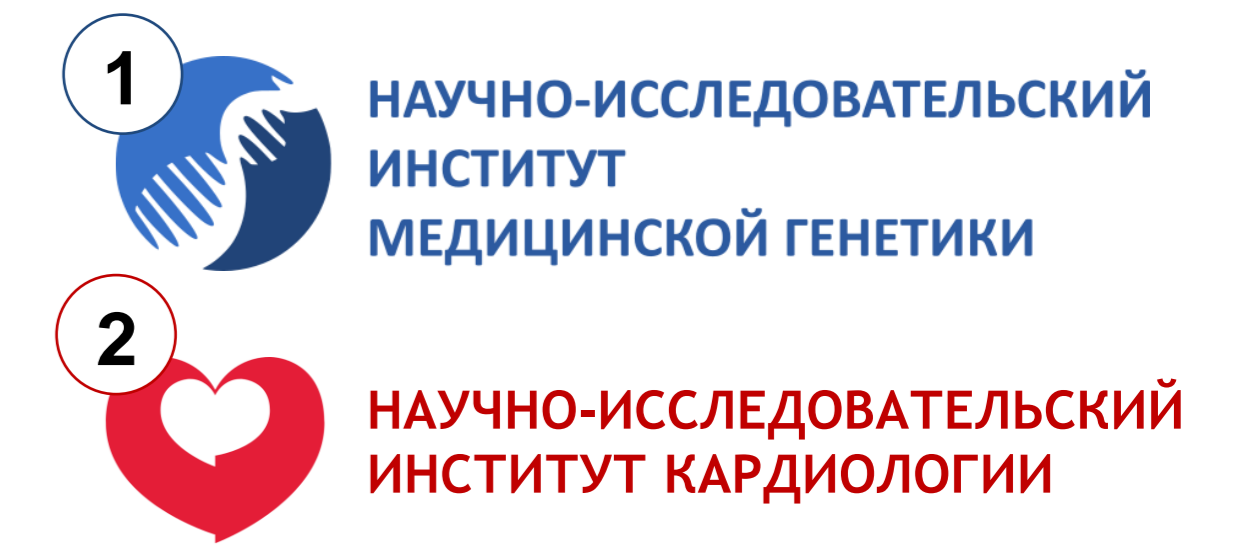


# Особенности метилирования CpG-сайтов в области гена микроРНК *MIR10B* и гена транскрипционного фактора *TWIST1* при атеросклерозе

Марков А.В.<sup>1\*</sup>, Бабушкина Н.П.<sup>1</sup>, Голубенко М.В.<sup>1</sup>, Салахов Р.Р.<sup>1</sup>, Зарубин А.А.<sup>1</sup>, Слепцов А.А.<sup>1</sup>, Королёва Ю.А.<sup>1</sup>, Шарыш Д.В.<sup>1</sup>, Муслимова Э.Ф.<sup>2</sup>, Афанасьев С.А.<sup>2</sup>, Кузнецов М.С.<sup>2</sup>, Козлов Б.Н.<sup>2</sup>, Назаренко М.С.<sup>1</sup>



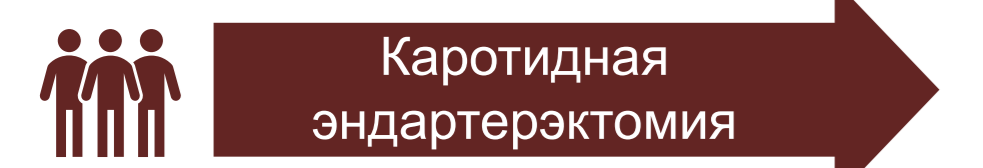
\* e-mail: anton.markov@medgenetics.ru

**Актуальность.** МикроРНК miR-10b задействована в ключевых патологических процессах на разных этапах развития атеросклероза (дисфункции эндотелия, регуляции апоптоза и пролиферации гладкомышечных клеток, функциональной несостоятельности макрофагов). Ген *MIR10B* локализован в CpG-островке и его экспрессия регулируется транскрипционным фактором *TWIST1*, который также имеет промоторный CpG-островок. В связи с этим, предполагается регуляторная роль метилирования данных генов в функционировании miR-10b при развитии атеросклероза у человека.

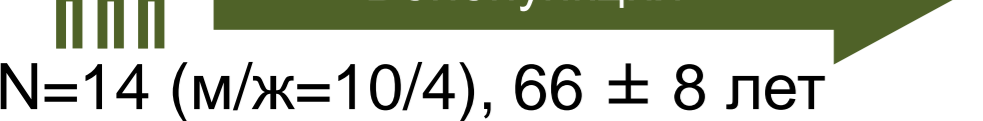
**Цель исследования.** Охарактеризовать метилирование генов *MIR10B* и *TWIST1* в клетках кровеносных сосудов и лейкоцитах крови при атеросклерозе.

**Материал и методы.** От пациентов с атеросклерозом сонных артерий (СА) получены парные образцы атеросклеротических бляшек СА (САБ), прилежащих тканей интактной СА (САН), больших подкожных вен (БПВ) и лейкоцитов крови (ЛКБ). От клинически здоровых лиц сравнимого возраста получены лейкоциты крови (ЛКЗ). Оценку метилирования CpG-сайтов проводили методом бисульфитного секвенирования ампликонов.

• Пациенты с атеросклерозом  
N=22 (м/ж=17/5), 65 ± 7 лет

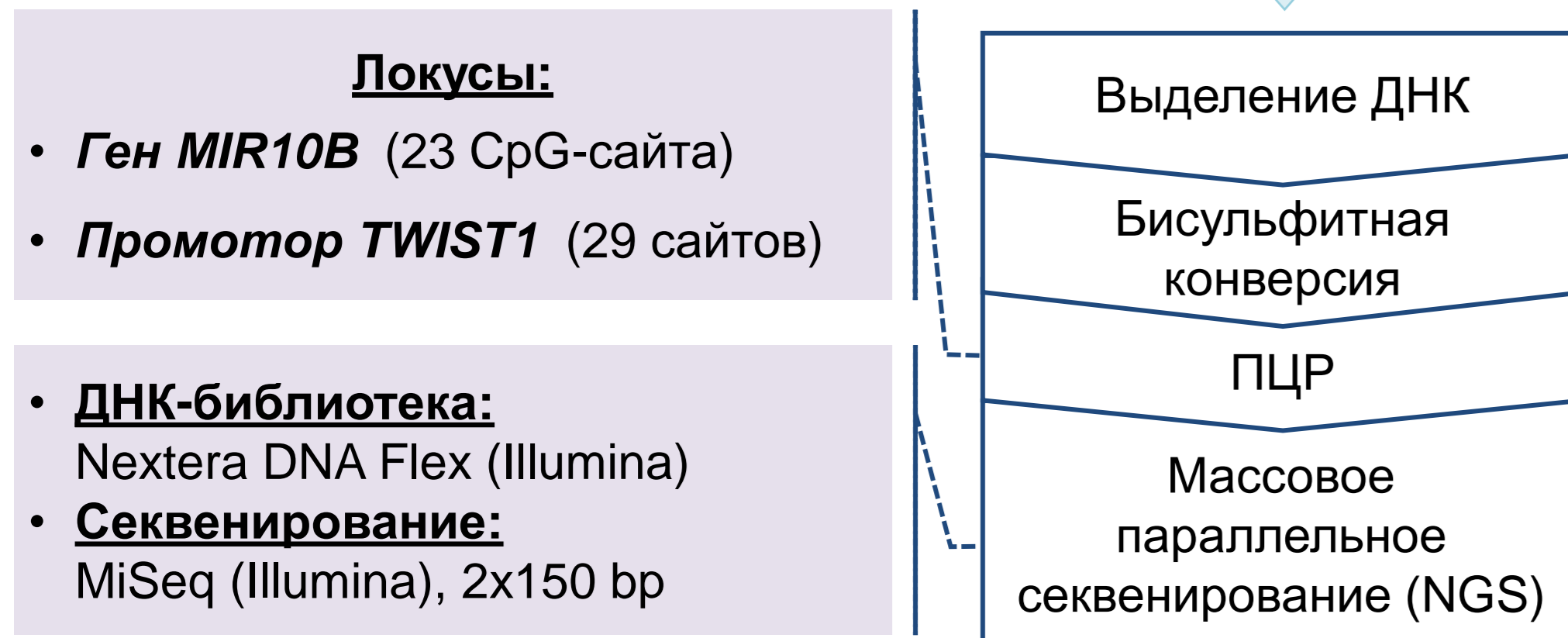


• Здоровые индивиды  
N=14 (м/ж=10/4), 66 ± 8 лет

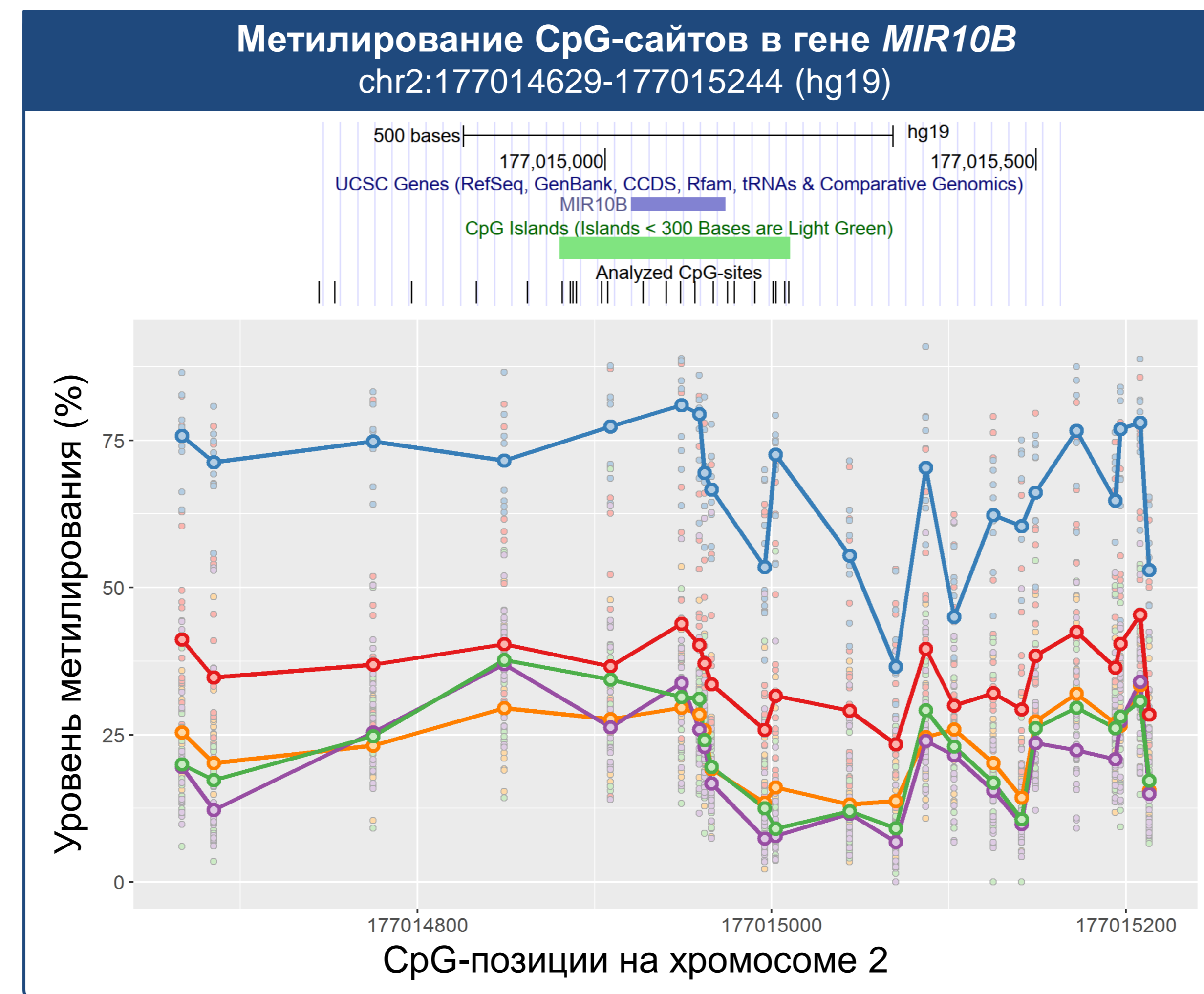


- Атеросклеротические бляшки (САБ)
- Интактные артерии (САН)
- Большая подкожная вена (БПВ)
- Лейкоциты крови пациентов (ЛКБ)
- Лейкоциты крови здоровых индивидов (ЛКЗ)

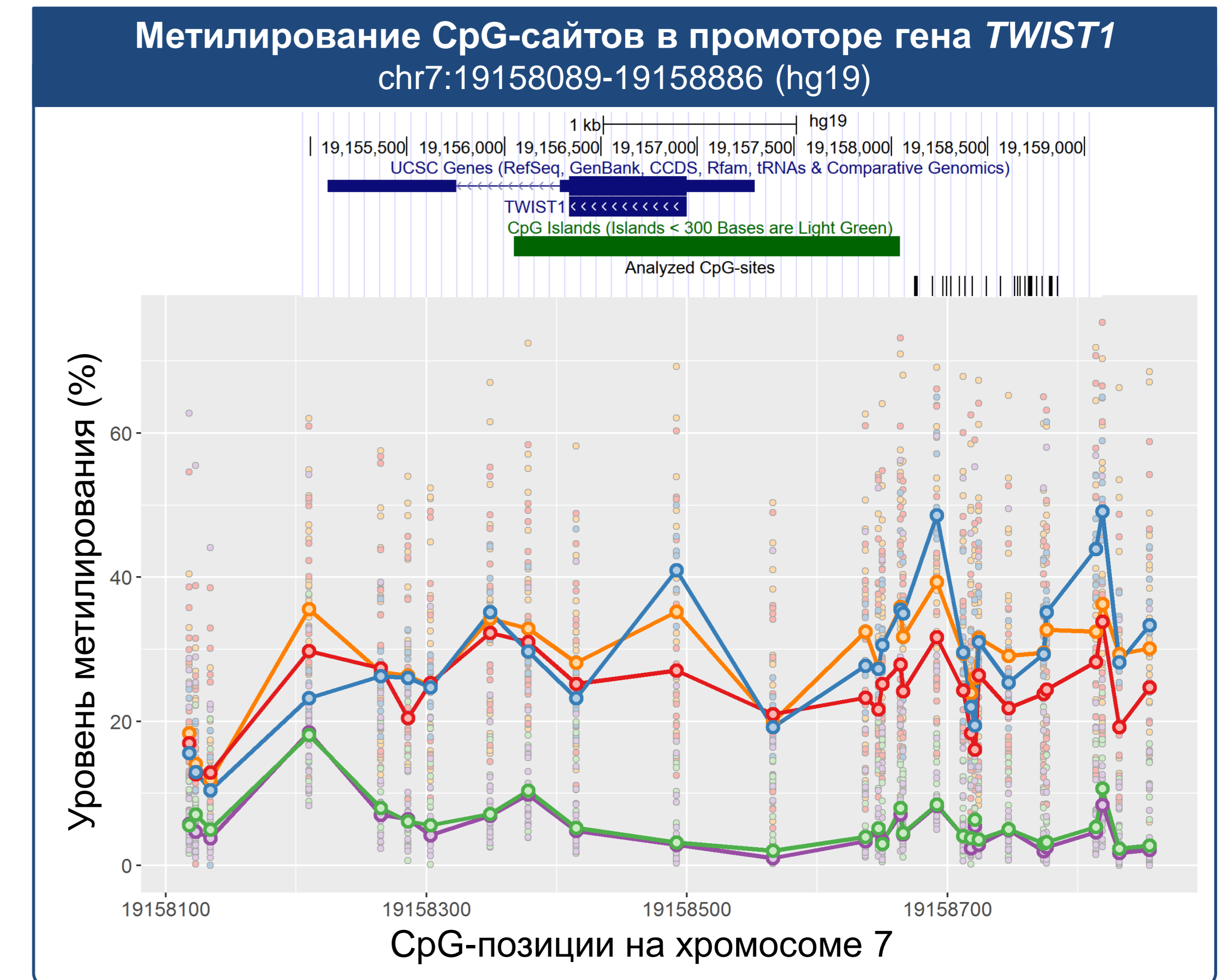
Таргетное бисульфитное секвенирование



**Результаты.** CpG-островок, в котором локализуется ген *MIR10B*, имел высокий уровень метилирования в образцах БПВ (средний уровень метилирования 65±8%), что было значительно выше (p<0,01) его гипометилированного состояния в образцах САБ (24±7%) и ЛКБ (23±9%) пациентов и аналогичного показателя в группе ЛКЗ (23±6%). Гипометилирование CpG-островка в САБ соотносится с данными о повышении экспрессии miR-10b в развитых атеросклеротических бляшках у человека. Образцы САН имели промежуточный уровень метилирования (40±17%) и подразделялись на 2 кластера – с «веноподобным» и «лейкоцитоподобным» профилями метилирования *MIR10B*. Такая картина может быть связана с разной степенью инфильтрации лейкоцитами стенки артерии при воспалении и постепенном развитии атеросклеротической бляшки. Транскрипционный фактор *TWIST1* является одним из механочувствительных регуляторов miR-10b, играющих важную роль в нормальном функционировании эндотелия.



Для CpG-островка в области гена *TWIST1* была характерна выраженная тканеспецифичность: уровень метилирования варьировал только между тканями кровеносных сосудов (САБ, САН и БПВ, в среднем – 28-30%) и лейкоцитами крови (ЛКЗ и ЛКБ, в среднем – 9-10%; p<0,01).



**Выводы.** Ген *MIR10B* гипометилирован в атеросклеротических бляшках и лейкоцитах крови, вариабельно метилирован в интактных артериях и гиперметилирован в венах, что свидетельствует о дифференциальной доступности для транскрипционных факторов. Эпигенетическое состояние гена одного из его регуляторов *TWIST1* остается тканеспецифичным и относительно постоянным в кровеносных сосудах, независимо от развития атеросклеротического поражения.

Исследование выполнено в рамках Госзадания РАН «Интеграция геномных и эпигеномных подходов в изучении патогенетики коморбидных многофакторных болезней человека»