

Дифференциальная экспрессия некодирующих РНК у пациентов с хронической обструктивной болезнью легких

Маркелов В.А.^{1,2}, Ахмадишина Л.З.¹, Насибуллин Т.Р.¹, Азнабаева Ю.Г.², Кочетова О.В.^{1,2}, Корытина Г.Ф.^{1,2}

1 – Институт биохимии и генетики – обособленное структурное подразделение
Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук
450054, г. Уфа, Россия, проспект Октября, д. 7

2 – Башкирский государственный медицинский университет
450008, г. Уфа, Россия, ул. Ленина, д. 3

Хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) – многофакторное хроническое воспалительное заболевание, затрагивающее дистальные отделы дыхательных путей и легочную паренхиму с развитием эмфиземы легких. Исследованы уровни экспрессии некодирующих РНК в мононуклеарных клетках периферической крови (МНК) и легочной ткани пациентов с ХОБЛ: днРНК TP53TG1, LINC00342, H19, MALAT1, DNM3OS, MEG3, LUCAT1, CDKN2B-AS1, SNHG5, миРНК miR-18a-5p, miR-200a-3p, miR-34a-5p, miR-126-3p, miR-218-5p, miR-29a-3p, miR-150-5p, miR-570-3p, miR-155-5p, miR-15b-5p, miR-141-3p, miR-379-5p. Образцы легочной ткани и крови были получены от 141 пациента с ХОБЛ и 138 здоровых индивидов. Уровни экспрессии генов были проанализированы методом RT-qPCR. Выявлены особенности профиля экспрессии 5 днРНК: MALAT1, TP53TG1, LINC00342, DNM3OS, LUCAT1 и 9 миРНК: miR-155-5p, miR-141-3p, miR-379-5p, miR-18a-5p, miR-34a-5p, miR-126-3p, miR-218-5p, miR-29a-3p, miR-150-5p в МНК больных ХОБЛ. В легочной ткани спектр дифференциально экспрессирующихся транскриптов включал 4 днРНК: LUCAT1, CDKN2B-AS1, DNM3OS, TP53TG1 и 7 миРНК: miR-155-5p, miR-15b-5p, miR-18a-5p, miR-200a-3p, miR-34a-5p, miR-126-3p, miR-218-5p. *In silico* анализ обогащения сигнальных путей показал, что транскрипты, дифференциально экспрессирующиеся у больных ХОБЛ, вовлечены в важнейшие клеточные процессы, включая апоптоз, антиоксидантный ответ на окислительный стресс, воспаление и клеточное старение.

Ключевые слова: хроническая обструктивная болезнь легких, некодирующие РНК, клеточное старение.

Для цитирования: Маркелов В.А., Ахмадишина Л.З., Насибуллин Т.Р., Азнабаева Ю.Г., Кочетова О.В., Корытина Г.Ф. Дифференциальная экспрессия некодирующих РНК у пациентов с хронической обструктивной болезнью легких. *Медицинская генетика* 2025; 24(4): 79-81.

Автор для корреспонденции: Корытина Г.Ф.; e-mail: guly_kory@mail.ru

Финансирование. Исследование поддержано грантом Российского научного фонда № 23-25-00019.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила: 15.04.2025

Принята: 10.05.2025

Differential expression of non-coding RNAs in patients with chronic obstructive pulmonary disease

Markelov V.A.^{1,2}, Akhmadishina L.Z.¹, Nasibullin T.R.¹, Aznabaeva Y.G.², Kochetova O.V.^{1,2}, Korytina G.F.^{1,2}

1 – Institute of Biochemistry and Genetics – Subdivision of the Ufa Federal Research Centre of the Russian Academy of Sciences (IBG UFRC RAS)
7, Pr. Oktyabrya, Ufa, 450054, Russian Federation

2 – Bashkir State Medical University
3, Lenin st., Ufa, Russian Federation

Chronic obstructive pulmonary disease (COPD) is a multifactorial heterogeneous chronic inflammatory disease that affects distal airways (bronchi and bronchioles) and lung parenchyma and leads to pulmonary emphysema. We investigated the expression levels of selected genes in peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) and lung tissue from patients with COPD: lncRNAs – TP53TG1, LINC00342, H19, MALAT1, DNM3OS, MEG3, LUCAT1, CDKN2B-AS1, SNHG5, miRNAs – miR-18a-5p, miR-200a-3p, miR-34a-5p, miR-126-3p, miR-218-5p, miR-29a-3p, miR-150-5p, miR-570-3p, miR-155-5p, miR-15b-5p, miR-141-3p, miR-379-5p. Lung tissue and blood samples were collected from 141 patients and 138 healthy controls. Gene expression levels were analyzed by RT-qPCR. Our study identified significant differential expression in PBMCs 5 lncRNAs MALAT1, TP53TG1, LINC00342, DNM3OS, LUCAT1; 9 miRNAs: miR-155-5p, miR-141-3p, miR-379-5p, miR-18a-5p, miR-34a-5p, miR-126-3p, miR-218-5p, miR-29a-3p, miR-150-5p. In lung tissue significant expression changes were observed in 4 lncRNAs: LUCAT1, CDKN2B-AS1, DNM3OS, TP53TG1; 7 miRNAs: miR-155-5p, miR-15b-5p, miR-18a-5p, miR-200a-3p, miR-34a-5p, miR-126-3p, miR-218-5p. *In silico* pathway enrichment analysis indicates that RNAs differentially expressed in COPD patients are implicated in critical cellular processes, including apoptosis, antioxidant response, inflammation, and cellular senescence.

Keywords: chronic obstructive pulmonary disease, non-coding RNAs, cellular senescence.

For citation: Markelov V.A., Akhmadishina L.Z., Nasibullin T.R., Aznabaeva Y.G., Kochetova O.V., Korytina G.F. Differential expression of non-coding RNAs in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Medical genetics [Medicinskaya genetika]*. 2025; 24(4): 79-81. (In Russ.)

Corresponding author: Korytina G.F.; e-mail: guly_kory@mail.ru

Funding. The research was supported by the grant of the Russian Science Foundation No. 23-25-00019.

Conflict of Interest. The authors declare no conflict of interest.

Received: 15.04.2025

Accepted: 10.05.2025

Введение

Хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) — многофакторное заболевание дыхательной системы, затрагивающее дистальные отделы респираторных путей и легочную паренхиму с развитием эмфиземы легких. ХОБЛ является главной причиной роста смертности в мире, что объясняет постоянный процесс поиска новых подходов к диагностике, лечению [1]. На начальных этапах ХОБЛ протекает без выраженных симптомов, постепенно снижаются функция легочного дыхания, жизненная емкость легких [2]. Для ранней диагностики ХОБЛ и выявления предрасположенности к быстрому прогрессированию заболевания актуальным представляется поиск неинвазивных биомаркеров [3]. С целью оценки вклада генов, вовлеченных в ключевые сигнальные каскады, связанные с клеточным старением, в молекулярный патогенез ХОБЛ проведена оценка профиля экспрессии панели днРНК TP53TG1, LINC00342, H19, MALAT1, DNМ3ОS, MEG3, LUCAT1, CDKN2B-AS1, SNHG5 и микроРНК miR-18a-5p, miR-200a-3p, miR-34a-5p, miR-126-3p, miR-218-5p, miR-29a-3p, miR-150-5p, miR-570-3p, miR-155-5p, miR-15b-5p, miR-141-3p, miR-379-5p в мононуклеарных клетках крови (МНК) и легочной ткани больных с ХОБЛ.

Методы

Исследование проводилось в соответствии со стандартами надлежащей клинической практики и принципами Хельсинкской декларации 1964 года и ее последующими изменениями или сопоставимыми нормами этики, одобрено комитетом по этике ИБГ УФИЦ РАН (протокол №19, от 01.11.2022). Были сформированы группы: больные ХОБЛ (n=141), контрольная группа (n=138). С использованием геномных баз данных KEGG, TarBase v8.0, Lncrna2target V3.0 проведен предварительный биоинформационный анализ *in silico* для идентификации сети взаимодействующих миРНК, днРНК. Сформирована панель, которая включала 9 днРНК и 12 миРНК. Тотальная РНК выделялась с использованием реактива TRIzol reagent (www.invitrogen.com). Синтез кДНК проводили

с использованием набора First Strand cDNA Synthesis Kit for RT-qPCR (Thermo Fisher Scientific Inc.), гексамерного рандомного праймера для днРНК и специфического stem-loop ОТ-праймера для каждой миРНК. Количественную ОТ-ПЦР проводили в 96-луночной планшете с использованием qPCRmix-HS Master Mix (Evrogen, Россия). Для определения уровня целевых генов использовали наборы ген-специфических праймеров и флуоресцентных зондов, дизайн и синтез которых осуществлен компанией ООО «ДНК-Синтез» (Россия). Ген *B2M* использовали для нормализации уровней экспрессии днРНК и *SNORD48* — для миРНК. ОТ-ПЦР проводили в трех повторах для каждого образца со следующими условиями: 3 мин при 95°C для начальной активации ПЦР, 15 с при 95°C — денатурация и ПЦР-амплификация в течение 1 мин при 60°C (45 циклов). Статистический анализ был проведен при помощи программного обеспечения GraphPad Prism 9 Software (GraphPad Software). Относительный уровень экспрессии оценивали с помощью метода $\Delta\Delta C_t$ [5].

Результаты и обсуждение

Установлено снижение уровня экспрессии днРНК TP53TG1 (Fch=0,1532, p=0,0001), повышение экспрессии MALAT1 (FCh=6,983, p=0,0001) и LINC00342 (FCh=2,874, p=0,029) в МНК у больных. В легочной ткани было выявлено снижение уровня экспрессии днРНК TP53TG1 (FCh=0,41, p=0,05) и повышение уровня экспрессии CDKN2B-AS1 (FCh=4,655, p=0,0365). Уровень экспрессии DNМ3ОS в МНК больных был снижен (FCh=0,5176, p=0,0076), в легочной ткани наблюдалось повышение уровня ее экспрессии (FCh=2,89, p=0,027). В легочной ткани больных выявлено повышение уровня экспрессии днРНК LUCAT1 (FCh=31,695, p=0,0013). У больных ХОБЛ отмечено одновременное увеличение уровня экспрессии в МНК и легочной ткани четырех миРНК miR-155-5p (FCh=2,1, p=0,03 и FCh=3,9, p=0,04), miR-18a-5p (FCh=14,08, p=0,0001 и FCh=8,776, p=0,0001), miR-34a-5p (FCh=2,012, p=0,0038 и FCh=14,77, p=0,0002), miR-

126-3p (FCh=2,957, $p=0,0005$ и FCh=5,02, $p=0,0043$). Уровень экспрессии miR-218-5p у больных был снижен как в МНК (FCh=0,053, $p=0,043$), так и в легочной ткани (FCh=0,028, $p=0,0001$). Понижение уровня экспрессии miR-200a-3p было показано только в легочной ткани больных (FCh=0,13, $p=0,054$). В легочной ткани отмечено повышение уровня экспрессии miR-15b-5p (FCh=6,1, $p=0,006$), в то время как miR-29a-3p (FCh=13,195, $p=0,0001$, miR-150-5p (FCh=5,744, $p=0,0001$), miR-141-3p (FCh=6,55, $p=0,0001$) и miR-379-5p (FCh=28,32, $p=0,0001$) – только в МНК. По результатам множественного регрессионного и ROC-анализов получена высокоинформативная прогностическая модель развития ХОБЛ, которая включает одновременную оценку уровня экспрессии четырех миРНК miR18a-5p, miR-200a-3p, miR-218-5p и miR-29a-3p (AUC=0.94, чувствительность 89,4%, специфичность 88,2%). Проведен *in silico* анализ взаимодействия днРНК-миРНК-мРНК и анализ обогащения, который позволил выявить сигнальные пути, на которые нацелены изученные транскрипты. Наиболее значимые кластеры включали сигнальные пути PI3K-Akt, Wnt, апоптоза, FoxO, mTOR, что указывает на активную роль процессов клеточного старения в молекулярном патогенезе ХОБЛ [5, 6].

Литература

1. Чучалин А.Г., Авдеев С.Н., Айсанов З.Р. и др. Хроническая обструктивная болезнь легких: федеральные клинические реко-

мендации по диагностике и лечению. *Пульмонология*. 2022;32(3):356-392.

2. Agustí A., Celli B.R., Criner G.J. et al. Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease 2023 Report: GOLD Executive Summary. *Eur Respir J*. 2023;61(4):2300239.
3. Barnes P.J., Baker J., Donnelly L.E. Cellular Senescence as a Mechanism and Target in Chronic Lung Diseases. *Am J Respir Crit Care Med*. 2019;200(5):556-564.
4. Livak K.J., Schmittgen T.D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2⁻(-Delta Delta C(T)) Method. *Methods*. 2001;25(4):402-408.
5. Puvvula P.K. LncRNAs Regulatory Networks in Cellular Senescence. *Int J Mol Sci*. 2019;20(11):2615.
6. Zhang P., Wu W., Chen Q., Chen M. Non-Coding RNAs and their Integrated Networks. *J Integr Bioinform*. 2019;16(3):20190027.

References

1. Chuchalin A.G., Avdeev S.N., Aisanov Z.R., et al. Khronicheskaya obstruktivnaya bolezni' legkikh: federal'nyye klinicheskiye rekomendatsii po diagnostike i lecheniyu [Federal guidelines on diagnosis and treatment of chronic obstructive pulmonary disease]. *Pul'monologiya [Pulmonologiya]*. 2022;32(3):356-392. (In Russ.)
2. Agustí A., Celli B.R., Criner G.J. et al. Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease 2023 Report: GOLD Executive Summary. *Eur Respir J*. 2023;61(4):2300239.
3. Barnes P.J., Baker J., Donnelly L.E. Cellular Senescence as a Mechanism and Target in Chronic Lung Diseases. *Am J Respir Crit Care Med*. 2019;200(5):556-564.
4. Livak K.J., Schmittgen T.D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2⁻(-Delta Delta C(T)) Method. *Methods*. 2001;25(4):402-408.
5. Puvvula P.K. LncRNAs Regulatory Networks in Cellular Senescence. *Int J Mol Sci*. 2019;20(11):2615.
6. Zhang P., Wu W., Chen Q., Chen M. Non-Coding RNAs and their Integrated Networks. *J Integr Bioinform*. 2019;16(3):20190027.