

<https://doi.org/10.25557/2073-7998.2022.12.30-32>

Экспрессия микроРНК miR-9, miR-27a, miR-34a, miR-146a, miR-155 в сетчатке при развитии у крыс OXYS ретинопатии, аналогичной возрастной макулярной дегенерации

Шкляр А.А.^{1,2}, Колосова Н.Г.², Кожевникова О.С.²

1 – Новосибирский Государственный Университет
630090, г. Новосибирск, Россия, ул. Пирогова, д. 2

2 – Федеральный исследовательский центр «Институт цитологии и генетики СО РАН»
630090, г. Новосибирск, Россия, пр. Ак. Лаврентьева, д. 10

Возрастная макулярная дегенерация (ВМД) – комплексное нейродегенеративное заболевание, которое становится основной причиной потери центрального зрения людьми старше 60 лет. Развитие ВМД контролируется множеством взаимодействующих генетических и средовых факторов, определяющих форму, скорость прогрессии заболевания. Существенно влияют на эти параметры и эпигенетические механизмы, включая изменения паттернов экспрессии микроРНК, оценка циркулирующего пула которых рассматривается как перспективный подход к ранней диагностике, прогнозу течения и оценке эффективности лечения ВМД. Однако информация о паттернах экспрессии микроРНК в сетчатке на разных стадиях развития ВМД, тем более доклинических, практически отсутствует, а получить её позволяет только использование адекватных биологических моделей. Настоящее исследование выполнено на линии крыс OXYS (ИЦиГ СО РАН) – уникальной модели преждевременного старения, одним из проявлений которого становится развитие комплекса ключевых признаков ВМД. Его целью явилась оценка изменений экспрессии ряда перспективных с прогностической точки зрения микроРНК (miR-9, miR-27a, miR-34a, miR-146a, miR-155) с возрастом в сетчатке крыс Вистар (контроль) и OXYS при развитии аналогичной ВМД ретинопатии. Экспрессию микроРНК оценивали методом ПЦР в реальном времени. Было выявлено увеличение уровня экспрессии miR-27a в сетчатке крыс OXYS с возрастом и по мере развития признаков ретинопатии, которое может вносить вклад в развитие признаков ВМД.

Ключевые слова: ВМД, микроРНК, крысы OXYS.

Для цитирования: Шкляр А.А., Колосова Н.Г., Кожевникова О.С. Экспрессия микроРНК miR-9, miR-27a, miR-34a, miR-146a, miR-155 в сетчатке при развитии у крыс OXYS ретинопатии, аналогичной возрастной макулярной дегенерации. *Медицинская генетика* 2022; 21(12): 30-32.

Автор для корреспонденции: Шкляр А.А.; e-mail: Shklyaraa@bionet.nsc.ru

Финансирование. Исследование выполнено при поддержке гранта РФФИ №21-15-00047.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила: 19.11.2022

miR-9, miR-27 a, miR-34a, miR-146a, miR-155 microRNA expression in the retina during the development of retinopathy similar to age-related macular degeneration in OXYS rats

Shklyar A.A.^{1,2}, Kolosova N.G.², Kozhevnikova O.S.²

1 – Novosibirsk State University
1, Pirogova st., Novosibirsk, 630090, Russian Federation

2 – Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of Russian Academy of Sciences
10, Ac. Lavrentieva ave., Novosibirsk, 630090, Russian Federation

Age-related macular degeneration (AMD) is a complex neurodegenerative disease that becomes the main cause of central vision loss in people over 60 years of age. The development of AMD is controlled by a variety of interacting genetic and environmental factors that determine the form and rate of progression of the disease. Epigenetic mechanisms also significantly affect these parameters, including changes in microRNA expression patterns, the assessment of the circulating pool of which is considered as a promising approach to early diagnosis, prognosis of the course and evaluation of the effectiveness of AMD treatment. However, there is practically no information about the patterns of microRNA expression in the retina at different stages of AMD development, especially preclinical ones, and it can only be obtained using adequate biological models. The present study was performed on a line of OXYS rats (ICG SB RAS) - a unique model of premature aging, one of the manifestations of which is the development of a complex of key signs of AMD. Its purpose was to evaluate changes in the expression of a number of prognostically promising microRNAs (miR-9, miR-27a, miR-34a, miR-146a, miR-155) with age in the retina of Wistar rats (control) and OXYS with

the development of AMD-like retinopathy. microRNA expression was evaluated by real-time PCR. An increase in the level of miR-27a expression in the retina of OXYS rats was revealed with age and with the development of signs of retinopathy, which may contribute to the development of signs of AMD.

Key words: AMD, microRNA, OXYS rats.

For citation: Shklyar A.A., Kolosova N.G., Kozhevnikova O.S. miR-9, miR-27 a, miR-34a, miR-146a, miR-155 microRNA expression in the retina during the development of retinopathy similar to age-related macular degeneration in OXYS rats. *Medical genetics [Medicinskaya genetika]* 2022; 21(12): 30-32. (In Russ.)

Corresponding author: Shklyar A.A.; **e-mail:** Shklyaraa@bionet.nsc.ru

Funding. This work was supported by the Russian Science Foundation (RSF), grant 21-15-00047.

Conflict of interest. The authors declare no conflicts of interest.

Accepted: 19.11.2022

Введение

Возрастная макулярная дегенерация (ВМД) – комплексное нейродегенеративное заболевание, которое становится основной причиной потери центрального зрения людьми старше 60 лет. По клиническим проявлениям выделяют «сухую» и «влажную» формы заболевания [1]. Способов лечения и профилактики «сухой» формы ВМД не существует, в то время как эффективность антиангиогенной терапии ингибиторами VEGF убедительно доказана [2]. В основе патогенеза ВМД лежат характерные для старения снижение обменных и восстановительных процессов, предпосылки и механизмы перехода которых в патологический процесс остаются неясными. Развитие ВМД контролируется множеством взаимодействующих генетических и средовых факторов, определяющих форму, скорость прогрессии заболевания [3]. Существенно влияют на эти параметры и эпигенетические механизмы, включая изменения паттернов экспрессии микроРНК, оценка циркулирующего пула которых рассматривается как перспективный подход к ранней диагностике, прогнозу течения и оценке эффективности лечения ВМД [4]. Однако информация о паттернах экспрессии микроРНК в сетчатке на разных стадиях развития ВМД, тем более доклинических, практически отсутствует, а получить её позволяет только использование адекватных биологических моделей. Настоящее исследование выполнено на линии крыс OXYS (ИЦИГ СО РАН) – уникальной модели преждевременного старения, одним из проявлений которого становится развитие комплекса ключевых признаков ВМД [5]. Его целью явилась оценка изменений экспрессии ряда перспективных с прогностической точки зрения микроРНК (miR-9, miR-27a, miR-34a, miR-146a, miR-155) с возрастом в сетчатке крыс Вистар (контроль) и OXYS при развитии аналогичной ВМД ретинопатии.

Методы

Работы на животных одобрены этическим комитетом ИЦИГ СО РАН (Новосибирск, Россия). Исследование выполнено на крысах OXYS (n=20) в период, предшествующий развитию признаков ВМД (в возрасте 20 дней), и в период их активной манифестации и прогрессии (возраст 6, 12 и 18 мес.). Контролем служили одновозрастные крысы Вистар (n=20). Тотальную РНК выделяли, используя набор miRNeasy Tissue/cells advanced Mini Kit (Qiagen) согласно протоколу производителя. Экспрессию микроРНК оценивали методом ПЦР в реальном времени на приборе BioRad CFX96 (BioRad Inc., USA), используя набор реагентов TaqMan™ MicroRNA Assay (Applied Biosystems), содержащий специфические праймеры для микроРНК (miR-9, miR-27a, miR-34a, miR-146a, miR-155). Внутренним контролем служила miR-34a как наиболее стабильная. Результаты нормировали на уровень соответствующих микроРНК крыс Вистар в возрасте 20 дней. Статистический анализ проводили с помощью STATISTICA (StatSoft Russia, Россия, версия 10.0) и OriginPro (OriginLab Software, Northampton, USA, v9.9.0.225). Статистически значимым было принято значение p-values ≤ 0,05, определенное по HSD-тесту Тьюки.

Результаты

В сетчатке крыс Вистар уровень всех исследованных микроРНК оставался стабильным – не изменялся с возрастом. У крыс OXYS уровень miR-9, miR-146a, miR-155 также не менялся с возрастом. Однако с возрастом и по мере развития клинических проявлений заболевания у крыс OXYS возрастала экспрессия miR-27a (F_{3,32} = 5,23, p = 0,005), уровень которой в возрасте 12 и 18 мес. становится ~в полтора раза выше, чем в сетчатке 20-дневных крыс OXYS (p < 0,001 и p < 0,004,

соответственно). При этом только в возрасте 18 мес. в период развития ярко выраженных нейродегенеративных изменений, уровень miR-27a в сетчатке крыс ОХУС достоверно превышает таковой у крыс Вистар ($p < 0,02$).

У крыс ОХУС развивается преимущественно «сухая» форма ВМД, но, как и у людей, по мере прогрессии заболевания к возрасту 18 мес. у части животных (у 20-25%) она переходит во «влажную». Предполагается, что miR-27a способна влиять на развитие ВМД, регулируя процесс ангиогенеза путём подавления его ингибиторов, в пользу чего свидетельствуют результаты исследований на *Danio rerio* [6] и мышах [7]. Также влияние miR-27a может проявляться в нарушении сигнального пути WNT, одна из функций которого – регуляция нормальной дифференцировки клеток [8], поскольку среди зафиксированных её мишеней присутствует ингибитор 2 WNT сигнального пути (<http://mirdb.org>).

Таким образом, выявлено увеличение уровня экспрессии miR-27a в сетчатке крыс ОХУС с возрастом и по мере развития признаков ретинопатии, которое может вносить вклад в развитие признаков ВМД.

Литература / References

1. Ayoub T., Patel N. Age-related macular degeneration. *J R Soc Med.* 2009;102(2):56-61. doi:10.1258/jrsm.2009.080298
2. Krebs I., Glittenberg C., Ansari-Shahrezaei S., Hagen S., Steiner I., Binder S. Non-responders to treatment with antagonists of vascular endothelial growth factor in age-related macular degeneration. *Br J Ophthalmol.* 2013;97(11):1443-1446. doi:10.1136/bjophthalmol-2013-303513
3. Strafella C., Errichiello V., Caputo V., et al. The Interplay between miRNA-Related Variants and Age-Related Macular Degeneration: EVIDENCE of Association of MIR146A and MIR27A. *International Journal of Molecular Sciences.* 2019;20(7):1578. doi:10.3390/ijms20071578
4. Romano G.L., Platania C.B.M., Drago F., et al. Retinal and Circulating miRNAs in Age-Related Macular Degeneration: An In vivo Animal and Human Study. *Frontiers in Pharmacology.* 2017;8:168. doi:10.3389/fphar.2017.00168
5. Kozhevnikova O.S., Korbolina E.E., Ershov N.I., Kolosova N.G. Rat retinal transcriptome: effects of aging and AMD-like retinopathy. *Cell Cycle.* 2013;12(11):1745-1761. doi:10.4161/cc.24825
6. Urbich C., Kaluza D., Frömel T., et al. MicroRNA-27a/b controls endothelial cell repulsion and angiogenesis by targeting semaphorin 6A. *Blood.* 2011;119:1607-1616. doi:10.1182/blood-2011-08-373886
7. Veliceasa D., Biyashev D., Qin G., et al. Therapeutic manipulation of angiogenesis with miR-27b. *Vasc Cell.* 2015;7(1):1-13. doi:10.1186/s13221-015-0031-1
8. Yang Y. Wnt signaling in development and disease. *Cell Biosci.* 2012;2(1):14. doi:10.1186/2045-3701-2-14