

ЭКСПРЕССИЯ микроРНК miR-29A, miR-30C И miR-150 В ОТДАЛЕННЫЕ СРОКИ ПОСЛЕ ХРОНИЧЕСКОГО РАДИАЦИОННОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ

© 2024 г. М. А. Янишевская^{1,*}, Е. А. Блинова^{1,2}, А. В. Аклеев^{1,2}

¹Уральский научно-практический центр радиационной медицины ФМБА России, Челябинск, 454141 Россия

²Челябинский государственный университет, Челябинск, 454001 Россия

*e-mail: yanishevskaya@urcrm.ru

Поступила в редакцию 08.05.2024 г.

После доработки 27.05.2024 г.

Принята к публикации 05.06.2024 г.

С каждым годом все больше данных демонстрируют, что уровни экспрессии микроРНК могут быть значительно изменены после острого радиационного воздействия, а сами микроРНК играют важную роль в клеточном ответе на ионизирующее излучение. Однако регуляция экспрессии микроРНК после хронического радиационного воздействия в диапазоне малых и средних доз мало изучена. В настоящей работе методом ПЦР в реальном времени проведен анализ экспрессии зрелых микроРНК miR-29a, miR-30c, miR-150 в цельной крови у 81 человека в отдаленные сроки после хронического низкоинтенсивного радиационного воздействия. Средний возраст обследуемых людей составил 72 года, накопленные дозы облучения красного костного мозга (ККМ), а также тимуса и периферических лимфоидных органов находились в диапазоне от 2,13 до 1867,55 мГр и от 0,18 до 488,79 мГр соответственно. Спустя более 70 лет после начала радиационного воздействия у облученных людей обнаружено статистически значимое, зависимое от накопленной дозы облучения ККМ, а также тимуса и периферических лимфоидных органов, снижение экспрессии микроРНК miR-30c.

Ключевые слова: микроРНК, экспрессия, ПЦР-РВ, р. Теча, низкоинтенсивное хроническое облучение, радиационное воздействие.

DOI: 10.31857/S0016675824110085 **EDN:** WBDBLQ

В течение трех последних десятилетий активно исследуются некодирующие РНК, в частности микроРНК, способные контролировать широкий спектр биологических процессов посредством посттранскрипционной регуляции экспрессии генов [1]. Оказывая влияние на дестабилизацию мРНК и/или репрессию трансляции, микроРНК играют определенную роль в патогенезе различных заболеваний, контролируя экспрессию более половины всех мРНК человека [2]. В дополнение к исследованиям по поиску связи микроРНК с различными патологическими состояниями было установлено изменение уровней экспрессии микроРНК при воздействии ионизирующего излучения (ИИ).

В контексте ответа микроРНК на радиационное воздействие уже сегодня существует множество данных, полученных преимущественно в результате исследований *in vitro*, описывающих радиосенсибилизирующие или радиозащитные функции отдельных микроРНК, которые реагируют на

воздействие ИИ в острых, клинически значимых дозах [3]. Так, радиационно-индукрованные изменения уровня экспрессии некоторых микроРНК были продемонстрированы в различных типах клеток человека и модельных животных [4–8]. Позже было установлено, что микроРНК играют значительную роль в радиационном ответе клеток, регулируя соответствующие гены-мишени, участвующие в различных клеточных процессах, таких как reparация повреждений ДНК, контроль сверочных точек клеточного цикла, апоптоз, аутофагия и окислительный стресс [9]. При этом обращает на себя внимание, что в мировой литературе нет данных по экспрессии микроРНК при хроническом низкоинтенсивном воздействии у человека.

Ранее нами было показано, что у хронически облученных жителей прибрежных сел р. Течи спустя 70 и более лет после начала радиационного воздействия, в период реализации канцерогенных эффектов, регистрировались изменения интенсивности апоптотической гибели лимфоцитов

периферической крови [10], а также изменения транскрипционной активности апоптотических генов, которые сопровождались снижением относительного содержания мРНК гена *BCL-2* и увеличением относительного содержания мРНК гена *BAX* [11].

Учитывая роль микроРНК в регуляции экспрессии генов, а также способность эпигенетических модификаций сохраняться достаточно длительное время после радиационного воздействия [12], целью настоящей работы было исследование профилей экспрессии зрелых микроРНК miR-29a, miR-30c, miR-150, генные мишени которых принимают непосредственное участие в реализации радиационно-индуцированных эффектов, в частности в регуляции клеточного цикла и апоптоза.

Настоящая работа является продолжением исследований экспрессии микроРНК у облученных на Южном Урале людей. В предыдущем исследовании [13] было установлено статистически значимое изменение экспрессии микроРНК miR-16, miR-181a и miR-125b в группе лиц с накопленной дозой облучения красного костного мозга (ККМ), превышающей 70 мГр.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Характеристика исследуемых групп

Исследование экспрессии зрелых микроРНК miR-29a, miR-30c, miR-150 в цельной крови проводилось у людей, проживавших в период с 1950 по 1960 г. в одном из 41 сел, расположенных на побережье р. Течи, и подвергавшихся хроническому низкоинтенсивному радиационному воздействию вследствие плановых или аварийных сбросов радиоактивных отходов радиохимическим заводом ПО «Маяк» в реку [14]. Дозы облучения ККМ

были рассчитаны индивидуально с использованием дозиметрической системы Techa River Dosimetry System (TRDS 2016) [15].

Общее число обследованных для оценки экспрессии микроРНК составило 81 человек, которые позже были поделены на две группы (основная группа и группа сравнения). В основную группу вошли 56 человек. Группу сравнения составили 25 человек, проживающих в сходных социально-экономических условиях, значения накопленной дозы облучения ККМ которых не превышали 70 мГр (что соответствует фоновому уровню) [16]. Подробная характеристика обследуемых групп представлена в табл. 1.

Исследуемые группы сопоставимы по возрасту и этническому составу. Обе группы представлены преимущественно пожилыми людьми. В основной группе преобладали женщины, тогда как в группе сравнения мужчины и женщины были представлены примерно в равных долях. Поскольку современные данные демонстрируют возраст-зависимое изменение экспрессии некоторых микроРНК [17], связанное прежде всего с возникновением возраст-ассоциированных заболеваний [18], в настоящем исследовании группы обследуемых лиц были выровнены по возрасту ($p = 0,08$).

Выделение РНК

Цельную кровь для оценки профилей экспрессии микроРНК забирали из локтевой вены в стерильные вакуумные пробирки Tempus Blood RNA Collection Tubes (Thermo Scientific™, США). Экстракция суммарной РНК, среди которой находились зрелые микроРНК, осуществлялась с использованием коммерческого набора GeneJET Stabilized and Fresh Whole Blood RNA Kit (Thermo Scientific™). Количественные и качественные характеристики выделенных образцов оценивали

Таблица 1. Характеристика исследуемых групп по оценке относительного содержания микроРНК

Характеристика групп		Основная группа $N = 56$	Группа сравнения $N = 25$
Возраст на момент обследования, лет: $M \pm SE$ (min–max)		72.68 ± 0.75 (63–85)	70.12 ± 1.33 (62–87)
Пол, N (%)	мужчины женщины	22 (39.00%) 34 (61.00%)	13 (52.00%) 12 (48.00%)
Национальность, N (%)	русские татары/башкиры	26 (46.40%) 30 (53.60%)	16 (64.00%) 9 (36.00%)
Накопленные дозы облучения ККМ, мГр: $M \pm SE$ (min–max)		652.74 ± 59.36 (86.72 – 1867.55)	29.10 ± 4.07 (2.13–67.98)
Накопленные дозы облучения тимуса и периферических лимфоидных органов, мГр: $M \pm SE$ (min–max)		95.57 ± 11.85 (3.46–488.79)	11.02 ± 2.20 (0.18–33.33)

Таблица 2. Последовательности шпилькообразных праймеров исследуемых микроРНК

МикроРНК	Последовательности праймеров (5'→3')	Идентификатор в miRBase
miR-150-5p	GTCGTATCCAGTGCAGGGTCCGAGGTATTGCACT GGATACGACCACTGG	MIMAT0000451
miR-29a-3p	GTCGTATCCAGTGCAGGGTCCGAGGTATTGCACT GGATACGACTAACCG	MIMAT0000086
miR-30c-5p	GTCGTATCCAGTGCAGGGTCCGAGGTATTGCACT GGATACGACGCTGAG	MIMAT0000244

Таблица 3. Последовательности праймеров и температурно-временной режим ПЦР в реальном времени для микроРНК

МикроРНК	Последовательности праймеров (5'→3')	Условия ПЦР-РВ
miR-150-5p	F: TATCCAGTGCAGGGTCCGA R: TCTCCCAACCCTTGTAC P: FAM-CGCACGGATACGACCACTGG-BHQ1	1. 95°C – 3 мин 2. 95°C – 15 с } 3. 60°C – 1 мин* } 50 x
miR-29a-3p	F: TATCCAGTGCAGGGTCCGA R: TAGCACCATCTGAAATC P: FAM-TTCGCACGGATACGACTAACCG-BHQ1	1. 95°C – 3 мин 2. 95°C – 15 с } 3. 60°C – 1 мин* } 50 x
miR-30c-5p	F: TATCCAGTGCAGGGTCCGA R: TGTAACACATCCTACACT P: FAM-TCGCACGGATACGACGCTG-BHQ1	1. 95°C – 3 мин 2. 95°C – 15 сек } 3. 60°C – 1 мин* } 50 x

Примечание. F – прямой праймер; R – обратный праймер; P – зонд; * – детекция сигнала флуоресценции.

спектрофотометрическим методом с использованием анализатора NanoDrop 2000 (Thermo Scientific™).

с использованием смеси 5X qPCRmix-HS (Евроген). Праймеры и зонды синтезированы ООО «ДНК-СИНТЕЗ». Для нормализации данных экспрессии микроРНК использовали среднее значение Ct малой ядрышковой РНК (мяРНК) RNU48 (U48). Данные полученной экспрессии анализировались с помощью метода $2^{-\Delta\Delta Ct}$ [19].

Обратная транскрипция

Синтез кДНК на матрице РНК проводился отдельным этапом с использованием коммерческого набора реактивов MMLV RT Kit («Евроген», Россия) и специфических шпилькообразных праймеров (ООО «ДНК-СИНТЕЗ», Россия). Температурный режим синтеза кДНК исследуемых образцов микроРНК, проводимый на амплификаторе Veriti (AppliedBiosystems, США), был следующим: 16°C/20 мин, 42°C/20 мин, 85°C/5 мин, лед/5 мин.

Последовательности шпилькообразных праймеров, используемых для проведения обратной транскрипции (OT), представлены в табл. 2.

Температурный режим и последовательности праймеров микроРНК для ПЦР-РВ представлены в табл. 3.

ПЦР-РВ

Относительную экспрессию зрелых микроРНК оценивали с помощью ПЦР в реальном времени

Статистический анализ

Статистическую обработку результатов проводили с использованием программных комплексов

Statistica 12.0 (StatSoft, Inc., США) и SigmaPlot (SYSTAT Software; США).

Проверку нормальности распределения количественных показателей проводили с помощью критерия Колмогорова–Смирнова. Сравнение экспрессии микроРНК в исследуемых группах проводили с использованием *U*-критерия Манна–Уитни. Корреляционный анализ с целью поиска связи фактора радиационной (доза облучения ККМ, а также тимуса и периферических лимфоидных органов) и нерадиационной (пол, национальность и возраст на момент исследования) природы с уровнем экспрессии зрелых микроРНК проводили путем расчета коэффициентов ранговой корреляции по Спирмену (*Rs*). Статистически значимыми считались вероятности ошибки менее 0,05 ($p < 0,05$).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Связь экспрессии микроРНК с некоторыми факторами нерадиационной природы

Корреляционный анализ с целью оценки связи пола, возраста или национальности с показателями экспрессии микроРНК проводили путем расчета коэффициентов ранговой корреляции по Спирмену (*Rs*) (табл. 4).

Результаты проведенного анализа показали отсутствие связи между факторами нерадиационной природы (пол, национальность, возраст на момент исследования) и показателями экспрессии

микроРНК у облученных людей, *p*-значение во всех тестах превысило 5%.

Анализ данных экспрессии микроРНК в обследуемых группах

Результаты анализа экспрессии микроРНК miR-150, miR-29a, miR-30c в исследуемых группах представлены в табл. 5.

При исследовании показателей относительной экспрессии микроРНК в основной группе было выявлено более низкое ($p = 0,003$) относительное содержание микроРНК miR-30c, чем в группе сравнения. Полученные результаты также графически проиллюстрированы на рис. 1.

Таким образом, мы установили, что у лиц из основной группы относительно группы сравнения экспрессия микроРНК miR-30c статистически значимо снижена ($p = 0,003$), при этом медианное значение экспрессии микроРНК в основной группе снижено более чем в 9 раз относительно группы сравнения.

Корреляционный анализ не выявил связи между накопленной дозой облучения тимуса и периферических лимфоидных органов и уровнем экспрессии исследуемых микроРНК. Однако была обнаружена слабая отрицательная связь между экспрессией микроРНК miR-30c и накопленной дозой облучения ККМ ($Rs = -0,26, p = 0,02$). Для других исследуемых микроРНК связь с накопленной дозой облучения ККМ не выявлена.

Таблица 4. Коэффициенты ранговой корреляции Спирмена экспрессии микроРНК с факторами нерадиационной природы

Параметр	Пол	Возраст на момент обследования	Национальность
miR-29a	0.15 (0.21)	0.13 (0.27)	0.19 (0.10)
miR-30c	-0.09 (0.44)	-0.14 (0.23)	-0.06 (0,61)
miR-150	0.16 (0.16)	-0.07 (0.53)	-0.002 (0.99)

Примечание. В скобках указано *p*-значение, рассчитанное для коэффициентов ранговой корреляции Спирмена (*Rs*).

Таблица 5. Относительное содержание (отн. ед.) микроРНК в группах обследованных лиц, Me (Q1–Q3)

МикроРНК	Основная группа <i>N</i> = 56	Группа сравнения <i>N</i> = 25
miR-29a	0.95 (0.35–4.15) <i>p</i> = 0.87	1.70 (0.39–2.12)
miR-30c	0.18 (0.02–0.56) <i>p</i> = 0.003	1.75 (0.05–15.79)
miR-150	1.61 (0.20–3.43) <i>p</i> = 0.48	1.66 (0.40–3.99)

Примечание. *p* – *p*-значение для *U*-критерия в teste Манна–Уитни.

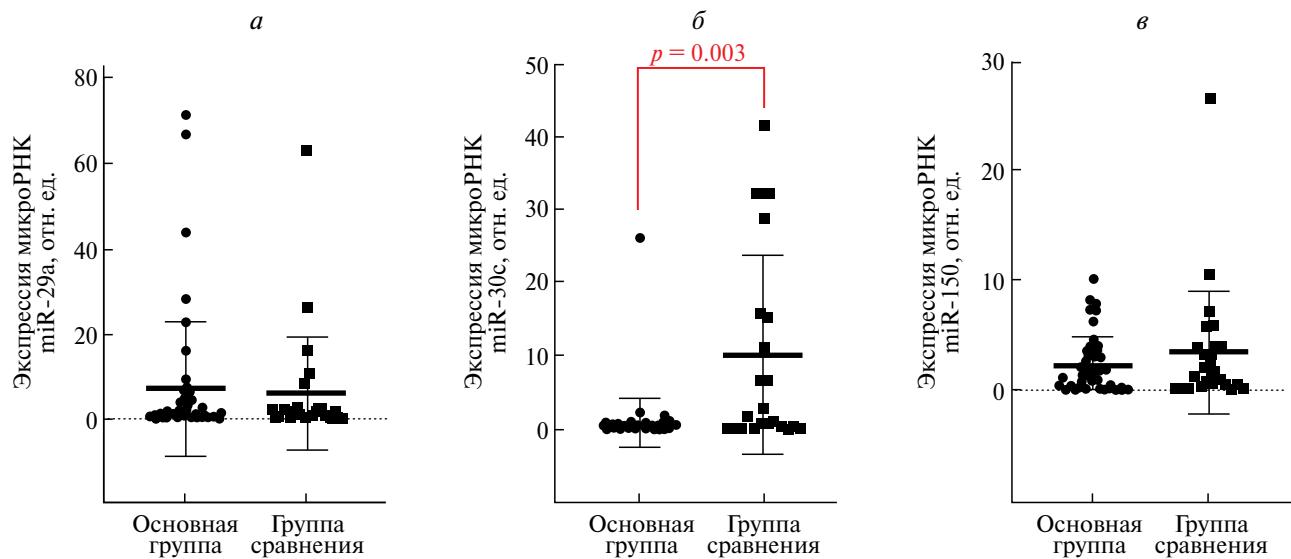


Рис. 1. Индивидуальные значения показателей относительного содержания микроРНК в исследуемых группах.

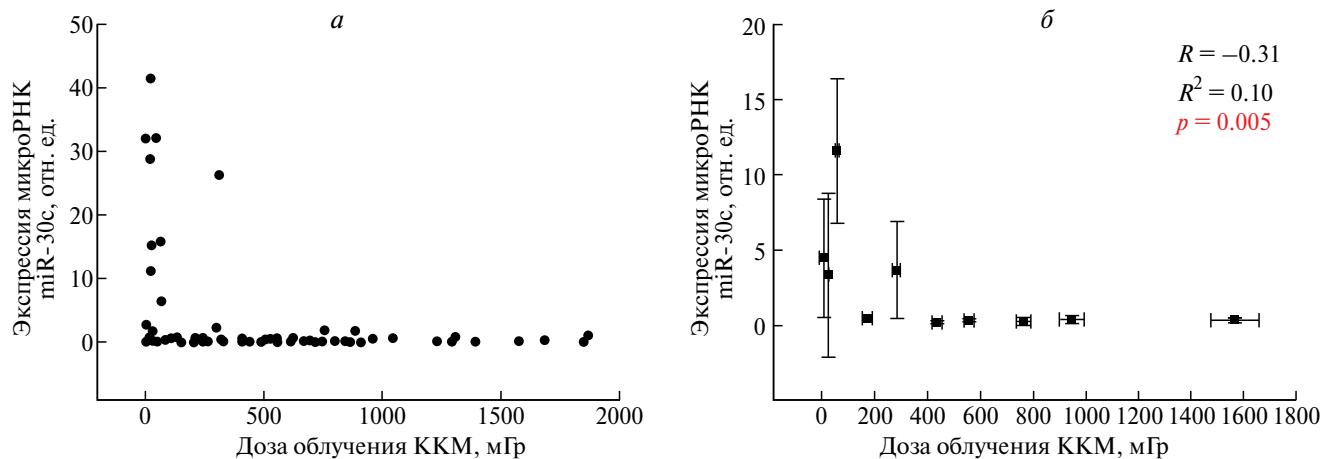


Рис. 2. Зависимость относительного содержания микроРНК miR-30c от накопленной дозы облучения ККМ, полученная в соответствии с данными индивидуальных показателей (а) и полученная путем аппроксимации данных (б, каждая точка является усредненным значением для восьми струпированных показателей).

Зависимость экспрессии микроРНК от накопленной дозы облучения ККМ, а также тимуса и периферических лимфоидных органов была оценена методом регрессионного анализа (рис. 2, 3).

Полученные результаты свидетельствуют о наличии зависимости экспрессии микроРНК miR-30c от дозы облучения ККМ ($R = -0,31$, $R^2 = 0,10$, $p = 0,005$), а также облучения тимуса и периферических лимфоидных органов ($R = -0,24$, $R^2 = 0,06$, $p = 0,03$). Значения R^2 в регрессионном анализе, не превышающие 10%, свидетельствуют об отсутствии линейной зависимости между исследуемыми показателями. Для остальных микроРНК зависимости экспрессии от накопленной дозы облучения ККМ,

а также тимуса и периферических лимфоидных органов не обнаружено.

Поскольку нами была найдена связь между экспрессией микроРНК miR-30c и дозой облучения ККМ, а также зависимость ее экспрессии от дозы облучения ККМ, мы проанализировали экспрессию микроРНК miR-30c, объединив обследуемых людей, включая лиц из группы сравнения, в подгруппы, соответствующие различным диапазонам доз: 1) < 100 мГр; 2) 100–1000 мГр; 3) > 1000 мГр (рис. 4).

Обращает на себя внимание резкое снижение экспрессии данной микроРНК в группе облученных лиц с поглощенной дозой в ККМ более 100

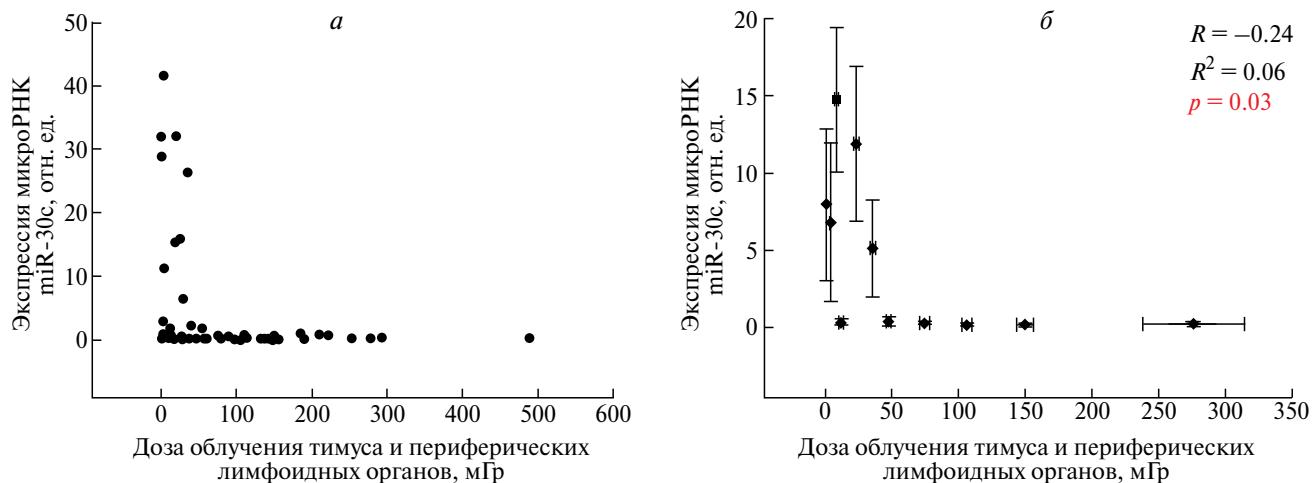


Рис. 3. Зависимость относительного содержания микроРНК miR-30c от накопленной дозы облучения тимуса и периферических лимфоидных органов, полученная в соответствии с данными индивидуальных показателей (*а*) и полученная путем аппроксимации данных (*б*), каждая точка является усредненным значением для восьми сгруппированных показателей.

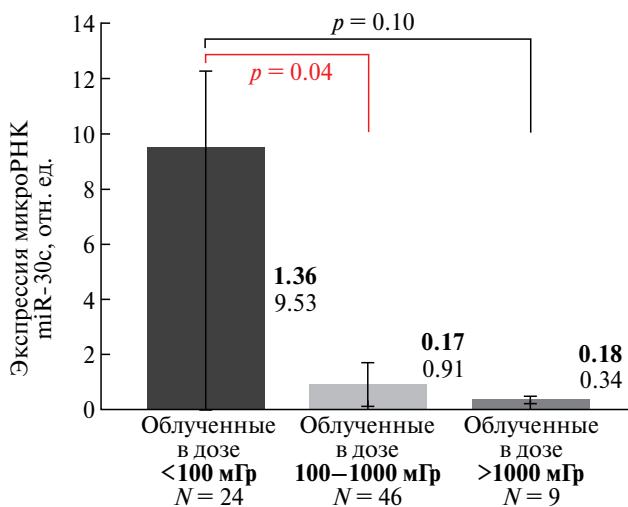


Рис. 4. Экспрессия микроРНК miR-30c в дозовых подгруппах: < 100 мГр, 100–1000 мГр и > 1000 мГр. Курсивом обозначены медианные (сверху) и средние (снизу) значения относительной экспрессии микроРНК в дозовых подгруппах.

мГр. Данная тенденция сохраняется также в дозовой подгруппе > 1000 мГр. Отсутствие статистически значимого различия между дозовыми подгруппами < 100 мГр и > 1000 мГр, вероятнее всего, обусловлено небольшим количеством лиц, входящих в дозовую подгруппу > 1000 мГр (9 человек).

ОБСУЖДЕНИЕ

Предполагается, что эффекты, индуцированные малыми дозами радиации, могут регулироваться

модуляцией некодирующих РНК, в частности микроРНК [20]. МикроРНК представляют собой важный механизм, с помощью которого клетки могут быстро изменять экспрессию генов, чтобы реагировать на генотоксический стресс, в том числе после радиационного воздействия. Нацеливаясь с частичной комплементарностью на 3'-нетранслируемую область (3'-UTR), 5'-UTR-область или на кодирующие области РНК в цитоплазме [21, 22], микроРНК способны подавлять трансляцию белка или при полной комплементарности приводить к деградации мРНК [23]. Таким образом, через регуляцию посттранскрипционной активности генов микроРНК способны влиять на сигнальные пути, которые могут изменять множество клеточных процессов, включая реакцию на ИИ.

Согласно данным литературы, экспрессия микроРНК miR-150, miR-29a характеризуется значительным снижением с увеличением дозы облучения [24], в то время как экспрессия микроРНК miR-30c, наоборот, характеризуется радиационно-индуцированным повышением ее экспрессии [25]. Важно подчеркнуть, что немногочисленные исследования, в которых наблюдалось повышение экспрессии miR-30c, проводились *in vitro* на культурах клеток в условиях острого облучения в высоких дозах [26–28]. Метаанализ [29], обобщающий результаты девяти исследований экспрессии микроРНК miR-30c в клетках мышей, приматов и человека в условиях острого однократного и фракционированного облучения в высоких дозах показал, что уровни экспрессии микроРНК miR-30c положительно коррелировали с дозой облучения ($FC = 1.19$; 95% ДИ 1.09–1.30; b_t [total dose] = 0,01; $p = 0,0134$).

В настоящем исследовании в отдаленном периоде у лиц, подвергшихся хроническому облучению, мы не наблюдали изменений в экспрессии миРНК miR-150, miR-29a, при этом экспрессия миРНК miR-30c снижалась в клетках периферической крови. Вероятно, наблюдаемое снижение экспрессии данной миРНК обусловлено особенностями радиационного воздействия, которому подверглись жители Уральского региона. Жители населенных пунктов, расположенных вдоль р. Течи, подвергались *in vivo* многолетнему низкоинтенсивному облучению из-за повышенного гамма-радиационного фона вблизи реки, а также от смеси радионуклидов, поступающих в организм с водой и пищевыми продуктами. Также стоит обратить внимание на то, что данное исследование экспрессии миРНК проводилось не сразу после облучения, а спустя многие годы после прекращения радиационного воздействия.

Выбранные для настоящего исследования миРНК могут являться регуляторами клеточного ответа при радиационном воздействии. В частности, сообщалось, что миРНК семейства miR-30 вовлечены в клеточный ответ на радиационное воздействие [28], в большей степени из-за их роли в контроле развития клеточного цикла, а miR-30c играет ключевую роль в радиационно-индукционном апоптозе [30, 31].

Алгоритм TargetScanHuman (https://www.targetscan.org/vert_80/) прогнозирует более 1500 генов, имеющих потенциальные сайты связывания в 3'-UTR-области с миРНК miR-30c, среди которых обнаруживаются гены, регулирующие клеточный цикл и апоптоз, такие как *MAPK8* и *BCL-2*. Уже сегодня результаты некоторых экспериментальных исследований подтверждают связь миРНК miR-30c с геном *BCL-2* [32, 33], являющимся центральной фигурой множества регуляторных систем клетки, таких как апоптоз, пролиферация и поддержание генетической стабильности.

Помимо факторов радиационной природы, согласно литературным данным, на уровень экспрессии миРНК также могут оказывать влияние различные факторы нерадиационной природы; в частности, известно о возраст-зависимом снижении экспрессии некоторых миРНК [17], при этом измененная экспрессия миРНК потенциально может быть диагностическим индикатором возрастных заболеваний [18]. Помимо этого, в некоторых исследованиях сообщалось о дифференциальной экспрессии миРНК у мужчин и женщин [33]. Однако проведенный нами анализ по поиску связи экспрессии миРНК с некоторыми факторами нерадиационной природы, такими как пол, национальность и возраст, на момент исследования не выявил связи с данными показателями в обследуемой группе людей. Стоит подчеркнуть, что отсутствие корреляции между возрастом

обследуемых людей и экспрессией миРНК могло быть обусловлено тем, что в исследование были включены преимущественно пожилые люди, возрастной диапазон которых составил от 62 до 87 лет.

В результате проведенного исследования у людей, подвергшихся низкоинтенсивному хроническому радиационному воздействию с накопленными дозами облучения ККМ в диапазоне от 86,72 до 1867,55 мГр наблюдалось снижение в периферической крови экспрессии зрелой миРНК miR-30c, при этом была установлена слабая отрицательная корреляционная связь между экспрессией миРНК miR-30c и накопленной дозой облучения ККМ, а также нелинейная зависимость ее экспрессии от накопленной дозы облучения ККМ, а также облучения тимуса и периферических лимфоидных органов. Статистически значимые различия в относительном содержании данной миРНК также наблюдались между дозовыми подгруппами. В то же время экспрессия данной миРНК не продемонстрировала связи с факторами нерадиационной природы, такими как пол, возраст или национальность.

Таким образом, данные, полученные в настоящей работе, свидетельствуют об изменении экспрессии миРНК в периферической крови у людей, проживавших на радиоактивно загрязненных территориях, на основании чего можно предположить возможное участие миРНК в модуляции процессов, направленных на поддержание генетического гомеостаза в период реализации отдаленных канцерогенных и нераковых эффектов у жителей Уральского региона, однако для уточнения и подтверждения результатов, полученных в настоящей работе, необходимо увеличение объема выборки исследуемых лиц.

Финансирование работы осуществлялось в рамках Федеральной целевой программы «Обеспечение ядерной и радиационной безопасности на 2016–2020 годы и на период до 2030 года».

Исследование одобрено Этическим комитетом ФГБУН УНПЦ РМ ФМБА России 08.04.2024, №7.

Все процедуры, выполненные в исследовании с участием людей, соответствуют этическим стандартам институционального и/или национального комитета по исследовательской этике и Хельсинкской декларации 1964 г. и ее последующим изменениям или сопоставимым нормам этики.

От каждого из включенных в исследование участников было получено информированное добровольное согласие.

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Liang L. H., He X. H. Macro-management of microRNAs in cell cycle progression of tumor cells and its implications in anti-cancer therapy // *Acta Pharmacol. Sin.* 2011. V. 32. № 11. P. 1311–1320. DOI: 10.1038/aps.2011.103
2. Chaudhry M. A., Omaruddin R. A., Kreger B. et al. MicroRNA responses to chronic or acute exposures to low dose ionizing radiation// *Mol. Biol. Rep.* 2012. V. 39. № 7. P. 7549–7558. DOI: 10.1007/s11033-012-1589-9
3. Metheetrairut C., Slack F. J. MicroRNAs in the ionizing radiation response and in radiotherapy// *Curr. Opin. Genet. Dev.* 2013. V. 23. № 1. P. 12–19. DOI: 10.1016/j.gde.2013.01.002
4. Weidhaas J. B., Babar I., Nallur S. M. et al. MicroRNAs as potential agents to alter resistance to cytotoxic anticancer therapy// *Cancer Res.* 2007. V. 67. № 23. P. 11111–11116. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-07-2858
5. Kato M., Paranjape T., Müller R. U. et al. The mir-34 microRNA is required for the DNA damage response in vivo in *C. elegans* and *in vitro* in human breast cancer cells// *Oncogene*. 2009. V. 28. № 25. P. 2419–2424. DOI: 10.1038/onc.2009.106
6. Ilnytskyy Y., Koturbash I., Kovalchuk O. Radiation-induced bystander effects in vivo are epigenetically regulated in a tissue-specific manner// *Environ. Mol. Mutagen.* 2009. V. 50. P. 105–113. <https://doi.org/10.1002/em.20440>
7. Port M., Herodin F., Valente M., et al. MicroRNA expression for early prediction of late occurring hematologic acute radiation syndrome in baboons // *PLoS One.* 2016. V. 11. № 11. DOI: 10.1371/journal.pone.0165307
8. Chiba M., Monzen S., Iwaya C. et al. Serum miR-375-3p increase in mice exposed to a high dose of ionizing radiation// *Scientific Reports.* 2018. V. 8. № 1. P. 1302. DOI: 10.1038/s41598-018-19763-7
9. Gandellini P., Rancati T., Valdagni R., Zaffaroni N. MiRNAs in tumor radiation response: bystanders or participants? // *Trends Mol. Med.* 2014. V. 20. № 9. P. 529–539. DOI: 10.1016/j.molmed.2014.07.004
10. Блинова Е. А., Котикова А. И., Янишевская М. А., Аклеев А. В. Апоптоз лимфоцитов и полиморфизм генов регуляции апоптоза у лиц, подвергшихся хроническому радиационному воздействию// Мед. радиология и радиационная безопасность. 2020. Т. 65. № 4. С. 36–42. DOI: 10.12737/1024-6177-2020-65-4-36-42
11. Никифоров В. С., Блинова Е. А., Котикова А. И., Аклеев А. В. Транскрипционная активность генов репарации, апоптоза и клеточного цикла (*TP53, MDM2, ATM, BAX, BCL-2, CDKN1A, OGG1, XPC, PADI4, MAPK8, NF-KB1, STAT3, GATA3*) у хронически облученных людей с различной интенсивностью апоптоза лимфоцитов периферической крови // Вавил. Жур. генетики и селекции. 2022. Т. 26. № 1. С. 50–58. DOI: 10.18699/VJGB-22-08. – EDN KBBUEC
12. Burgio E., Piscitelli P., Migliore L. Ionizing radiation and human health: Reviewing models of exposure and mechanisms of cellular damage. An Epigenetic perspective // *Int. J. Environ. Res. Public Health.* 2018. V. 15. № 9. P. 1971. DOI:10.3390/ijerph15091971
13. Янишевская М. А., Блинова Е. А., Аклеев А. В. Влияние хронического радиационного воздействия на экспрессию микроРНК человека // Генетика. 2023. Т. 59. № 10. С. 1171–1178.
14. Силкин С. С., Крестинина Л. Ю., Старцев В. Н. и др. Уральская когорта аварийно-облученного населения // Медицина экстремальных ситуаций. 2019. Т. 21. № 3. С. 393–402.
15. Degteva M. O., Napier B. A., Tolstykh E. I. et al. Enhancements in the Techa river dosimetry system: TRDS-2016D code for reconstruction of deterministic estimates of dose from environmental exposures // *Health Physics.* 2019. V. 117. № 4. P. 378–387. DOI: <https://doi.org/10.1097/HP.0000000000001067>
16. СанПиН 2.6.1.2523-09. Нормы радиационной безопасности (НРБ-99/2009). М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2009. –100 с. <https://docs.cntd.ru/document/902170553> (дата обращения: 17.10.2023).
17. Noren Hooten N., Fitzpatrick M., Wood W. H. et al. Age-related changes in microRNA levels in serum // *Aging (Albany NY)*. 2013. V. 5. № 10. P. 725–740. DOI: 10.18632/aging.100603
18. Noren Hooten N., Abdelmohsen K., Gorospe M. et al. MicroRNA expression patterns reveal differential expression of target genes with age // *PLoS One.* 2010. V. 5. № 5. DOI: 10.1371/journal.pone.0010724
19. 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. V. 25. № 4. P. 402–408. DOI: 10.1006/meth.2001.1262
20. Chaudhry M. A., Omaruddin R. A., Kreger B. et al. MicroRNA responses to chronic or acute exposures to low dose ionizing radiation // *Mol. Biol. Rep.* 2012. V. 39. № 7. P. 7549–7558. DOI: 10.1007/s11033-012-1589-9
21. Lee I., Ajay S. S., Jong I. Y. et al. New class of microRNA targets containing simultaneous 5'-UTR- and 3'-UTR-interaction sites // *Genome Research.* 2009. V. 19. № 7. P. 1175–1183. DOI: 10.1101/gr.089367.108
22. Brummer A., Hausser J. MicroRNA binding sites in the coding region of mRNAs: Extending the repertoire of post-transcriptional gene regulation //

- BioEssays. 2014. V. 36. № 6. P. 617–626.
DOI: 10.1002/bies.201300104
23. Valinezhad Orang A., Safaralizadeh R., Kazemzadeh-Bavili M. Mechanisms of miRNA-Mediated gene regulation from common downregulation to mRNA-specific upregulation // Int. J. Genomics. 2014. V. 2014.
DOI: doi 10.1155/2014/970607
24. Dinh T.-K. T., Fendler W., Chałubińska-Fendler J. et al. Circulating miR-29a and miR-150 correlate with delivered dose during thoracic radiation therapy for non-small cell lung cancer // Rad. Oncology. 2016. V. 11. P. 61.
DOI: 10.1186/s13014-016-0636-4
25. Li X. H., Ha C. T., Fu D., Xiao M. Micro-RNA30c negatively regulates REDD1 expression in human hematopoietic and osteoblast cells after gamma-irradiation // PLoS One. 2012. V. 7. № 11.
DOI: 10.1371/journal.pone.0048700
26. Acharya S. S., Fendler W., Watson J. et al. Serum microRNAs are early indicators of survival after radiation-induced hematopoietic injury // Sci. Transl. Med. 2015. V. 7. № 287.
DOI: 10.1126/scitranslmed.aaa6593
27. Li X. H., Ha C. T., Fu D. Delta-tocotrienol suppresses radiation-induced microRNA-30 and protects mice and human CD34+ cells from radiation injury//PLoS One. 2015. V. 10. № 3.
DOI: 10.1371/journal.pone.0122258
28. Li X. H., Ha C. T., Xiao M. MicroRNA-30 inhibits antiapoptotic factor Mcl-1 in mouse and human hematopoietic cells after radiation exposure // Apoptosis. 2016. V. 21. № 6. P. 708–720.
DOI: 10.1007/s10495-016-1238-1
29. Malachowska B., Tomasik B., Stawiski K. et al. Circulating microRNAs as biomarkers of radiation exposure: A systematic review and meta-analysis // Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. 2020. V. 106. № 2. P. 390–402.
DOI: 10.1016/j.ijrobp.2019.10.028
30. Guo Y., Sun W., Gong T. et al. MiR-30a radiosensitizes non-small cell lung cancer by targeting ATF1 that is involved in the phosphorylation of ATM // Oncol. Rep. 2017. V. 37. № 4. P. 1980–1988.
DOI: 10.3892/or.2017.5448
31. Yuan L. Q., Zhang T., Xu L. et al. MiR-30c-5p inhibits glioma proliferation and invasion via targeting Bcl2 // Transl. Cancer Res. 2021. V. 10. № 1. P. 337–348.
doi 10.21037/tcr-19-2957
32. Ostadrahimi S., Fayaz S., Parvizhamidi M. et al. Downregulation of miR-1266-5P, miR-185-5P and miR-30c-2 in prostatic cancer tissue and cell lines // Oncol Lett. 2018. V. 15. № 5. P. 8157–8164.
DOI: 10.3892/ol.2018.8336
33. Sharma S., Eghbali M. Influence of sex differences on microRNA gene regulation in disease // Biol Sex Differ. 2014. V. 5. № 1. P. 3.
DOI: 10.1186/2042-6410-5-3

Expression of miR-29a, miR-30c AND miR-150 microRNAs in the Long-Term Period after Chronic Radiation Exposure

M. A. Yanishevskaya^{1,*}, E. A. Blinova^{1, 2}, A. V. Akleyev^{1, 2}

¹*Ural Research Center for Radiation Medicine, FMBA of Russia, Chelyabinsk, 454141 Russia*

²*Chelyabinsk State University, Chelyabinsk, 454001 Russia*

*e-mail: yanishevskaya@urcrm.ru

Every year, more and more data demonstrate that microRNA expression levels were significantly altered after acute radiation exposure, and microRNAs themselves play an important role in the cellular response to ionizing radiation. However, regulation of microRNA expression after chronic radiation exposure within the low and middle dose range is poorly understood. In the present study, the expression of mature miR-29a, miR-30c, and miR-150 microRNAs in whole blood from 81 individuals in the long-term period after chronic low dose-rate radiation exposure was analyzed by real-time PCR method. The mean age of the studies people was 72 years, and the accumulated radiation doses to red bone marrow (RBM), thymus and peripheral lymphoid organs ranged from 2.13 to 1867.55 mGy and 0.18 to 488.79 mGy, respectively. More than 70 years after the onset of radiation exposure, a statistically significant dose-dependent decrease in miR-30c microRNA expression was found in exposed individuals in RBM, thymus and peripheral lymphoid organs.

Keywords: microRNA, expression, PCR-RT, Techa River, chronic low dose-rate exposure, radiation exposure.