; 16(2): 195–203. DOI: 10.1002/cbic.201402449.
- Kim K., Lee H. C., Park J. L., Kim M., Kim S. Y., Noh S. M., Song K.-S., Kim J. C., Kim Y. S. Epigenetic regulation of microRNA-10b and targeting of oncogenic MAPRE1 in gastric cancer. *Epigenetics.* 2011; 6(6): 740–751. DOI: 10.4161/epi.6.6.15874.

15. Adams A. T., Kennedy N. A., Hansen R., Ventham N. T., O'Leary K. R., Drummond H. E., Noble C. L., El-Omar E., Russell R. K., Wilson D. C., Nimmo E. R., Satsangi J. Two-stage genome-wide methylation profiling in childhood-onset Crohn's Disease implicates epigenetic alterations at the *VMP1/MIR21* and *HLA* loci. *Inflamm. Bowel Dis.* 2014; 20(10): 1784–1793. DOI: 10.1097/MIB.0000000000000179.
16. Baer C., Claus R., Plass C. Genome-wide epigenetic regulation of miRNAs in cancer. *Cancer Res.* 2013; 73(2): 473–477. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-12-3731.
17. Cipollone F., Felicioni L., Sarzani R., Uchino S., Spigonardo F., Mandolini C., Malatesta S., Bucci M., Mammarella C., Santovito D., de Lutiis F., Marchetti A., Mezzetti A., Buttitta F. A unique microRNA signature associated with plaque instability in humans. *Stroke.* 2011; 42(9): 2556–2563. DOI: 10.1161/STROKEAHA.110.597575.
18. Fan X., Wang E., Wang X., Cong X., Chen X. MicroRNA-21 is a unique signature associated with coronary plaque instability in humans by regulating matrix metalloproteinase-9 via reversion-inducing cysteine-rich protein with Kazal motifs. *Exp. Mol. Pathol.* 2014; 96(2): 242–249. DOI: 10.1016/j.yexmp.2014.02.009.
19. Raitoharju E., Lyytikäinen L. P., Levula M., Oksala N., Mennander A., Tarkka M., Klopp N., Illig T., Kähönen M., Karhunen P. J., Laaksonen R., Lehtimäki T. miR-21, miR-210, miR-34a, and miR-146a/b are up-regulated in human atherosclerotic plaques in the Tampere Vascular Study. *Atherosclerosis.* 2011; 219(1): 211–217. DOI: 10.1016/j.atherosclerosis.2011.07.020.
20. Марков А. В., Назаренко М. С., Королёва Ю. А., Лебедев И. Н., Слепцов А. А., Фролов А. В., Попов В. А., Барбараш О. Л., Барбараш Л. С., Пузырев В. П. Уровень метилирования промоторного региона гена *HOXD4* у больных атеросклерозом. *Медицинская генетика.* 2014; 13(1): 39–42.
11. Kurozumi S., Yamaguchi Y., Kurosumi M., Ohira M., Matsumoto H., Horiguchi J. Recent trends in microRNA research into breast cancer with particular focus on the associations between microRNAs and intrinsic subtypes. *J. Hum. Genet.* 2017; 62(1): 15–24. DOI: 10.1038/jhg.2016.89.
12. Nazarenko M. S., Markov, Lebedev I. N., Freidin M. B., Sleptcov A. A., Koroleva I. A., Frolov A. V., Popov V. A., Barbarash O. L., Puzyrev V. P. A comparison of genome-wide DNA methylation patterns between different vascular tissues from patients with coronary heart disease. *PLoS One.* 2015; 10(4): e0122601. DOI: 10.1371/journal.pone.0122601.
13. Chhabra R. MiRNA and methylation: a multifaceted liaison. *Chembiochem.* 2015; 16(2): 195–203. DOI: 10.1002/cbic.201402449.
14. Kim K., Lee H. C., Park J. L., Kim M., Kim S. Y., Noh S. M., Song K.-S., Kim J. C., Kim Y. S. Epigenetic regulation of microRNA-10b and targeting of oncogenic MAPRE1 in gastric cancer. *Epigenetics.* 2011; 6(6): 740–751. DOI: 10.4161/epi.6.6.15874.
15. Adams A. T., Kennedy N. A., Hansen R., Ventham N. T., O'Leary K. R., Drummond H. E., Noble C. L., El-Omar E., Russell R. K., Wilson D. C., Nimmo E. R., Satsangi J. Two-stage genome-wide methylation profiling in childhood-onset Crohn's Disease implicates epigenetic alterations at the *VMP1/MIR21* and *HLA* loci. *Inflamm. Bowel Dis.* 2014; 20(10): 1784–1793. DOI: 10.1097/MIB.0000000000000179.
16. Baer C., Claus R., Plass C. Genome-wide epigenetic regulation of miRNAs in cancer. *Cancer Res.* 2013; 73(2): 473–477. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-12-3731.
17. Cipollone F., Felicioni L., Sarzani R., Uchino S., Spigonardo F., Mandolini C., Malatesta S., Bucci M., Mammarella C., Santovito D., de Lutiis F., Marchetti A., Mezzetti A., Buttitta F. A unique microRNA signature associated with plaque instability in humans. *Stroke.* 2011; 42(9): 2556–2563. DOI: 10.1161/STROKEAHA.110.597575.
18. Fan X., Wang E., Wang X., Cong X., Chen X. MicroRNA-21 is a unique signature associated with coronary plaque instability in humans by regulating matrix metalloproteinase-9 via reversion-inducing cysteine-rich protein with Kazal motifs. *Exp. Mol. Pathol.* 2014; 96(2): 242–249. DOI: 10.1016/j.yexmp.2014.02.009.
19. Raitoharju E., Lyytikäinen L. P., Levula M., Oksala N., Mennander A., Tarkka M., Klopp N., Illig T., Kähönen M., Karhunen P. J., Laaksonen R., Lehtimäki T. miR-21, miR-210, miR-34a, and miR-146a/b are up-regulated in human atherosclerotic plaques in the Tampere Vascular Study. *Atherosclerosis.* 2011; 219(1): 211–217. DOI: 10.1016/j.atherosclerosis.2011.07.020.
20. Markov A. V., Nazarenko M. S., Koroleva Yu. A., Lebedev I. N., Sleptcov A. A., Frolov A. V., Popov V. A., Barbarash O. L., Barbarash L. S., Puzyrev V. P. DNA methylation level within the *HOXD4* promoter region in patients with atherosclerosis. *Meditsinskaya genetika = Medical genetics.* 2014; 13(1): 39–42 (In Russ).

References

Поступила 03.04.2018
Received April 03.2018

Информация о вкладе авторов

Королёва Ю. А. — разработка концепции и дизайна исследования; анализ и интерпретация данных; обоснование рукописи.
Зарубин А. А. — анализ и интерпретация данных.
Марков А. В. — разработка концепции и дизайна исследования; анализ и интерпретация данных.
Казанцев А. Н. — разработка концепции и дизайна исследования.
Барбараш О. Л. — разработка концепции и дизайна исследования.
Назаренко М. С. — разработка концепции и дизайна исследования; окончательное утверждение для публикации рукописи.

Сведения об авторах

Королева Юлия Александровна*, младший научный сотрудник лаборатории популяционной генетики Научно-исследовательского института медицинской генетики, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук.
E-mail: korolevaiua@yandex.ru.

Зарубин Алексей Андреевич, студент медико-биологического факультета Сибирского государственного медицинского университета Министерства здравоохранения Российской Федерации; лаборант-исследователь лаборатории эволюционной генетики Научно-исследовательского института медицинской генетики, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук.
E-mail: a.a.zarubin@gmail.com.

Марков Антон Владимирович, канд. мед. наук, научный сотрудник лаборатории популяционной генетики Научно-исследовательского института медицинской генетики, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук.
E-mail: anton.markov@medgenetics.ru.

Казанцев Антон Николаевич, младший научный сотрудник лаборатории реконструктивной хирургии мультифокального атеросклероза Научно-исследовательского института комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний.
E-mail: dr.antonio.kazantsev@mail.ru.

Барбараш Ольга Леонидовна, д-р мед. наук, профессор, член-корреспондент РАН, директор Научно-исследовательского института комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний.
E-mail: olb61@mail.ru.

Назаренко Мария Сергеевна, канд. мед. наук, руководитель лаборатории популяционной генетики Научно-исследовательского института медицинской генетики, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук; ассистент кафедры медицинской генетики Сибирского государственного медицинского университета Министерства здравоохранения Российской

Федерации; ведущий научный сотрудник лаборатории геномной медицины Научно-исследовательского института комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний.
E-mail: maria.nazarenko@medgenetics.ru.

Information about the authors

Koroleva Iuliia A.*, Junior Researcher, Laboratory of Population Genetics, Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences.
E-mail: korolevaiua@yandex.ru.

Zarubin Aleksei A., Undergraduate Student, Medical and Biological Faculty, Siberian State Medical University; Research Assistant, Laboratory of Evolution Genetics, Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences.
E-mail: a.a.zarubin@gmail.com.

Markov Anton V., Cand. Sci. (Med.), Researcher, Laboratory of Population Genetics, Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences.
E-mail: anton.markov@medgenetics.ru.

Kazancev Anton N., Junior Researcher, Laboratory of Reconstructive Surgery, Department of Multifocal Atherosclerosis, Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases.
E-mail: dr.antonio.kazantsev@mail.ru.

Barbarash Olga L., Dr. Sci. (Med.), Professor, Corresponding Member of RAS, Director of Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases.
E-mail: olb61@mail.ru.

Nazarenko Maria S., Cand. Sci. (Med.), Head of Laboratory of Population Genetics, Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences; Assistant Professor, Department of Medical Genetics, Siberian State Medical University; Leading Researcher, Laboratory for Genomic Medicine, Division of Experimental and Clinical Cardiology, Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases.
E-mail: maria.nazarenko@medgenetics.ru.