

## Исследование ассоциации полиморфных локусов генов *MIR96*, *MIR758*, *MIR33a* с риском развития атеросклероза у жителей Ростовской области

Тимофеева С.В., Бутенко Е.В., Санникова Т.В., Шкурат Т.П.

Южный Федеральный Университет, Академия биологии и биотехнологии им.Д.И. Ивановского  
344090, г. Ростов-на-Дону, пр. Стачки, д. 194/1

Атеросклероз является ведущей причиной смертности во всем мире. Несмотря на значительные успехи в диагностике, лечении и стратификации риска атеросклероза, по-прежнему существует потребность в новых диагностических биомаркерах и терапевтических мишенях для предотвращения эпидемии заболевания. В последнее время публикуется все больше доказательств связи нарушения регуляции микроРНК с сердечно-сосудистыми заболеваниями, включая атеросклероз. МикроРНК являются эндогенными, стабильными, одноцепочечными, короткими, некодирующими РНК и могут использоваться в качестве диагностических и прогностических биомаркеров атеросклероза.

Целью нашего исследования был поиск ассоциации между полиморфными вариантами генов микроРНК *MIR96* (rs13231740), *MIR758* (rs1885068), *MIR33a* (rs9620000) и риском развития атеросклероза у жителей Ростовской области.

В качестве материала для исследования были собраны образцы венозной крови 100 пациентов (57% мужчин и 43% женщин) с атеросклерозом. Контрольную группу составили 103 человека (42,71% мужчин и 57,29% женщин) без сердечно-сосудистых заболеваний. Выделение геномной ДНК из периферической крови выполнялось набором QIAamp DNA Blood mini kit (Qiagen, Germany). Генотипирование проводили с помощью аллель специфичной ПЦР смесью qPCRMix-HS («Евроген», Россия) на приборе Real-time CFX96 Touch (США). Анализ равновесия Харди-Вайнберга и различия в распределении вариантов аллелей между группами пациентов и контроля оценивали с помощью критерия  $\chi^2$ . Для оценки риска развития атеросклероза мы использовали коэффициенты отношения шансов (ОШ) и доверительный интервал (ДИ).

В результате исследования установлено, что генотип АС *MIR96* (rs13231740) (ОШ 1,92 95%ДИ 1,07 – 3,45,  $p=0,02$ ) и генотипы ТС и СС гена *MIR33a* (rs9620000) (ОШ 4,85 95%ДИ 2,35 – 10,00; ОШ 4,12 95%ДИ 1,11-15,24  $p=4,0E-7$ ) ассоциированы с повышенным риском развития атеросклероза. Полиморфный аллель гена *MIR758* (rs1885068) не ассоциирован с развитием атеросклероза. Таким образом, результаты исследования подчёркивают важность поиска диагностических биомаркеров в некодирующей области генома.

**Ключевые слова:** атеросклероз, микроРНК, *MIR96*, *MIR758*, *MIR33a*.

**Для цитирования:** Тимофеева С.В., Бутенко Е.В., Санникова Т.В., Шкурат Т.П. Исследование ассоциации полиморфных локусов генов *MIR96*, *MIR758*, *MIR33a* с риском развития атеросклероза у жителей Ростовской области. *Медицинская генетика* 2023; 22(8): 37-43.

**Автор для корреспонденции:** Тимофеева С.В.; e-mail [timofeeva.sophia@gmail.com](mailto:timofeeva.sophia@gmail.com)

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки.

**Конфликт интересов:** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Поступила:** 01.08.2023

## Association of polymorphisms in *MIR96*, *MIR758*, *MIR33a* genes with the risk of atherosclerosis in residents of the Rostov region

Timofeeva S.V., Butenko E.V., Sannikova T.V., Shkurat T.P.

Southern Federal University, Academy of Biology and Biotechnology named after D.I. Ivanovsky  
194/1 Stachki Ave., Rostov-on-Don, 344090, Russian Federation

Atherosclerosis is the leading cause of death worldwide. Despite significant advances in the diagnosis, treatment, and risk stratification of atherosclerosis, there is still a need for new diagnostic biomarkers and therapeutic targets to prevent an epidemic of the disease. Recently, more and more evidence has been published linking dysregulation of microRNAs with cardiovascular disease, including atherosclerosis. MicroRNAs are endogenous, stable, single-stranded, short, non-coding RNAs and can be used as diagnostic and prognostic biomarkers of atherosclerosis.

The aim of our study was to search for an association between polymorphic variants of microRNA genes *MIR96* (rs13231740), *MIR758* (rs1885068), *MIR33a* (rs9620000), and the risk of atherosclerosis in residents of the Rostov region.

Venous blood samples from 100 patients (57% of men and 43% of women) with atherosclerosis were collected as material for the study. The control group consisted of 103 people (42,71% of men and 57,29% of women) without cardiovascular diseases. Isolation of genomic DNA from peripheral blood was performed using a QIAamp DNA Blood mini kit (Qiagen, Germany). Genotyping was performed using an allele-specific PCR mixture qPCRMix-HS (Evrogen, Russia) on a Real-time CFX96 Touch device (USA). Analysis of the Hardy-Weinberg equilibrium and differences in the distribution of allele variants between groups of patients and controls were assessed using the  $\chi^2$  test.

To assess the risk of developing atherosclerosis, we used odds ratios (ORs) and confidence intervals (CIs). The study found that the AC genotype of the *MIR96* gene (rs13231740) (OR 1.92 95% CI 1.07–3.45, P=0.02) and the TC and CC genotypes of the *MIR33a* gene (rs9620000) (OR 4.85 95% CI 2.35–10.00; OR 4.12 95% CI 1.11–15.24 P=4.0E-7) are associated with an increased risk of atherosclerosis. The presence of the polymorphic allele of the *MIR758* gene (rs1885068) is not associated with the development of atherosclerosis. Thus, the results of the study emphasize the importance of searching for diagnostic biomarkers in the noncoding region of the genome.

**Keywords:** atherosclerosis, microRNA, *MIR96*, *MIR758*, *MIR33a*.

**For citation:** Timofeeva S.V., Butenko E.V., Sannikova T.V., Shkurat T.P. Association of polymorphisms in *MIR96*, *MIR758*, *MIR33a* genes with the risk of atherosclerosis in residents of the Rostov region. *Medical genetics [Medicinskaya genetika]* 2023; 22(8): 37–43. (In Russ.)

**Corresponding author:** Timofeeva S.V.; **e-mail:** timofeeva.sophia@gmail.com

**Funding.** The study was not sponsored.

**Conflict of interests.** The authors declare no conflict of interests.

**Accepted:** 01.08.2023

## Введение

Атеросклероз является широко распространенным хроническим заболеванием и основным фактором риска инфаркта миокарда, инсульта и ишемической гангрены, а также основной причиной заболеваемости и смертности во всем мире [1].

МикроРНК — это класс коротких нуклеотидных последовательностей некодирующей РНК (21–27 нуклеотидов), которые участвуют в транскрипционной и посттранскрипционной регуляции экспрессии генов, но не в синтезе белка [2].

МикроРНК *MIR33a*, *MIR758*, *MIR96*, связанные с регуляцией метаболизма холестерина, а именно, липопротеинов высокой плотности, представляют особый интерес как важные факторы развития патологии и перспективные терапевтические мишени для ее лечения.

*MIR33a* встроена в интроны генов *SREBP* (стероид-регуляторный элемент, связывающий элемент), ключевых регуляторов транскрипции многих холестерогенных и липогенных генов [3,4]. В сочетании с транскрипцией *SREBP* *MIR33* ингибирует отток клеточного холестерина, подавляя АТФ-связывающие кассетные транспортеры А1 (*ABCA1*) и G1 (*ABCG1*) [5]. Исследования с использованием мышей с двойным нокаутом *ApoE/MIR33* продемонстрировали снижение атеросклеротической бляшки со значительным увеличением уровней липопротеинов высокой плотности (ЛПВП) и усиление оттока холестерина через *ABCA1* и *ABCG1* [6,7]. Интересно, что подавление *MIR33* на мышинной модели атеросклероза линии *Ldlr*<sup>-/-</sup> препятствовало прогрессированию атеросклероза [8], а так-

же способствовало регрессу развившегося атеросклероза [9]. Кроме того, было показано, что *MIR33* препятствует образованию атеросклеротических бляшек за счет уменьшения воспаления и накопления липидов у мышей *Ldlr*<sup>-/-</sup> в условиях гиперлипидемии [10].

Подобно *MIR33*, *MIR758* ингибирует экспрессию *ABCA1* в макрофагах человека и мыши и уменьшает отток клеточного холестерина в *ApoA1*. *MIR758* экспрессируется в мозге, сердце, аорте и в незначительных количествах в печени [11]. Исследования показали, что *MIR758* также участвует в посттранскрипционном контроле генов регуляторной сети обратного транспорта холестерина *ABCG1* и *SCARB1*. В эксперименте Mandolini С. с соавт. было показано, что при одновременном увеличении экспрессии *MIR33* и *MIR758* можно модулировать уровни экспрессии генов *ABCA1* с *ABCG1* в атеросклеротических бляшках у пациентов с гиперхолестеринемией [12]. Чуть позже Li с соавт. отметили, что *MIR758-5p* снижает экспрессию *CD36* как на уровне белка, так и на уровне мРНК, воздействуя на 3'UTR *CD36* в пенистых клетках, происходящих из макрофагов ТНФ-1. Li с соавт. предположили, что *MIR758-5p* уменьшает накопление липидов в пенистых клетках посредством регуляции *CD36* [13].

Предыдущие исследования показали, что *MIR96* тесно связан с апоптозом в разных типах клеток. *MIR96* может способствовать апоптозу клеток пульпозного ядра воздействуя на *FRS2* [14]. *MIR96* регулирует рост клеток *RGС-5* посредством каспазозависимого апоптоза [15]. В исследовании на мышинной модели с болезнью Паркинсона было показано, что экспрессия

*MIR96* может ингибировать экспрессию iNOS и апоптоз дофаминергических нейронов путем инактивации сигнального пути MAPK посредством действия на ген *SACNG5* [16].

Несмотря на предыдущие результаты исследований роль *MIR33a*, *MIR758*, *MIR96* в качестве прогностических биомаркеров риска развития атеросклероза остается неясной. Поэтому целью нашего исследования был поиск ассоциации между полиморфными вариантами микроРНК *MIR96* (rs13231740), *MIR758* (rs1885068), *MIR33a* (rs9620000) и риском развития атеросклероза.

### Материалы и методы

В исследование был включен биоматериал (образцы крови из локтевой вены) жителей Ростовской области в возрасте от 55 до 83 лет. Исследование было одобрено этическим комитетом Южного Федерального Университета. Каждый участник исследования подписал информированное согласие и заполнил анкету с клиническими данными, на основе которых были определены контрольная группа и группа лиц с атеросклеротическим поражением сосудов. Группы случай – контроль формировали на основе ультразвукографического исследования и результатов липидограммы [17]. Контрольная группа состояла из 103 условно здоровых доноров без утолщения интима-медиального слоя сонных артерий и клинических и биохимических маркеров атеросклероза. В группу с атеросклерозом вошли 100 участников с изменениями в биохимическом профиле крови и увеличением толщины интима-медиального слоя от 0,9 мм и выше. В группе пациентов с атеросклерозом было 57 мужчин (57%) и 43 женщины (43%), а в контрольной группе – 44 мужчины (42,71%) и 59 женщин (57,29%). Критериями исключения были перенесенный ранее инфаркт миокарда, реваскуляризация коронарных и сонных

артерий, инсульт и прием статинов или других гиполлипидемических средств.

Геномная ДНК для молекулярно-генетических исследований была выделена из периферической крови участников исследований набором QIAamp DNA Blood mini kit (Qiagen, Germany). Генотипирование выполняли с помощью аллель специфичной ПЦР смесью qPCRMix –HS («Евроген», Россия). Амплификацию проводили на приборе Real-time CFX96 Touch (США). Праймеры для ПЦР были подобраны с помощью программы WASP Web-based Allele Specific Primer <http://bioinfo.biotec.or.th/WASP>. Последовательности праймеров и их характеристики представлены в **табл. 1**.

Анализ на соответствие частот равновесию Харди-Вайнберга проводили с помощью калькулятора <http://oege.org/software/hardy-weinberg.html>. Отношение шансов (ОШ), доверительный интервал (ДИ) и  $\chi^2$  рассчитывали в программе «Ген-эксперт» <http://84.201.145.131/index.php>.

### Результаты

В результате генотипирования и статистического анализа мы определили частоты аллелей и генотипов полиморфных участков *MIR96* (rs13231740), *MIR758* (rs1885068), *MIR33a* (rs9620000) у 100 больных атеросклерозом и 103 условно-здоровых доноров. Распределение наблюдаемых частот генотипов в контрольной группе соответствует равновесию Харди–Вайнберга (**табл. 2**).

Результаты генотипирования *MIR33a* (rs9620000) T>C (с.2907 + 201T>C) в контрольной группе показали, что генотип TC наблюдался в 11,7% случаев, тогда как генотипы TT и CC присутствовали у 85,4% и 2,9% соответственно. Частоты аллелей T и C в контрольной группе составили 91,3% и 8,7% соответственно. В группе пациентов с атеросклерозом генотипы TT, TC, CC наблюдали в 50%, 39% и 11% случаев. Частота аллелей

**Таблица 1.** Последовательности праймеров

**Table 1.** Primer sequences

МиРНК	Праймер прямой норма 5' / температура плавления	Праймер прямой минорный аллель 5' / температура плавления	Праймер общий обратный 5' / температура плавления
<i>MIR758</i> (rs1885068)	CCACCAAAGGTCCTGCCA / 63.12	CCACCAAAGGTCCTGCC / 63.84	CCTAATGTGGCTGAGTTGGA / 62.04
<i>MIR96</i> (rs13231740)	GAGCCTGGGCTGCTGGTAT / 62.67	GAGCCTGGGCTGCTGGTAG / 63.39	AGGACCATCCATCTCCTTGC / 61.40
<i>MIR33a</i> (rs9620000)	GAAAGGTGCAGGTAGAAACAAG / 58.06	GAAAGGTGCAGGTAGAAACAAA / 58.43	TGAGTGGGAGCTGAGTTGG / 59.96

Т и С в группе пациентов с атеросклерозом составила 69,5% и 30,5%. Для *MIR33a* установлена статистически значимая ассоциация ( $\chi^2 = 25,59$ ;  $p = 4,0E-7$ ) (табл. 3).

Результаты генотипирования в контрольной группе показали, что генотип ТТ *MIR758* rs1885068 идентифицирован у 45,6% доноров, тогда как TG и GG присутствовали в 37,9% и 16,5% случаев. Частоты аллелей Т и G в контрольной группе составили 64,6% и 35,4%. У пациентов с атеросклерозом генотип ТТ присутствовал в 45% случаев, а генотипы TG и GG были зафиксированы у 43% и 12%. Частота аллелей Т и G составила 66,5% и 35,5% соответственно. У здоровых и больных атеросклерозом жителей Ростовской области распределение аллелей и генотипов не различается, то есть не установлена ассоциация *MIR758* rs1885068 T/G (n.2086-912T>G) с атеросклерозом ( $p > 0,05$ ) (табл. 4).

Анализ распределения частот генотипов *MIR96* rs13231740 А / С (g.129775479A> C) в контрольной

группе показал, что генотип СС присутствовал в 7,8% случаев, тогда как генотипы АА и АС зафиксированы в 64,1% и 28,2% случаев. Частоты аллелей А и С в контрольной группе составили 78,2% и 21,8%. В группе пациентов с атеросклерозом распределение частот генотипов выглядело следующим образом: АА=46%, АС=43%, СС=11%. Частота аллелей А и С составила 67,5% и 32,5%.

Распределение генотипов между группами лиц с атеросклерозом и контролем статистически значимы ( $\chi^2 = 5,29$ ;  $p = 0,02$ ) (табл. 5).

### Обсуждение

Мы провели систематический анализ литературы и баз данных для формирования списка полиморфных вариантов в генах микроРНК, подходящих для поиска ассоциации с риском развития атеросклероза. В связи

**Таблица 2.** Частоты генотипов полиморфных вариантов генов *MIR96* (rs13231740), *MIR758* (rs1885068), *MIR33a* (rs9620000) в группе пациентов с атеросклерозом и в контрольной группе

**Table 2.** Genotype frequencies of *MIR96* (rs13231740), *MIR758* (rs1885068), *MIR33a* (rs9620000) polymorphisms in the group of patients with atherosclerosis and in controls

Ген	SNP	Группа	p for HWE	$\chi^2$	NN	NP	PP <sup>c</sup>
<i>MIR33a</i>	rs9620000	Пациенты	0,56	0,35	50	39	11
		Контроль	0,21	1,59	88	12	3
<i>MIR758</i>	rs1885068	Пациенты	0,75	0,10	45	43	12
		Контроль	0,23	1,46	47	39	17
<i>MIR96</i>	rs13231740	Пациенты	0,01	0,94	46	43	11
		Контроль	0,25	1,32	66	29	8

**Примечание:** NN – гомозигота по нормальному аллелю; NP – гетерозигота; PP – гомозигота по минорному аллелю; статистически значимые различия по  $\chi^2$  (при  $p < 0,05$ )

**Таблица 3.** Частоты генотипов и аллелей *MIR33a* (rs9620000) T/C (с.2907 + 201T> C)

**Table 3.** *MIR33a* (rs9620000) T/C (с.2907 + 201T> C) genotype and allele frequencies

Генотипы	Атеросклероз	Контроль	$\chi^2$	p	ОШ	
	(n=100)	(n=103)			Знач.	95%ДИ
ТТ	0,500	0,854	25,59	4,0E-7	0,17	0,09 – 0,33
ТС	0,390	0,117			4,85	2,35 – 10,00
СС	0,110	0,029			4,12	1,11 – 15,24
Аллели						
Т	0,695	0,913	30,67	3,0E-8	0,22	0,12 – 0,39
С	0,305	0,087			4,58	2,59 – 8,10

**Примечание:** n – количество обследованных; p – уровень значимости; ОШ – отношение шансов;  $\chi^2$  – хи-квадрат.

с тем, что число таких SNP ограничено высокой консервативностью генов микроРНК, мы выбрали всего три полиморфных участка: rs13231740 в гене *MIR96*, rs1885068 в гене *MIR758*, rs9620000 в гене *MIR33a*, ассоциация которых продемонстрирована в нескольких исследованиях.

Из трех исследуемых полиморфных вариантов не выявлена ассоциация только rs1885068 *MIR758*: отсутствовали различия распределений генотипов по полиморфизму n.2086-912T> G гена *MIR758* у пациентов с атеросклерозом и в контрольной группе. Однако в ряде работ продемонстрирована ассоциация этого полиморфного локуса в популяции Азии [18]. По данным проекта «1000 геномов» наши результаты генотипирования в контрольной выборке совпадают с данными по европейской популяции (Т: 0,643 (647) G: 0,357 (359)), поэтому можно предположить, что отсутствие ассоциации rs1885068 с риском развития атеросклероза у жителей Ростовской области может быть связано с этническими различиями в частоте мутантного аллеля.

Одним из основных преимуществ нашего исследования были тщательно сформированные группы из представителей жителей Ростовской области, что исключает межпопуляционные различия, которые могут осложнить оценку функциональной значимости изучаемых полиморфизмов. Кроме того, каждый участник исследования предварительно прошел обследование, включая ультразвуграфию сонных артерий и биохимический анализ (липидограмма) [19].

Также в исследовании есть некоторые ограничения, во-первых, мы не принимали во внимание образ жизни и факторы окружающей среды, во-вторых, наш вывод нельзя распространять на другие этнические группы, в-третьих, необходимы дополнительные функциональные эксперименты, чтобы подтвердить результаты этого исследования.

Таким образом, генотип АС гена *MIR96* (rs13231740) (ОШ 1,92 95%ДИ 1,07 – 3,45; p=0,02) и генотипы ТС и СС гена *MIR33a* (rs9620000) (ОШ 4,85 95%ДИ 2,35 – 10,00; ОШ 4,12 95%ДИ 1,11-15,24

**Таблица 4.** Частоты генотипов и аллелей *MIR758* rs1885068 Т / G (n.2086-912Т> G)

**Table 4.** *MIR96* rs13231740 А/С (g.129775479А>С) genotype and allele frequencies

Генотипы	Атеросклероз	Контроль	$\chi^2$	p	ОШ	
	(n=100)	(n=103)			Знач.	95%ДИ
ТТ	0,450	0,456	0,15	0,7	0,97	0,56 – 1,69
ТG	0,430	0,379			1,24	0,71 – 2,17
GГ	0,120	0,165			0,69	0,31 – 1,53
Аллели						
Т	0,665	0,646	0,17	0,68	1,09	0,72 – 1,64
G	0,335	0,354			0,92	0,61 – 1,38

**Примечание:** n – количество обследованных; p – уровень значимости; ОШ – отношение шансов;  $\chi^2$  – хи-квадрат.

**Таблица 5.** Частоты генотипов и аллелей *MIR96* rs13231740 А / С (g.129775479А> С)

**Table 5.** Genotype and allele frequencies of *MIR96* rs13231740 А/С (g.129775479А>С)

Генотипы	Атеросклероз	Контроль	$\chi^2$	p	ОШ	
	(n=100)	(n=103)			Знач.	95%ДИ
АА	0.460	0.641	5.29	<b>0.02</b>	0.48	0.27 – 0.84
АС	0.430	0.282			1.92	1.07 – 3.45
СС	0.110	0.078			1.47	0.56 – 3.82
Аллели						
А	0.675	0.782	5.83	<b>0.02</b>	0.58	0.37 – 0.90
С	0.325	0.218			1.72	1.11 – 2.68

**Примечание:** n – количество обследованных; p – уровень значимости; ОШ – отношение шансов;  $\chi^2$  – хи-квадрат.

$p=4.0E-7$ ) ассоциированы с повышенным риском развития атеросклероза. Полиморфизм гена *MIR758* (rs1885068) не ассоциирован с развитием атеросклероза. Тем не менее, наши результаты нуждаются в дальнейшей проверке в будущих исследованиях с большим размером выборки и более разнообразными этническими группами.

### Литератур

1. Fan J., Watanabe T. Atherosclerosis: Known and unknown. *Pathol Int.* 2022;72(3):151-160.
2. Bartel D.P. MicroRNAs: target recognition and regulatory functions. *Cell.* 2009;136(2):215-233.
3. Tabas I., García-Cardeña G., Owens G.K. Recent insights into the cellular biology of atherosclerosis. *J Cell Biol.* 2015;209(1):13-22.
4. Pordzik J., Piszczak K., De Rosa S., et al. The Potential Role of Platelet-Related microRNAs in the Development of Cardiovascular Events in High-Risk Populations, Including Diabetic Patients: A Review. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2018;9:74.
5. Marquart T.J., Wu J., Lusis A.J., Baldán Á. Anti-miR-33 therapy does not alter the progression of atherosclerosis in low-density lipoprotein receptor-deficient mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2013;33(3):455-458.
6. Horie T., Baba O., Kuwabara Y., et al. MicroRNA-33 deficiency reduces the progression of atherosclerotic plaque in ApoE<sup>-/-</sup> mice. *J Am Heart Assoc.* 2012;1(6):e003376.
7. Zaiou M., Rihn B.H., Bakillah A. Epigenetic regulation of genes involved in the reverse cholesterol transport through interaction with miRNAs. *Front Biosci (Landmark Ed).* 2018;23(11):2090-2105.
8. Rotllan N., Ramírez C.M., Aryal B., Esau C.C., Fernández-Hernando C. Therapeutic silencing of microRNA-33 inhibits the progression of atherosclerosis in Ldlr<sup>-/-</sup> mice--brief report. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2013;33(8):1973-1977.
9. Rayner K.J., Moore K.J. MicroRNA control of high-density lipoprotein metabolism and function. *Circ Res.* 2014;114(1):183-192.
10. Price N.L., Rotllan N., Canfrán-Duque A., et al. Genetic Dissection of the Impact of miR-33a and miR-33b during the Progression of Atherosclerosis. *Cell Rep.* 2017;21(5):1317-1330.
11. Ramirez C.M., Dávalos A., Goedeke L., et al. MicroRNA-758 regulates cholesterol efflux through posttranscriptional repression of ATP-binding cassette transporter A1. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2011;31(11):2707-2714.
12. Mandolini C., Santovito D., Marcantonio P., et al. Identification of microRNAs 758 and 33b as potential modulators of ABCA1 expression in human atherosclerotic plaques. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2015;25(2):202-209.
13. Li B.R., Xia L.Q., Liu J., et al. miR-758-5p regulates cholesterol uptake via targeting the CD36 3'UTR. *Biochem Biophys Res Commun.* 2017;494(1-2):384-389.
14. Yang X., Liu H., Zhang Q., et al. MiR-96 promotes apoptosis of nucleus pulposus cells by targeting FRS2 [published correction appears in *Hum Cell.* 2020 Sep 8;]. *Hum Cell.* 2020;33(4):1017-1025.
15. Wang S., Li K. MicroRNA-96 regulates RGC-5 cell growth through caspase-dependent apoptosis. *Int J Clin Exp Med.* 2014;7(10):3694-3702.
16. Dong Y., Han L.L., Xu Z.X. Suppressed microRNA-96 inhibits iNOS expression and dopaminergic neuron apoptosis through inacti-

17. Нескубина О.М., Деревянчук Е.Г., Демидов С.И., Прокофьев В.Н., Авадиева Н.Э., Шкурят Т.П. Диагностическая значимость ультразвукового сканирования сонных артерий в режиме высокого разрешения для скрининга начальных проявлений атеросклероза жителей Ростовской области. *Валеология.* 2015;1:88-94.
18. Wang Y., Chen X., Lu Z., Lai C. Circ\_0093887 regulated ox-LDL induced human aortic endothelial cells viability, apoptosis, and inflammation through modulating miR-758-3p/BAMBI axis in atherosclerosis. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2022;81(4):343-358.
19. Тимофеева С.В., Нескубина О.М., Бутенко Е.В., Шкурят Т.П. Анализ межгенных взаимосвязей при раннем и позднем атеросклерозе в популяции Ростовской области. VII съезд Вавиловского общества генетиков и селекционеров, посвященный 100-летию кафедры генетики СПбГУ, и ассоциированные симпозиумы. Сборник тезисов. ООО «Издательство ВВМ» (Санкт-Петербург). 2019:767.

### References

1. Fan J., Watanabe T. Atherosclerosis: Known and unknown. *Pathol Int.* 2022;72(3):151-160.
2. Bartel D.P. MicroRNAs: target recognition and regulatory functions. *Cell.* 2009;136(2):215-233.
3. Tabas I., García-Cardeña G., Owens G.K. Recent insights into the cellular biology of atherosclerosis. *J Cell Biol.* 2015;209(1):13-22.
4. Pordzik J., Piszczak K., De Rosa S., et al. The Potential Role of Platelet-Related microRNAs in the Development of Cardiovascular Events in High-Risk Populations, Including Diabetic Patients: A Review. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2018;9:74.
5. Marquart T.J., Wu J., Lusis A.J., Baldán Á. Anti-miR-33 therapy does not alter the progression of atherosclerosis in low-density lipoprotein receptor-deficient mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2013;33(3):455-458.
6. Horie T., Baba O., Kuwabara Y., et al. MicroRNA-33 deficiency reduces the progression of atherosclerotic plaque in ApoE<sup>-/-</sup> mice. *J Am Heart Assoc.* 2012;1(6):e003376.
7. Zaiou M., Rihn B.H., Bakillah A. Epigenetic regulation of genes involved in the reverse cholesterol transport through interaction with miRNAs. *Front Biosci (Landmark Ed).* 2018;23(11):2090-2105.
8. Rotllan N., Ramírez C.M., Aryal B., Esau C.C., Fernández-Hernando C. Therapeutic silencing of microRNA-33 inhibits the progression of atherosclerosis in Ldlr<sup>-/-</sup> mice--brief report. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2013;33(8):1973-1977.
9. Rayner K.J., Moore K.J. MicroRNA control of high-density lipoprotein metabolism and function. *Circ Res.* 2014;114(1):183-192.
10. Price N.L., Rotllan N., Canfrán-Duque A., et al. Genetic Dissection of the Impact of miR-33a and miR-33b during the Progression of Atherosclerosis. *Cell Rep.* 2017;21(5):1317-1330.
11. Ramirez C.M., Dávalos A., Goedeke L., et al. MicroRNA-758 regulates cholesterol efflux through posttranscriptional repression of ATP-binding cassette transporter A1. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2011;31(11):2707-2714.
12. Mandolini C., Santovito D., Marcantonio P., et al. Identification of microRNAs 758 and 33b as potential modulators of ABCA1 expression in human atherosclerotic plaques. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2015;25(2):202-209.

13. Li B.R., Xia L.Q., Liu J., et al. miR-758-5p regulates cholesterol uptake via targeting the CD36 3'UTR. *Biochem Biophys Res Commun.* 2017;494(1-2):384-389.
14. Yang X., Liu H., Zhang Q., et al. MiR-96 promotes apoptosis of nucleus pulpous cells by targeting FRS2 [published correction appears in *Hum Cell.* 2020 Sep 8;:]. *Hum Cell.* 2020;33(4):1017-1025.
15. Wang S., Li K. MicroRNA-96 regulates RGC-5 cell growth through caspase-dependent apoptosis. *Int J Clin Exp Med.* 2014;7(10):3694-3702.
16. Dong Y., Han L.L., Xu Z.X. Suppressed microRNA-96 inhibits iNOS expression and dopaminergic neuron apoptosis through inactivating the MAPK signaling pathway by targeting CACNG5 in mice with Parkinson's disease. *Mol Med.* 2018;24(1):61.
17. Neskubina O.M., Derevjanchuk E.H., Demidov S.I., Prokofiev V.N., Avdeeva N.E., Shkurat T.P. Diagnosticheskaya znachimost' ul'trazvukovogo skanirovaniya sonnykh arteriy v rezhime vysokogo razresheniya dlya skrininga nachal'nykh proyavleniy ateroskleroza zhiteley Rostovskoy oblasti [Diagnostic value of ultrasound scanning of the carotid arteries in the high resolution mode for screening of early manifestations of atherosclerosis residents of the Rostov region]. *Valeologiya [Journal of Health and Life Sciences].* 2015;1:88-94. (In Russ.)
18. Wang Y., Chen X., Lu Z., Lai C. Circ\_0093887 regulated ox-LDL induced human aortic endothelial cells viability, apoptosis, and inflammation through modulating miR-758-3p/BAMBI axis in atherosclerosis. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2022;81(4):343-358.
19. Timofeeva S.V., Neskubina O.M., Butenko E.V., Shkurat T.P. Analiz mezhgennykh vzaimosvyazey pri rannem i pozdnem ateroskleroze v populyatsii Rostovskoy oblasti [Analysis of intergenic relationships in early and late atherosclerosis in the population of the Rostov region]. VII s"yezd Vavilovskogo obshchestva genetikov i selektsionerov, posvyashchenny 100-letiyu kafedry genetiki SPBGU, i assotsiirovannyye simpoziumy. Sbornik tezisov. OOO "Izdatel'stvo VVM" (Sankt-Peterburg) [VII International congress and associate symposiums of Vavilov society of geneticists and breeders on the 100th anniversary of the department of genetics of Saint Petersburg State University. Book of abstracts. WM Publishing Ltd.]. 2019:767. (In Russ.)