

DOI: 10.25205/978-5-4437-1843-9-281

УРОВНИ ЭКСПРЕССИИ мРНК И МИКРОРНК В ЛЕЙКОЦИТАХ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ
КАК БИОМАРКЕРЫ ИСХОДНОЙ УСТОЙЧИВОСТИ К ГИПОКСИИ
У ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ*

MOLECULAR BIOLOGICAL FEATURES OF ADAPTATION TO ACUTE HYPOXIC EFFECTS
IN ANIMALS WITH DIFFERENT RESISTANCE TO OXYGEN DEFICIENCY

М. В. Силина¹, Д. Ш. Джалилова^{1,2}, В. М. Кириллов³, О. В. Макарова¹

¹Российский научный центр хирургии им. акад. Б. В. Петровского, Москва

²Медицинский университет Петровского, Москва

³Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии
им. акад. В. И. Кулакова Минздрава России, Москва

M. V. Silina¹, D. Sh. Dzhalilova^{1,2}, V. M. Kirillov³, O. V. Makarova¹

¹Petrovsky National Research Center of Surgery, Moscow

²Petrovsky Medical University, Moscow

³Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Moscow

✉ marusyasilina99@yandex.ru

Аннотация

Уровни экспрессии мРНК и микроРНК, регулирующих клеточный ответ на гипоксию и воспаление, являются биомаркерами исходной устойчивости к гипоксии — низкоустойчивые организмы имеют высокий провоспалительный потенциал, характеризующийся высокими уровнями экспрессии *Hif1*, *Epas1*, *Hif3a* и *Nfkb* и низкими *rno-miR-155-3p* и *rno-miR-210-3p* в лейкоцитах периферической крови по сравнению с высокоустойчивыми.

Abstract

The expression levels of mRNA and microRNA regulating the cellular response to hypoxia and inflammation are biomarkers of initial resistance to hypoxia — susceptible organisms have a high proinflammatory potential, characterized by high *Hif1*, *Epas1*, *Hif3a* and *Nfkb* and low *rno-miR-155-3p* and *rno-miR-210-3p* expression levels in peripheral blood leukocytes compared to tolerant.

Главную роль в реакции на гипоксию играют транскрипционные факторы HIF (*Hypoxia-Inducible Factor*), активность которых регулирует большое количество молекул, в том числе микроРНК [1]. Известно, что организмы различаются по исходной устойчивости к недостатку кислорода, наиболее распространенным способом определения которой является воздействие сублетальной гипоксической нагрузки (СГН) в барокамере, которое может приводить к альтеративным изменениям во внутренних органах. Поэтому требуется разработка быстрых и точных способов оценки устойчивости к гипоксии, одним из которых может быть определение экспрессии мРНК и микроРНК, регулирующих клеточный ответ на недостаток кислорода и воспаление, в лейкоцитах периферической крови.

Цель работы — исследовать уровни экспрессии микроРНК и генов, регулирующих клеточный ответ на гипоксию и воспаление, в лейкоцитах периферической крови у лабораторных животных с разной устойчивостью к недостатку кислорода.

Исследование выполнено на половозрелых самцах крыс Вистар в возрасте 2–3 мес. ($n = 30$). У животных, не подвергавшихся гипоксической нагрузке, забирали 1 мл крови из хвостовой вены в пробирки с КЗ-ЭДТА, лизировали эритроциты и добавляли фиксатор РНК для длительного хранения. Через месяц определяли устойчивость крыс к СГН на критической «высоте» (11 500 м) однократно в барокамере по «времени жизни» до принятия бокового положения и появления признаков асфиксии. Было выделено 2 группы крыс: высокоустойчивые (ВУ, $n = 6$) с «временем жизни» более 240 с и низкоустойчивые (НУ, $n = 6$) с «временем жизни» менее 80 с. Экспрессию мРНК *Hif1a*, *Epas1*, *Hif3a*, *Arnt*, *Vegf*, *Epo*, *Egln1*, *Nfkb*, *Il1b*, *Tnfa*, *Tgfb* и микроРНК *rno-miR-210-5p*, *rno-miR-210-3p*, *rno-miR-107-5p*, *rno-miR-107-3p*, *rno-miR-145-5p*, *rno-miR-145-3p*, *rno-miR-155-5p*, *rno-miR-155-3p* в клетках крови определяли методом ПЦР в реальном времени. Статистическую обработку полученных результатов проводили в программе Statistica 8.0 (StatSoft, Inc.). Поскольку данные были распределены ненормально, досто-

* Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 25-25-00061).

© М. В. Силина, Д. Ш. Джалилова, В. М. Кириллов, О. В. Макарова, 2025

верность различий между показателями определяли с помощью непараметрических критериев Манна — Уитни, Крускала — Уоллиса и Данна. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

До воздействия СГН у НУ к гипоксии животных по сравнению с ВУ уровни экспрессии мРНК *Hif1a*, *Eras1*, *Hif3a* и *Nfkb* были статистически значимо выше. В то же время уровни экспрессии *rno-miR-155-3p* и *rno-miR-210-3p* у НУ к гипоксии животных были ниже, чем у ВУ. Исходный высокий уровень экспрессии *Hif1a* и *Nfkb* у НУ к недостатку кислорода крыс может свидетельствовать о высоком провоспалительном потенциале у этих животных, так как в литературе подробно охарактеризована взаимосвязь клеточных ответов на гипоксию и воспаление, в частности взаимодействие транскрипционных факторов NF-κB и HIF-1α [2]. Мишенью miR-210 являются транскрипты белков ISCU1 и ISCU2 (*Iron-Sulfur Cluster assembly proteins*), основная роль которых — обеспечение транспорта электронов и окислительно-восстановительных реакций в метаболизме различных молекул [3]. Высокий уровень экспрессии *rno-miR-210-3p* у ВУ к гипоксии крыс может свидетельствовать о подавлении трансляции ISCU1 и ISCU2, следствием чего является снижение активности митохондриального дыхания и смещение баланса между окислительным фосфорилированием и гликолизом в сторону последнего, что приводит к формированию устойчивости к недостатку кислорода.

Полученные данные об уровнях экспрессии мРНК и микроРНК в лейкоцитах периферической крови послужат основой для разработки способа определения устойчивости к гипоксии у животных и людей.

Литература

1. Silina M. V. et al. Role of microRNAs in regulation of cellular response to hypoxia // Biochem. Moscow. 2023. Vol. 88. P. 741–757.
2. van Uden P. et al. Evolutionary conserved regulation of HIF-1β by NF-κB // PLoS Genetics. 2011. Vol. 7. P. e1001285.
3. Chan S. Y. et al. MicroRNA-210 controls mitochondrial metabolism during hypoxia by repressing the iron-sulfur cluster assembly proteins ISCU1/2 // Cell Metabolism. 2009. Vol. 10. P. 273–284.