

М.М. Баймаганбетова , Т.А. Курбангалиева ,

Р.Е. Ниязова* 

Казахский национальный университет имени аль-Фараби, Казахстан, Алматы

*e-mail: raiguln@mail.ru

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ГЕНОВ И microRNA, ОТВЕТСТВЕННЫХ ЗА РАЗВИТИЕ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ И ПОГРАНИЧНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОГО ТРАКТА

Проблема частого возникновения патологии желудочно-кишечного тракта в современном мире обусловлена большой распространенностью практически среди всех групп населения. По прогнозам ВОЗ именно данный тип заболеваний является общечеловеческим недугом XXI века, что в свою очередь непосредственно связано с образом жизни людей, количеством стресса, наличием каких-либо вредных привычек, потреблением некачественной пищи, а также с загрязнением окружающей среды. В данной статье изучены взаимодействия miRNA и mRNA генов-мишеней, которые участвуют в развитии онкологических и пограничных заболеваний органов желудочно-кишечного тракта, выявлены сайты связывания miRNA и mRNA генов-мишеней. Определены характеристики взаимодействий miRNA с ассоциированными генами. Биоинформатический расчет характеристик связывания генов и miRNA производился с помощью программы MirTarget. В результате полученных данных были созданы базы данных генов и miRNA, участвующих в патогенезе ЖКТ. Выявлены ассоциативные связи генов и miRNA, ответственных за развитие онкологических и пограничных заболеваний желудочно-кишечного тракта. Определены гены, ответственные за развитие обоих типов групп заболеваний, экспрессия которых нарушается как при онкологических, так и при пограничных заболеваниях ЖКТ.

Ключевые слова: онкология ЖКТ, пограничные заболевания ЖКТ, miRNA, mRNA, ген-мишень.

M.M. Baimaganbetova, T.A. Kurbangalieva, R.Ye. Niyazova*

Al-Farabi Kazakh National University, Kazakhstan, Almaty

*e-mail: raiguln@mail.ru

Comparative characteristics of the interaction of genes and microRNA responsible for the development of oncological and borderline diseases of the gastrointestinal tract

The problem of the frequent occurrence of pathology of the gastrointestinal tract in the modern world is due to the high prevalence among almost all population groups. According to WHO forecasts, it is this type of disease that is a universal human disease of the 21st century, which in turn is directly related to people's lifestyle, the amount of stress, the presence of any bad habits, the consumption of low-quality food, and environmental pollution. In this article, the interactions of miRNA and mRNA of target genes, which are involved in the development of oncological and borderline diseases of the gastrointestinal tract, have been studied, the binding sites of miRNA and mRNA of target genes have been identified. The characteristics of miRNA interactions with associated genes were determined. Bioinformatic calculation of gene and miRNA binding characteristics was performed using the MirTarget program. As a result of the data obtained, databases of genes and miRNAs involved in the pathogenesis of the gastrointestinal tract were created. Associative links between genes and miRNAs responsible for the development of oncological and borderline diseases of the gastrointestinal tract have been revealed. The genes responsible for the development of both types of groups of diseases, the expression of which is impaired both in oncological and borderline diseases of the gastrointestinal tract, have been identified.

Key words: gastrointestinal cancer, borderline gastrointestinal diseases, miRNA, mRNA, target gene.

М.М. Баймағанбетова, Т.А. Құрбанғалиева, Р.Е. Ниязова*

Әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті, Қазақстан, Алматы

*e-mail: raiguln@mail.ru

Асқазан-ішек жолдарының онкологиялық және шекаралық ауруларының дамуына жауапты гендер мен microRNA-ның өзара әрекеттесуінің салыстырмалы сипаттамасы

Қазіргі әлемде асқазан-ішек жолдарының патологиясының жиі пайда болу мәселесі халықтың барлық дерлік топтары арасында жоғары таралуына байланысты. Дүниежүзілік денсаулық сақтау ұйымының болжамы бойынша, дәл осы ауру түрі 21 ғасырдағы әмбебап адам ауруы болып табылады, ол өз кезегінде адамдардың өмір сүру салтына, күйзеліске ұшырауына, кез келген жаман әдеттердің болуына, сапасыз өнімдерді тұтынуына, тамақ, қоршаған ортаның ластануына тікелей байланысты. Бұл мақалада асқазан-ішек жолдарының онкологиялық және шекаралық ауруларының дамуына қатысатын мақсатты гендердің miRNA мен mRNA-ның өзара әрекеттесулері зерттелді, нысана гендердің miRNA мен mRNA-ның байланысу орындары анықталды. miRNA байланысты гендермен әрекеттесу сипаттамалары анықталды. Ген мен miRNA байланыстыру сипаттамаларының биоинформатикалық есебі MirTarget бағдарламасы арқылы орындалды. Алынған мәліметтердің нәтижесінде асқазан-ішек жолдарының патогенезіне қатысатын гендер мен miRNA мәліметтер базасы құрылды. Асқазан-ішек жолдарының онкологиялық және шекаралық ауруларының дамуына жауапты гендер мен miRNA арасындағы ассоциативті байланыстар анықталды. Асқазан-ішек жолдарының онкологиялық және шекаралық ауруларында да экспрессиясы бұзылған аурулар тобының екі түрінің де дамуына жауапты гендер анықталды.

Түйін сөздер: асқазан-ішек қатерлі ісігі, шекаралық асқазан-ішек аурулары, miRNA, mRNA, нысана ген.

Введение

Проблема частого возникновения патологии желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) в современном мире обусловлена большой распространенностью практически среди всех групп населения. Заболевания пищеварительной системы способны проявляться даже с раннего детского возраста. По прогнозам ВОЗ именно данный тип заболеваний является общечеловеческим недугом XXI века, что в свою очередь непосредственно связано с образом жизни людей (гиподинамия), количеством стресса, наличием каких-либо вредных привычек, потреблением некачественной пищи, а также с загрязнением окружающей среды [1].

В данной статье изучены взаимодействия генов и miRNA, ответственных за развитие онкологических и пограничных заболеваний желудочно-кишечного тракта. Рак желудочно-кишечного тракта, в настоящий момент, всё ещё остается одной из главных причин смертей во всём мире. Зачастую рак диагностируют уже на поздних стадиях из-за чего шанс излечения становится значительно низким. Благодаря инициативе исследователей в онкологической области было обнаружено много потенциальных биомаркеров рака, к сожалению, лишь небольшая часть из них находит клиническое применение.

Технологический прогресс двигает и прогресс в исследованиях раковых биомаркеров. Большая часть исследований раковых биомаркеров изучает индивидуальный генетический аспект, прогностические факторы, и факторы риска, такие как транскриптомные изменения и нарушения функций белка [2]. Одной из причин инициации и последующего развития рака может стать нарушение регуляции некодирующих регуляторных РНК [3]. miRNA – это класс малых некодирующих фрагментов РНК, размером от 18 до 24 нуклеотидов. Их задача заключается в связывании области 3'UTR их гена-мишени, где они выступают в роли регулятора экспрессии путём нарушения трансляции [4-6]. miRNA играют ключевую роль в таких биологических процессах, как миграция, инвазия, клеточная пролиферация и дифференцировка [4]. Эти малые регуляторные РНК в зависимости от форм рака имеют различные отличительные признаки, что можно увидеть в их профилях экспрессии [7]. Пграничными заболеваниями пищеварительной системы называются те заболевания, которые способны активизировать онкологическое перерождение клеток и тканей того или иного органа пищеварения. Подобные изменения зачастую связаны с отсутствием своевременного лечения либо же может сказаться наследственная предрасположенность. Поэтому профилактикой

онкологических заболеваний желудочно-кишечного тракта является своевременное выявление и терапия той или иной патологии. Появление и развитие болезней пищеварительной системы, как и многих других, неразрывно связано с изменением экспрессии различных генов. По прогнозам ВОЗ заболевания органов желудочно-кишечного тракта являются мировой проблемой нашего века. Из года в год возрастная категория заболевших становится моложе. В Казахстане также отмечается рост уровня заболеваемости органов пищеварительной системы. К подобным патологиям относятся панкреатит, гепатит, гастрит, дуоденит, эзофагит, колит, энтерит, цирроз и др. Пограничные заболевания при отсутствии своевременной диагностики и терапии способны вызывать онкологическое перерождение клеток органов и тканей.

Данное исследование посвящено изучению особенностей взаимодействия miRNA с mRNA генов-мишеней, участвующих в развитии онкологических и пограничных заболеваний ЖКТ.

Материалы и методы

Нуклеотидные последовательности mRNA генов-мишеней были загружены из NCBI GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>). Нуклеотидные последовательности miRNA были загружены из miRBase v.22 (<http://www.mirbase.org/>). Биоинформатический расчет характеристик связывания генов и miRNA производился с помощью программы MirTarget. Программа MirTarget определяет следующие особенности связывания miRNA с mRNA: а) инициирование связывания miRNA с mRNA с первого нуклеотида mRNA; б) локализацию CC miRNA в 5'-нетранслируемой области (5'UTR), последовательности кодирующего домена (CDS) и

3'-нетранслируемой области (3'UTR) mRNA; в) схемы нуклеотидных взаимодействий miRNA и mRNA; г) свободную энергию взаимодействия miRNA и mRNA (ΔG , kJ/mole); д) для каждого сайта отношение $\Delta G/\Delta G_m$ (%) (ΔG_m равно свободной энергии связывания miRNA с ее полностью комплементарной нуклеотидной последовательностью). Программа MirTarget находит водородные связи между аденином (А) и урацилом (У), гуанином (Г) и цитозином (Ц), Г и У, а также А и Ц. Свободная энергия взаимодействий (ΔG) пары Г и Ц равна 6,37 kJ/mole, пара А и U равна 4,25 kJ/mole, G и U, А и С равна 2,12 kJ/mole. Расстояния между связанными А и С (1,04 нм) и G и U (1,02 нм) аналогичны расстояниям между связанными G и С, А и U, которые равны 1,03 нм [8, 9]. Количество водородных связей во взаимодействиях G–C, A–U, G–U и A–C равно 3, 2, 1 и 1 соответственно.

Результаты и их обсуждение

Нами были созданы базы данных генов и miRNA, участвующих в патогенезе ЖКТ. Всего было выявлено 254 генов и 170 miRNA, ответственных за развитие онкологических заболеваний ЖКТ, а также 173 генов и 254 miRNA, ответственных за развитие пограничных заболеваний ЖКТ. Проведен биоинформатический анализ их взаимодействий с помощью программы MirTarget, в результате которого отобраны 134 генов и 76 miRNA.

Определены 14 общих генов, экспрессия которых нарушается как при онкологических, так и при пограничных заболеваниях ЖКТ. К таким генам относятся: *ALDH2*, *ARID1A*, *ARID2*, *BRAF*, *F2*, *KRAS*, *MCM3*, *MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *PMS2*, *PTEN*, *SMAD4*, *TP53* (Таблица 1).

Таблица 1 – Гены, ответственные за развитие онкологических и пограничных заболеваний ЖКТ

Ген	Заболевание	PMID
<i>ALDH2</i>	Рак желудка	29616362, 32356421
	Цирроз печени Алкогольная болезнь печени	32012846
<i>ARID1A</i>	Колоректальный рак	32245111
	Болезнь Крона Полипоз толстой кишки Гепатит	30602391, 26819516

Продолжение таблицы

Ген	Заболевание	PMID
<i>ARID2</i>	Рак печени	28854942
	Гепатит В и С Цирроз печени Гемохроматоз	30602391, 32012846, 26819516
<i>BRAF</i>	Рак пищевода	33622273
	Жировая болезнь печени Воспалительное заболевание кишечника	25400438
<i>F2</i>	Рак печени	33327311
	Печеночная кома Гепатит	30602391, 26819516, 25309078
<i>KRAS</i>	Колоректальный рак	33331426
	Жировая болезнь печени Алкогольная болезнь печени Воспалительное заболевание кишечника	32012846, 25400438
<i>MCM3</i>	Колоректальный рак	32597491
	Гепатит В и С Цирроз печени Гемохроматоз	30602391, 32012846, 26819516
<i>MLH1</i>	Колоректальный рак Рак поджелудочной железы Рак желудка	32368312
	Синдром Линча Жировая болезнь печени	25400438
<i>MSH2</i>	Колоректальный рак Рак поджелудочной железы Рак желудка	32368312
	Синдром Линча Аденоматозный полипоз Панкреатит	29345684
<i>MSH6</i>	Колоректальный рак Рак поджелудочной железы Рак желудка	32368312
	Синдром Линча Синдром Мюра-Торре	29345684
<i>PMS2</i>	Колоректальный рак Рак поджелудочной железы Рак желудка	32368312
	Болезнь Крона Колит Ворсинчатые опухоли Диффузный полипоз	32449172, 29345684
<i>PTEN</i>	Колоректальный рак	32368312
	Жировая болезнь печени Алкогольная болезнь печени	32012846, 25400438
<i>SMAD4</i>	Колоректальный рак Рак поджелудочной железы Рак желудка	32368312
	Синдром ювенильного полипоза Панкреатит Синдром Мюре	33303972, 29720405, 25464861
<i>TP53</i>	Колоректальный рак Рак желудка	30562757, 29994072
	Синдром Ли-Фраумени Паразитарные инвазии печени Желтуха Холангит	32927274, 31776983

Анализ взаимодействий показал, что miR-619-5p имеет сайты связывания со всеми 14 генами: *ALDH2*, *ARID1A*, *ARID2*, *BRAF*, *F2*, *KRAS*, *MCM3*, *MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *PMS2*, *PTEN*, *SMAD4*, *TP53*. При этом связывание происходит во всех случаях в CDS. Отмечено, что в mRNA генов *SMAD4* и *TP53* имеется сайт связывания в 5'UTR, а в mRNA генов *ALDH2* и *BRAF* в 3'UTR, соответственно. Показатели энергии связывания при этом изменяются в пределах от -110 до -119 kJ/mole. Изменение экспрессии этих генов в свою очередь связано с развитием следующих пограничных заболеваний ЖКТ: гепатиты В и С, цирроз печени, болезнь Крона, синдром Линча, полипоз толстой кишки, гемохроматоз, жировая болезнь печени и др. Ген *ALDH2* имеет связь с раком желудка, помимо этого отмечается связь с такими заболеваниями как диабет, цирроз печени, алкогольная болезнь печени [10,11]. Уровень экспрессии данного гена при раке желудка 22.74. Мутации в гене *BRAF*, чаще всего мутация V600E, являются наиболее часто выявляемыми мутациями, вызывающими рак при меланоме, а также были идентифицированы при различных других формах рака, включая неходжкинскую лимфому, колоректальный рак, карциному щитовидной железы, немелкоклеточную карцинома легкого, волосатоклеточный лейкоз и аденокарцинома легкого. Ген *BRAF* имеет связь с раком пищевода, кроме того, есть связь с алкогольной и жировой болезнью печени [12-15].

Установлено, что miR-4430 способна связываться со всеми упомянутыми выше генами, кроме генов *ARID1A* и *KRAS*. Сайт связывания локализуется в участке CDS. А у таких генов, как *SMAD4* и *TP53* в 5'UTR. Значения энергии стабильно для всех генов и составляет от -93 до -94 kJ/mole.

Отмечено, что miR-4328 в свою очередь связывается только с тремя генами: *TP53*, *PMS2* и *ARID2*. Сайты связывания располагаются в участках 5'UTR, CDS и 3'UTR, соответственно. Энергия взаимодействия имела значения -81 kJ/mole для генов *TP53*, *PMS2* и -83 kJ/mole для гена *ARID2*. Ген *TP53* связан с колоректальным раком, раком желудка, а среди пограничных заболеваний связь прослеживается со следующими: желтуха, холангит, паразитарные инвазии печени и синдром Ли-Фраумени [16-18]. Уровень экспрессии гена *TP53* при колоректальном раке, раке желудка 36, 26, соответственно. Ген *PMS2* связан с колоректальным раком, раком желудка, раком поджелудочной, а также болезнью Крона

и колитом [19]. Уровень экспрессии гена *PMS2* при колоректальном раке, раке желудка, раке поджелудочной 2.95, 3.17, 1.8, соответственно. Ген *ARID2* имеет связь с раком печени, циррозом печени, гепатитом В и С, а также гемохроматозом [20, 21]. Уровень экспрессии при раке печени 1.29.

MiR-4261 также связывается с тремя генами: *ARID1A*, *ARID2* и *KRAS*. Сайты связывания находятся только в участках CDS. А энергия взаимодействия колеблется от -78 до -110 kJ/mole. Также с тремя генами: *ARID1A*, *ARID2* и *BRAF* образует взаимодействия miR-3141. Сайты связывания локализируются в участках 3'UTR (*ARID1A*) и CDS, соответственно. Показатели энергии их взаимодействия находятся в пределах -100(-104) kJ/mole. Ген *ARID1A* имеет связь с колоректальным раком, гепатитом, полипозом толстой кишки, болезнью Крона [10, 21, 22]. Уровень экспрессии при колоректальном раке 11.85. Ген *KRAS* гомолог онкогена Kirsten ras из семейства генов ras млекопитающих, кодирует белок, который является членом малого суперсемейства GTPase. Ген *KRAS* связан с колоректальным раком, жировой и алкогольной болезнью печени, а также воспалительными заболеваниями кишечника [23, 24]. Уровень экспрессии при колоректальном раке 6.16.

Только с двумя генами *ALDH2* и *MSH2* образует взаимодействия miR-1281. Сайты связывания находятся в участках 5'UTR и 3'UTR, а энергия взаимодействия изменяется в следующих значениях: -89(-91) kJ/mole. Ген *MSH2* имеет связь с колоректальным раком, раком желудка, раком поджелудочной, кроме того, связь есть с синдромом Линча, панкреатитом и аденоматозным полипозом [19]. Уровень экспрессии при колоректальном раке, раке желудка, раке поджелудочной 10.19, 8.21, 4.1, соответственно.

Характеристики связывания miRNA и mRNA их генов-мишеней, ответственных за развитие онкологических и пограничных заболеваний ЖКТ представлены в таблицах 2-3.

Гены *BRAF*, *F2*, *KRAS*, *MCM3*, *MSH6*, *PMS2*, *PTEN* имеют сайты связывания одной miRNA – miR-1273g-5p, изменение экспрессии которых показаны для таких раковых заболеваний ЖКТ, как рак пищевода, рак печени, колоректальный рак, рак поджелудочной железы и рак желудка. Сайты связывания miRNA располагаются в CDS. Свободная энергия связывания высокая и изменяется в пределах -106(-108) kJ/mole (Таблица 2).

Таблица 2 – Характеристики сайтов связывания miRNA и mRNA генов, участвующих в развитии онкологических заболеваний ЖКТ

№	Gene	miRNA	Position	Where	Energy (kJ/mole)	Score ($\Delta G/\Delta G_m$, %)	Length (nt)
1	<i>ALDH2</i>	miR-1273g-5p	11994	CDS	-112	95	22
			38456	CDS	-106	89	22
		miR-1277-5p	48824	3'UTR	-98	90	24
		miR-320e	18239	CDS	-91	95	18
2	<i>ARID1A</i>	miR-1273g-5p	67844	CDS	-106	89	22
		miR-489-5p	74149	CDS	-104	89	22
3	<i>ARID2</i>	miR-1273g-5p	172026	CDS	-110	93	22
			126082	CDS	-108	91	22
		miR-181b-3p	6746	CDS	-95	90	21
		miR-1246	135554	CDS	-87	89	19
			997	CDS	-87	89	19
4	<i>BRAF</i>	miR-1273g-5p	195748	CDS	-108	91	22
			133882	CDS	-106	89	22
5	<i>F2</i>	miR-1273g-5p	19332	CDS	-106	89	22
6	<i>KRAS</i>	miR-1273g-5p	11030	CDS	-106	89	22
7	<i>MCM3</i>	miR-1273g-5p	10107	CDS	-108	91	22
8	<i>MLH1</i>	miR-1273g-5p	36412	CDS	-108	91	22
		miR-1246	56554	CDS	-87	89	19
9	<i>MSH2</i>	miR-1273g-5p	69992	CDS	-112	95	22
			3114	CDS	-106	89	22
		miR-141-5p	200082	3'UTR	-104	91	22
		miR-95-5p	135030	CDS	-91	91	21
10	<i>MSH6</i>	miR-1273g-5p	21037	CDS	-106	89	22
11	<i>PMS2</i>	miR-1273g-5p	22468	CDS	-106	89	22
12	<i>PTEN</i>	miR-490-3p	25040	CDS	-108	89	22
13	<i>SMAD4</i>	miR-1273g-5p	4403	5'UTR	-110	93	22
			4402	5'UTR	-106	89	22
14	<i>TP53</i>	miR-1273g-5p	3155	5'UTR	-108	91	22
			14963	CDS	-106	89	22

Сайты связывания miRNA (miR-489-5p; miR-181b-3p; miR-1246; miR-141-5p, miR-95-5p, miR-1273g-5p) в mRNA генов *ARID1A*, *ARID2*, *MLH1*, *MSH2* также локализуются в CDS, однако относятся к разным, свободная энергия связывания имеет больший разброс и варьируется в пределах -87(-112) kJ/mole. Изменения экспрессии этих генов показаны для колоректального рака, рака поджелудочной железы и рака желудка. Аналогично вышеприведенным генам, гены *ALDH2*, *SMAD4*, *TP53* связываются с miR-1273g-5p. Ген *ALDH2*

также имеет сайт связывания для miR-1277-5p и miR-320e. Сайты связывания miRNA располагаются как в CDS, так и в 3'UTR, и 5'UTR. Свободная энергия связывания варьируется в пределах -106(-112) kJ/mole. Для указанных трёх генов, изменение экспрессии показаны для таких раковых заболеваний ЖКТ, как колоректальный рак, рак поджелудочной железы и рак желудка.

При анализе по раковым заболеваниям самые высокие показатели энергии ($\Delta G = -113$ kJ/mole) показаны для сайтов связывания miR-1273g-5p с

генами *ALDH2* и *MSH2*. Самые низкие показатели энергии ($\Delta G = -87$ kJ/mole, $\Delta G = -87$ kJ/mole) были для сайтов связывания miR-1246 с генами *ARID2* и *MLH1*. Больше всего сайтов связывания локализовано в CDS.

Было выявлено 9 miRNA: miR-1273g-5p, miR-1277-5p, miR-320e, miR-489-5p, miR-181b-3p, miR-1246, miR-141-5p, miR-95-5p, miR-490-3p, которые участвуют в развитии раковых заболеваний ЖКТ.

Таблица 3 – Характеристики сайтов связывания miRNA и mRNA генов, участвующих в развитии пограничных заболеваний ЖКТ

№	Gene	miRNA	Position	Where	Energy (kJ/mole)	Score ($\Delta G/\Delta G_m$, %)	Length (nt)
1	<i>ALDH2</i>	miR-1178-5p	18304	CDS	-91	91	18
		miR-1281	3097	5'UTR	-91	93	17
		miR-4430	11569	CDS	-93	92	18
		miR-6745	47644	3'UTR	-117	96	22
		miR-619-5p	11344	CDS	-119	98	22
			45675	3'UTR	-108	89	22
2	<i>ARID1A</i>	miR-619-5p	23658	CDS	-119	98	22
			69715	CDS	-108	89	22
		miR-3141	84899	3'UTR	-100	90	19
		miR-4261	61977	CDS	-78	90	16
			43859	CDS	-78	90	16
		miR-4779	58322	CDS	-102	90	22
3	<i>ARID2</i>	miR-3141	140898	CDS	-100	90	19
		miR-619-5p	33497	CDS	-119	98	22
			168942	CDS	-110	91	22
		miR-4261	152099	CDS	-78	90	16
		miR-4328	175645	3'UTR	-83	93	17
		miR-4430	81460	CDS	-93	92	18
4	<i>BRAF</i>	miR-619-5p	11162	CDS	-119	98	22
			210283	3'UTR	-110	91	22
		miR-3141	13315	CDS	-104	94	19
		miR-548j-3p	42686	CDS	-98	94	21
		miR-4701-5p	40178	CDS	-110	91	22
		miR-4430	11386	CDS	-93	92	18
5	<i>F2</i>	miR-4430	15555	CDS	-93	92	18
			16666	CDS	-93	92	18
		miR-619-5p	4410	CDS	-119	98	22
			15834	CDS	-110	91	22
6	<i>KRAS</i>	miR-4261	29548	CDS	-78	90	16
		miR-619-5p	36256	CDS	-119	98	22
			31840	CDS	-110	91	22
7	<i>MCM3</i>	miR-4430	17583	CDS	-93	92	18
		miR-619-5p	17361	CDS	-119	98	22
			9693	CDS	-110	91	22

№	Gene	miRNA	Position	Where	Energy (kJ/mole)	Score ($\Delta G/\Delta G_m$, %)	Length (nt)
8	<i>MLH1</i>	miR-4430	33853	CDS	-94	92	18
		miR-619-5p	17752	CDS	-119	98	22
			50946	CDS	-110	91	22
9	<i>MSH2</i>	miR-619-5p	24459	CDS	-119	98	22
			69657	CDS	-110	91	22
		miR-6867-3p	215079	3'UTR	-102	90	21
		miR-4288	103839	CDS	-81	90	17
		miR-1281	229177	3'UTR	-89	91	17
		miR-593-3p	164523	3'UTR	-93	92	19
		miR-4288	224483	3'UTR	-83	93	17
		miR-384	58417	CDS	-93	98	20
10	<i>MSH6</i>	miR-4430	10419	CDS	-93	92	18
		miR-619-5p	7009	CDS	-119	98	22
			10217	CDS	-112	93	22
11	<i>PMS2</i>	miR-4430	19038	CDS	-93	92	18
		miR-4328	23030	CDS	-81	90	17
		miR-619-5p	3617	CDS	-119	98	22
			7452	CDS	-115	95	22
			36112	3'UTR	-112	93	22
12	<i>PTEN</i>	miR-619-5p	83999	CDS	-119	98	22
			101140	CDS	-110	91	22
13	<i>SMAD4</i>	miR-4430	10168	5'UTR	-93	92	18
		miR-619-5p	6677	5'UTR	-110	91	22
14	<i>TP53</i>	miR-4430	3718	5'UTR	-93	92	18
			13071	CDS	-93	92	18
		miR-619-5p	3973	5'UTR	-119	98	22
			11807	CDS	-112	93	22
		<i>miR-4328</i>	530	5'UTR	-81	90	17

miR-1178-5p, miR-6745 имеют сайты связывания в mRNA гена *ALDH2*, ответственного за развитие таких пограничных заболеваний ЖКТ, как цирроз печени и ее алкогольная болезнь, установлено наличие взаимодействий со следующими miRNA (Таблица 3). Сайты связывания находятся в CDS и 3'UTR, а свободная энергия изменяется в пределах -91(-117) kJ/mole. Ген *ARID1A* взаимодействует с miR-4779. Изменения его экспрессии связаны с развитием гепатита, болезни Крона, а также полипоза толстой кишки. Сайты связывания находятся в CDS участке. А показатели энергии связывания равняются

-102 kJ/mole. Ген *BRAF* имеет сайты связывания для двух miRNA (miR-548j-3p, miR-4701-5p), которые связаны с развитием таких пограничных заболеваний ЖКТ, как жировая болезнь печени, воспалительное заболевание кишечника. Сайты связывания локализируются в CDS. Энергия связывания имеет высокие показатели, которые варьируются в пределах -98(-110) kJ/mole. Ген *MSH2* является мишенью для пяти miRNA (miR-6867-3p, miR-4288, miR-593-3p, miR-4288, miR-384). Его экспрессия связана с развитием панкреатита, синдрома Линча и аденоматозного полипоза. Сайты связывания находятся в CDS и

3'UTR. Энергия взаимодействия изменяется в значениях -81(-102) kJ/mole.

Анализ взаимодействий miRNA с соответствующими генами-мишенями, ответственных за развитие пограничных заболеваний желудочно-кишечного тракта, показал, что среди полученных 14 общих последовательностей генов максимум энергии составляет -119 kJ/mole, для сайта связывания *SMAD4* с miR-619-5p при значении score 98. Все сайты связывания локализованы на участке CDS генов. Анализ взаимодействий, полученных miRNA и mRNA генов выявил 16 miRNA: miR-1178-5p, miR-1281, miR-4430, miR-6745, miR-619-5p, miR-3141, miR-4261, miR-4779, miR-3141, miR-4328, miR-548j-3p, miR-4701-5p, miR-6867-3p, miR-4288, miR-593-3p, miR-384, которые участвуют в проявлении пограничных заболеваний желудочно-кишечного тракта.

Таким образом, результаты, полученные в этом исследовании, могут дать представление о механизме связи пограничных заболеваний с раком желудочно-кишечного тракта и помочь разработке новых диагностических маркеров и терапевтических мишеней для пациентов.

Заключение

В результате проведенной работы были выявлены сайты связывания miRNA и mRNA генов-мишеней, которые участвуют в развитии онкологических и пограничных заболеваний органов желудочно-кишечного тракта. Определены характеристики взаимодействий miRNA с ассоциированными генами, а также выявлены гены, ответственные за развитие обоих типов групп заболеваний. В результате выявлено 14 генов: *ALDH2*, *ARID1A*, *ARID2*, *BRAF*, *F2*, *KRAS*, *MCM3*, *MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *PMS2*, *PTEN*, *SMAD4*, *TP53*, участвующих в развитии как онкологических, так и пограничных заболеваний. Установлены сайты связывания следующих miR-1178-5p, miR-1281, miR-4430, miR-6745, miR-619-5p, miR-3141, miR-4261, miR-4779, miR-3141, miR-4328, miR-548j-3p, miR-4701-5p, miR-6867-3p, miR-4288, miR-593-3p, miR-384 с генами, ответственных за развитие пограничных заболеваний ЖКТ, а также miR-1273g-5p, miR-1277-5p, miR-320e, miR-489-5p, miR-181b-3p, miR-1246, miR-141-5p, miR-95-5p, miR-490-3p с генами, связанных с развитием онкологических заболеваний, соответственно.

Литература

- Gabriele N., et al. Air pollution and incidence of cancers of the stomach and the upper aerodigestive tract in the European Study of Cohorts for Air Pollution Effects (ESCAPE) // *Int J Cancer*. – 2018. – Vol. 143, No 7. – P. 1632-1643.
- Hristova V. A. and Chan D. W. Cancer biomarker discovery and translation: proteomics and beyond // *Expert Rev Proteomics*. – 2019. – Vol. 16, No 2. – P. 93-103.
- Calin G.A., Croce C.M. MicroRNA signatures in human cancers // *Nat Rev Cancer*. – 2006. – Vol. 6. – P. 857-866.
- Han T. S., Hur K., Xu G., Choi B., Okugawa Y., Toiyama Y., Oshima H., Oshima M., Lee H. J., Kim V. N., et al. MicroRNA-29c mediates initiation of gastric carcinogenesis by directly targeting ITGB1 // *Gut*. – 2015. – Vol. 64. – P. 203-214.
- Su Z. X., Zhao J., Rong Z. H., Wu Y. G., Geng W. M., Qin C. K. Diagnostic and prognostic value of circulating miR-18a in the plasma of patients with gastric cancer // *Tumour Biol*. – 2014. – Vol. 35. – P. 12119-12125.
- Xu L., Hou Y., Tu G., Chen Y., Du Y. E., Zhang H., Wen S., Tang X., Yin J., Lang L., et al. Nuclear Drosha enhances cell invasion via an EGFR-ERK1/2-MMP7 signaling pathway induced by dysregulated miRNA-622/197 and their targets LAMC2 and CD82 in gastric cancer // *Cell Death Dis*. – 2017. – Vol. 8, No 3. – P. e2642.
- Wu H. H., Lin W. C., Tsai K. W. Advances in molecular biomarkers for gastric cancer: miRNAs as emerging novel cancer markers // *Expert Rev Mol Med*. – 2014. – Vol. 16. – P. e1.
- Garg, A., and Heinemann, U. A novel form of RNA double helix based on G•U and C•A+ 325 wobble base pairing // *RNA*. New York. – 2018. – Vol. 24. – P. 209-218.
- Leontis, N. B., Stombaugh, J., and Westhof, E. The non-Watson-Crick base pairs and their 351 associated isostericity matrices // *Nucleic Acids Res*. – 2002. – Vol. 30. – P. 3497-3531.
- Masoodi M., Gastaldelli A., Hyötyläinen T, Arretxe E. Metabolomics and lipidomics in NAFLD: biomarkers and non-invasive diagnostic tests. // *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. – 2021. – Vol. 12. – P. 835-856.
- Ishioka K., Masaoka H., Itp H., Oze H. Association between ALDH2 and ADH1B polymorphisms, alcohol drinking and gastric cancer: a replication and mediation analysis // *Gastric Cancer*. – 2018. – Vol. 21, No 6. – P. 936-945.
- Kleiner D., Brunt E., Natta M., Behling C., Contos M., Cummings O. Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease // *Hepatology*. – 2005. – Vol. 41, No 6. – P. 1313-21.
- Takahashi Y., Fukusato T. Histopathology of nonalcoholic fatty liver disease/nonalcoholic steatohepatitis // *World J Gastroenterol*. – 2014. – Vol. 20, No 42. – P. 15539-48.

- 14 Shetty D., Amarapurkar A., Shukla A. Primary Versus Secondary NAFLD: Perspective on Advanced Fibrosis // *J Clin Exp Hepatol.* – 2021. – Vol. 11, No 5. – P. 557-564.
- 15 Kuerbanjiang A., Maimaituerxun M., Zhang Y., Li Y. V-Raf murine sarcoma viral oncogene homolog B1 (BRAF) as a prognostic biomarker of poor outcomes in esophageal cancer patients // *BMC Gastroenterol.* – 2021. – Vol. 21, No 1. – P. 86.
- 16 Fanbo Qin F., Zhang J., Gong J., Zhang W. Identification and Validation of a Prognostic Model Based on Three Autophagy-Related Genes in Hepatocellular Carcinoma // *Biomed Res Int.* – 2021. – Vol. 2021. – P. 5564040.
- 17 Li C., Bu J., Liao Y., Zhang J., Han J., Li Z. High Expressions of CUL4A and TP53 in Colorectal Cancer Predict Poor Survival // *Cell Physiol Biochem.* – 2018. – Vol. 51, No 6. – P. 2829-2842.
- 18 Moon S., Balch C., Park S., Lee J., Sung J., Nam S. Systematic Inspection of the Clinical Relevance of TP53 Missense Mutations in Gastric Cancer // *IEEE/ACM Trans Comput Biol Bioinform.* – 2019. – Vol. 16, No 5. – P. 1693-1701.
- 19 Chan W., Lee M., Xuan Yeo Z., Ying D., Grimaldi K. Development and validation of next generation sequencing based 35-gene hereditary cancer panel // *Hered Cancer Clin Pract.* – 2020. – Vol. 18. – P. 9.
- 20 Lou W., Liu J., Ding B., Chen D., Xu L., Ding J., Zhou L. Identification of potential miRNA-mRNA regulatory network contributing to pathogenesis of HBV-related HCC // *J Transl Med.* – 2019. – Vol. 17, No 1. – P. 7.
- 21 Illani Mohd Yunos R., Syakima N., Mutalib A., Jamal R. Actionable Potentials of Less Frequently Mutated Genes in Colorectal Cancer and Their Roles in Precision Medicine // *Biomolecules.* – 2020. – Vol. 10, No 3. – P. 476.
- 22 Khemlina G., Ikeda S., Kurzrock R. The biology of Hepatocellular carcinoma: implications for genomic and immune therapies // *Mol Cancer.* – 2017. – Vol. 16. – P. 149.
- 23 Li H., Jiang J., Peng Z. MicroRNA-mediated interactions between host and hepatitis C virus // *World J Gastroenterol.* – 2016. – Vol. 22, No 4. – P. 1487-96.
- 24 Morato Zanatto R., Santos G., Caris Oliveira J., Marcucci Pracucho E., Lopes-Filho G. Impact of kras mutations in clinical features in colorectal cancer // *Arq Bras Cir Dig.* – 2020. – Vol. 33, No 3. – P. e1524.

References

- 1 Gabriele, N., et al. «Air pollution and incidence of cancers of the stomach and the upper aerodigestive tract in the European Study of Cohorts for Air Pollution Effects (ESCAPE).» *Int J Cancer* 143, no.7 (2018): 1632-1643. doi: 10.1002/ijc.31564
- 2 Hristova, V.A. and Chan, D.W. «Cancer biomarker discovery and translation: proteomics and beyond» *Expert Rev Proteomics* 16, no.2 (2019): 93–103. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6635916/>
- 3 Calin G. A., Croce C. M. «MicroRNA signatures in human cancers.» *Nat Rev Cancer* 6, (2006): 857–866. doi: 10.1038/nrc1997
- 4 Han TS., Hur K., Xu G., Choi B., Okugawa Y., Toiyama Y., Oshima H., Oshima M., Lee H. J., Kim V. N., et al. «MicroRNA-29c mediates initiation of gastric carcinogenesis by directly targeting ITGB1.» *Gut* 64, (2015): 203–214. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24870620>
- 5 Su Z. X., Zhao J., Rong Z. H., Wu Y. G., Geng W. M., Qin C. K. «Diagnostic and prognostic value of circulating miR-18a in the plasma of patients with gastric cancer.» *Tumour Biol* 35, (2014): 12119–12125. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25416437>
- 6 Xu L., Hou Y., Tu G., Chen Y., Du Y. E., Zhang H., Wen S., Tang X., Yin J., Lang L., et al. «Nuclear Drosha enhances cell invasion via an EGFR-ERK1/2-MMP7 signaling pathway induced by dysregulated miRNA-622/197 and their targets LAMC2 and CD82 in gastric cancer.» *Cell Death Dis* 8, (2017): e2642. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28252644/>
- 7 Wu H. H., Lin W. C., Tsai K. W. «Advances in molecular biomarkers for gastric cancer: miRNAs as emerging novel cancer markers.» *Expert Rev Mol Med* 16, (2014): e1. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24456939>
- 8 Garg, A., and Heinemann, U. «A novel form of RNA double helix based on G•U and C•A+ 325 wobble base pairing.» *RNA*. New York 24, (2018): 209–218. doi:10.1261/rna.064048.117
- 9 Leontis, N. B., Stombaugh, J., and Westhof, E. «The non-Watson-Crick base pairs and their 351 associated isostericity matrices.» *Nucleic Acids Res* 30, (2002): 3497–3531. doi:10.1093/nar/gkf481
- 10 Masoodi M., Gastaldelli A., Hyötyläinen T, Arretxe E. «Metabolomics and lipidomics in NAFLD: biomarkers and non-invasive diagnostic tests.» *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 18, no.12 (2021): 835-856. doi: 10.1038/s41575-021-00502-9
- 11 Ishioka K., Masaoka H., Itp H., Oze H. «Association between ALDH2 and ADH1B polymorphisms, alcohol drinking and gastric cancer: a replication and mediation analysis» *Gastric Cancer* 21, no.6 (2018): 936-945. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29616362/>
- 12 Kleiner D., Brunt E., Natta M., Behling C., Contos M., Cummings O. «Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease» *Hepatology* 41, no.6 (2005): 1313–21. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15915461/>
- 13 Takahashi Y., Fukusato T. «Histopathology of nonalcoholic fatty liver disease/nonalcoholic steatohepatitis» *World J Gastroenterol* 20, no.42 (2014): 15539–48. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25400438/>
- 14 Shetty D., Amarapurkar A., Shukla A. «Primary Versus Secondary NAFLD: Perspective on Advanced Fibrosis» *J Clin Exp Hepatol* 11, no.5 (2021): 557–564. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34511816/>
- 15 Kuerbanjiang A., Maimaituerxun M., Zhang Y., Li Y. «V-Raf murine sarcoma viral oncogene homolog B1 (BRAF) as a prognostic biomarker of poor outcomes in esophageal cancer patients» *BMC Gastroenterol* 21, no.1 (2021): 86. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33622273/>
- 16 Fanbo Qin F., Zhang J., Gong J., Zhang W. «Identification and Validation of a Prognostic Model Based on Three Autophagy-Related Genes in Hepatocellular Carcinoma» *Biomed Res Int* 2021, (2021): 5564040. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33778066/>

- 17 Li C., Bu J., Liao Y., Zhang J., Han J., Li Z. «High Expressions of CUL4A and TP53 in Colorectal Cancer Predict Poor Survival» *Cell Physiol Biochem* 51, no.6 (2018): 2829-2842. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30562757/>
- 18 Moon S., Balch C., Park S., Lee J., Sung J., Nam S. «Systematic Inspection of the Clinical Relevance of TP53 Missense Mutations in Gastric Cancer» *IEEE/ACM Trans Comput Biol Bioinform* 16, no.5 (2019): 1693-1701. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29994072/>
- 19 Chan W., Lee M., Xuan Yeo Z., Ying D., Grimaldi K. «Development and validation of next generation sequencing based 35-gene hereditary cancer panel» *Hered Cancer Clin Pract* 18, (2020): 9. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32368312/>
- 20 Lou W., Liu J., Ding B., Chen D., Xu L., Ding J., Zhou L. «Identification of potential miRNA-mRNA regulatory network contributing to pathogenesis of HBV-related HCC» *J Transl Med* 17, no.1 (2019): 7. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30602391/>
- 21 Illani Mohd Yunus R., Syakima N., Mutalib A., Jamal R. «Actionable Potentials of Less Frequently Mutated Genes in Colorectal Cancer and Their Roles in Precision Medicine» *Biomolecules* 10, no.3 (2020): 476. doi:10.3390/biom10030476
- 22 Khemlina G., Ikeda S., Kurzrock R. «The biology of Hepatocellular carcinoma: implications for genomic and immune therapies» *Mol Cancer* 16, (2017): 149. doi: 10.1186/s12943-017-0712-x
- 23 Li H., Jiang J., Peng Z. «MicroRNA-mediated interactions between host and hepatitis C virus» *World J Gastroenterol* 22, no.4 (2016): 1487-96. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26819516/>
- 24 Morato Zanatto R., Santos G., Caris Oliveira J., Marcucci Pracucho E., Lopes-Filho G. «Impact of kras mutations in clinical features in colorectal cancer» *Arq Bras Cir Dig* 33, no.3 (2020): e1524. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33331426/>