

## Некодирующие РНК как терапевтические мишени при травме спинного мозга

© О.А. Бейлерли<sup>1</sup>, Ш.Т. Азизова<sup>2</sup>, Н.А. Коновалов<sup>3</sup>, А.Д. Ахмедов<sup>3</sup>, И.Ф. Гареев<sup>1</sup>, А.А. Белогуров<sup>4</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Уфа, Россия;

<sup>2</sup>ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский университет), Москва, Россия;

<sup>3</sup>ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр нейрохирургии им. акад. Н.Н. Бурденко» Минздрава России, Москва, Россия;

<sup>4</sup>ФГБУН «Институт биорганической химии им. акад. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова» РАН, Москва, Россия

### Резюме

Травма спинного мозга (ТСМ) может привести к стойкой двигательной дисфункции и соматосенсорным нарушениям, которые негативно влияют на качество жизни пациентов и создают значительную экономическую нагрузку. В понимании патофизиологии ТСМ все большее значение приобретает изучение вторичных биомолекулярных процессов, связанных с изменениями генной экспрессии. Анализ результатов международного секвенирования генома человека в 2004 г. выявил около 20 тыс. кодирующих белок генов, охватывающих около 2% общей геномной последовательности. Подавляющее большинство транскриптов генов характеризуются как некодирующие РНК (нкРНК) и представляют собой кластеры РНК, которые регулируют экспрессию генов на посттранскрипционном уровне. Они могут быть небольшими, длиной примерно 20 нуклеотидов, известными как микроРНК, или длиной более 200 нуклеотидов, определяемыми как длинные некодирующие РНК (длнРНК). Ряд современных исследований описывает временную экспрессию микроРНК при повреждении спинного мозга, которые связаны с такими процессами, как воспаление и апоптоз, регенерация и функциональное восстановление. Крупномасштабный геномный анализ продемонстрировал существование множества длнРНК, экспрессия которых связана с некоторыми процессами повреждения спинного мозга. В зависимости от положения относительно кодирующих генов, длнРНК можно разделить на 2 большие категории: межгенные и инtragenные. Межгенные длнРНК представляют собой наиболее изученный класс. Внутригенные длнРНК можно подразделить в зависимости от того, как они перекрывают кодирующие гены (антисмысловые, интронные и т.д.). Недавние исследования показали, что длнРНК в избытке присутствуют в тканях центральной нервной системы и могут играть важнейшую роль в патогенезе ее заболеваний. На клеточном уровне показано, что длнРНК регулируют экспрессию кодирующих белок РНК и участвуют в таких процессах, как гибель нейронов, демиелинизация и активация глии. Этот обзор посвящен анализу литературных данных о роли нкРНК в патогенезе ТСМ и их потенциальному использованию в качестве мишеней для лечения последствий повреждений спинного мозга.

**Ключевые слова:** некодирующие РНК, микроРНК, длинные некодирующие РНК, травма спинного мозга, патофизиология, глимальная активация, терапия.

### Информация об авторах:

Бейлерли О.А. — <https://orcid.org/0000-0002-6149-5460>; e-mail: obeyleerli@mail.ru\*

Азизова Ш.Т. — <https://orcid.org/0000-0002-8672-2703>

Коновалов Н.А. — <https://orcid.org/0000-0002-9976-948X>

Ахмедов А.Д. — <https://orcid.org/0000-0001-5780-8519>

Гареев И.Ф. — <https://orcid.org/0000-0002-4965-0835>

Белогуров А.А. — <https://orcid.org/0000-0002-2033-9621>

\* — автор, ответственный за переписку

### Как цитировать:

Бейлерли О.А., Азизова Ш.Т., Коновалов Н.А., Ахмедов А.Д., Гареев И.Ф., Белогуров А.А. Некодирующие РНК как терапевтические мишени при травме спинного мозга. *Вопросы нейрохирургии им. Н.Н. Бурденко*. 2020;84(4):104-110. <https://doi.org/10.17116/neiro202084031104>

## Non-coding RNAs as therapeutic targets in spinal cord injury

© О.А. Beylerli<sup>1</sup>, Sh.T. Azizova<sup>2</sup>, N.A. Konovalov<sup>3</sup>, A.D. Akhmedov<sup>3</sup>, I.F. Gareev<sup>1</sup>, A.A. Belogurov<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Bashkir State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Ufa, Russia;

<sup>2</sup>Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia;

<sup>3</sup>Burdenko Neurosurgical Center, Moscow, Russia;

<sup>4</sup>Shemyakin-Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Moscow, Russia

### Abstract

Spinal cord injury (SCI) may be followed by persistent motor dysfunction and somatosensory disturbances that negatively influences the quality of life of patients and creates a significant economic burden. Analysis of secondary biological processes associated with changes in genetic expression is becoming increasingly important every day in understanding the pathophysiology of spinal cord injury. The results of international sequencing of the human genome were analyzed in 2004. These data revealed about 20,000 protein-coding genes covering near 2% of the total genomic sequence. The vast majority of gene transcripts are actually

characterized as non-coding RNAs (ncRNAs). These RNA clusters do not encode functional proteins and ensure post-transcriptional regulation of gene expression. The clusters may be small (approximately 20 nucleotides) known as miRNAs or the transcripts can enroll over 200 nucleotides defined as long non-coding RNAs (lncRNAs). Some modern studies describe transient expression of microRNA in case of spinal cord injury. These RNAs are associated with inflammation and apoptosis, functional recovery and regeneration. Large-scale genomic analysis has demonstrated the existence of multiple lncRNAs whose expression is associated with some processes of spinal cord injury. lncRNA can be divided into two categories depending on the position in relation to the coding genes: intergenic and intragenic. Intergenic lncRNAs is currently the most studied class. Intragenic lncRNAs can be subdivided depending on the overlap of the coding genes (antisense, intron, etc.). According to recent studies, long non-coding RNAs are abundantly present in the tissues of central nervous system and may be crucial in the pathogenesis of certain diseases of nervous system. At the cellular level, it has been shown that lncRNAs regulate the expression of protein-coding RNAs. Moreover, these molecules are involved into such processes as neuronal death, demyelination and glia activation. This review is devoted to the role of ncRNAs in the pathogenesis of spinal cord injury and their potential use as targets for the treatment of consequences of spinal cord injury.

**Keywords:** *ncRNA, miRNA, lncRNA, spinal cord injury, pathophysiology, glial activation, therapy.*

#### Information about the authors:

Beylerli O.A. — <https://orcid.org/0000-0002-6149-5460>; e-mail: obeylerli@mail.ru\*

Azizova Sh.T. — <https://orcid.org/0000-0002-8672-2703>

Konovalov N.A. — <https://orcid.org/0000-0002-9976-948X>

Akhmedov A.D. — <https://orcid.org/0000-0001-5780-8519>

Gareev I.F. — <https://orcid.org/0000-0002-4965-0835>

Belogurov A.A. — <https://orcid.org/0000-0002-2033-9621>

\* — corresponding author

#### To cite this article:

Beylerli OA, Azizova ShT, Konovalov NA, Akhmedov AD, Gareev IF, Belogurov AA. Non-coding RNAs as therapeutic targets in spinal cord injury. *Burdenko's Journal of Neurosurgery = Zhurnal voprosy neirokhirurgii im. N.N. Burdenko*. 2020;84(4):104-110. (In Russ.). <https://doi.org/10.17116/neiro202084031104>

#### Список сокращений

ТСМ — травма спинного мозга

нкРНК — некодирующие РНК

длнРНК — длинные некодирующие РНК

СМ — спинной мозг

Повреждение спинного мозга (СМ) при травме часто приводит к значительному снижению качества жизни и инвалидизации. Это связано с нарушением и утратой моторных и сенсорных функций, нарушением функции систем жизнеобеспечения — дыхательной, сердечно-сосудистой, нарушением деятельности желудочно-кишечного тракта и мочевыведения, а также связано с развитием костно-мышечных деформаций [1, 2]. Частота травмы спинного мозга (ТСМ) в мире составляет 10,5 случаев на 100 тыс. человек в год, что соответствует примерно 750 тыс. случаев ежегодно. Средний возраст пострадавших составляет 39,8 года. Мужчины получают спинальную травму в 3,37 раза чаще женщин. Таким образом, в зоне риска оказывается самая активная группа населения, что обуславливает важность разработки новых подходов к диагностике и лечению этой патологии [2].

Существует 2 основных механизма повреждения СМ: первичное механическое и вторичное, включающее воспаление, ацидоз и апоптоз, образование глиального рубца, который действует как физический и молекулярный барьер для регенерации аксонов [3–5]. К вторичным повреждениям СМ относится астроглиоз, при котором резко увеличивается количество астроцитов в зоне повреждения нейронов

при травме, инфекции, инсульте или нейродегенеративном заболевании. Однако астроглиоз играет важную роль в процессах регенерации, поскольку восстанавливает гомеостаз после повреждения СМ, облегчая восстановление гематоэнцефалического барьера и подавляя процесс воспаления [6, 7]. Благоприятный эффект астроглиоза обнаружен в ранней гипертрофической фазе повреждения СМ, тогда как поздняя гиперпластическая фаза приводит к образованию плотного рубца, который затрудняет регенерацию аксонов [8, 9]. Вместе с тем показано, что апоптозу подвержены не только нейроны, но и другие клетки СМ, такие как олигодендроциты и клетки микроглии [6]. Потеря олигодендроцитов в трактах белого вещества продолжается и спустя несколько недель после повреждения СМ и может способствовать прогрессирующей демиелинизации [10, 11].

Изменение экспрессии генов играет важную роль в патогенезе вторичного повреждения СМ. Однако мало известно о механизмах, которые регулируют изменение экспрессии этих генов. Около 70–80% человеческого генома активно транскрибируется в РНК, тогда как только 2% транскрибируется в белок-кодирующие микроРНК, и это указывает на то, что количество некодирующих РНК (нкРНК) намного выше, чем количество кодирующих белок генов. В зависи-

мости от размера транскрипта нкРНК сгруппированы в два основных класса: малые и длинные. Малые нкРНК включают хорошо описанные микроРНК, малые интерферирующие РНК (миРНК) и piwi-взаимодействующие РНК. Так, нкРНК являются хорошими кандидатами на роль регуляторов вторичного повреждения СМ, поскольку они могут регулировать группы генов посттрансляционным способом [11–13]. Некоторые формы микроРНК играют существенную роль в эмбриональном развитии нервной системы и являются важными медиаторами нейрональной пластичности [14, 15]. Доказано участие ряда микроРНК в развитии тяжелых неврологических заболеваний, таких как синдром Туретта [16]. Некоторые исследования направлены на определение роли микроРНК в процессах нейродегенерации [17, 18]. Следует отметить, что до 40% всех известных нкРНК специфически экспрессируются в головном мозге и других отделах центральной нервной системы [19]. Это открытие показало, что длинные некодирующие РНК (длнРНК) могут участвовать в патогенезе заболеваний нервной системы. В связи с этим идентификация экспрессированных нкРНК с использованием геномных подходов откроет путь к пониманию развития заболеваний, опосредованных длнРНК. Роль нкРНК в повреждении СМ остается недостаточно изученной, несмотря на то что обнаружена экспрессия большого количества нкРНК в СМ мышей.

#### **Экспрессия микроРНК при повреждении спинного мозга**

N. Liu и соавт. провели эксперимент на крысах с черепно-мозговой травмой, чтобы определить экспрессию микроРНК во времени [15]. Авторы смогли определить, что СМ травмированной крысы содержит приблизительно 77% (269) микроРНК, идентифицированных у здоровой крысы (350), что позволяет предположить, что СМ является богатым источником экспрессии микроРНК. Экспрессия 97 из 269 микроРНК изменилась после повреждения СМ. Экспрессия 60 из 97 микроРНК обнаружена в умеренном, высоком и очень высоком количестве. Экспрессия остальных 37 микроРНК была на низком уровне. Поскольку декомпрессия СМ является основным вариантом хирургического лечения при травме, M. Ziu и соавт. провели исследование, чтобы проанализировать пространственную и временную экспрессию различных микроРНК и их связь с продолжительностью сдавления СМ [20]. Эти исследователи смогли доказать, что экспрессия некоторых микроРНК отличается в зависимости от времени сдавления. В частности, miR-107 экспрессируется в модели длительного сдавления, в то время как ее уровень не изменяется в модели короткого сдавления. Экспрессия miR-148 повышена через 3 и 6 ч после продолжительного повреждения при сдавлении и через 6 ч при коротком

сдавлении. Кроме того показано, что miR-210 активируется через 3, 6 и 24 ч в модели длительного сдавления и только через 24 часа, если сдавление имеет короткую продолжительность.

#### **МикроРНК, связанные с воспалением и апоптозом**

V. Sahni и соавт. провели эксперимент на мышцах с повреждением СМ, чтобы определить роль костных морфогенетических белков (BMPs; bone morphogenetic proteins) и их рецепторов в астроглиозе, вторичном к повреждению СМ [9]. Эти авторы смогли выявить значительное увеличение уровней BMP4 через 4, 7 и 15 дней после травмы. Они также обнаружили умеренное повышение уровня BMP7 через 4 дня после травмы, а также возврат к исходному уровню через 7 дней. Исследователи также показали увеличение транскрипции рецептора 1a BMP (BMPR1a) и белка GFAP (glial fibrillary acidic protein) через 4 и 7 дней после повреждения. Сигнальный путь BMP включает белки SMAD (similar to mothers against decapentaplegic), и показано, что эти белки контролируют посттранскрипционный процессинг miR-21 [17]. При изучении поведения этой микроРНК они смогли продемонстрировать, что передача сигналов BMPR1a ингибирует цитоплазматический процессинг miR-21 таким образом, что обработанный конечный продукт этой микроРНК обычно ингибируется при повреждении СМ. Впоследствии O. Bhalala и соавт. провели эксперимент на мышцах с целью выяснения роли miR-21 в астроцитарном ответе после повреждения СМ [21]. Авторы продемонстрировали, что после травматического повреждения СМ сверхэкспрессия miR-21 в астроцитах ослабляет гипертрофический ответ. Помимо этого они обнаружили, что ингибирование функции miR-21 сопровождается увеличением плотности аксонов в месте поражения. Авторам удалось показать новый эффект miR-21 в регуляции астроцитарной гипертрофии и прогрессии глиального рубца после повреждения СМ. В. Izumi и соавт. сосредоточились на изучении экспрессии miR-223 и смогли выявить высокую экспрессию этой микроРНК через 12 ч после повреждения СМ [22]. В отношении апоптоза G. Liu и соавт. продемонстрировали значительное изменение экспрессии некоторых микроРНК у крыс с повреждением СМ; фактически они обнаружили увеличение экспрессии Let-7a и miR-16 и снижение уровня miR-15b через 10 дней после повреждения [23].

#### **Микро РНК, связанные с функциональным восстановлением и регенерацией**

Регенерация — способность воспроизводить точные копии утраченных анатомических структур. Это явление, наблюдаемое у некоторых видов позвоночных,

таких как саламандры, аксолотли и рыбки данио, утрачено млекопитающими. Молекулярные механизмы, с помощью которых осуществляется этот процесс, все еще не ясны [24]. Исследована роль микроРНК в регенерации СМ после его повреждения у некоторых из этих видов. Т. Sehm и соавт. провели эксперимент на аксолотлях и определили роль miR-196 в регенерации хвоста после его ампутации [24]. Авторы показали значительное увеличение экспрессии miR-196 в первые 14 дней после ампутации, которое впоследствии не поддерживалось. Ингибирование miR-196 приводило к существенным дефектам регенерации. Полученные данные свидетельствуют о том, что эта микроРНК играет ключевую роль на ранних стадиях регенерации хвоста, ампутированного у аксолотлей. У этого же вида J. Díaz Quiroz и соавт. обнаружили, что miR-125b необходима для функционального восстановления повреждений СМ [25]. Авторы показали, что снижение уровня miR-125b у аксолотля до уровня, отмечаемого у крыс, ингибирует регенерацию за счет регуляции гена *Sema4D*, который вызывает образование глиального рубца. Также изучали роль miR-133b в функциональном восстановлении после повреждения СМ Y. Yu и соавт. [26]. Для этого они использовали модель повреждения СМ у рыбок данио и выявили положительную регуляцию miR-133b в нейронах. Ингибирование miR-133b привело к изменению моторного восстановления, а также к снижению регенерации аксонов при наблюдении за регенерацией в области среза СМ.

#### Потенциальные мишени микроРНК при повреждении спинного мозга

##### Воспаление, ацидоз и апоптоз

N. Liu и соавт. проанализировали роль микроРНК после повреждения СМ при исследовании потенциальных генов-мишеней [15]. Посредством статистического анализа они продемонстрировали, что эти мишени являются генами, которые кодируют компоненты, вовлеченные в различные физиологические процессы, такие как воспаление, ацидоз и апоптоз. Гены, ингибирующие воспалительный процесс, являются потенциальными мишенями для некоторых микроРНК. К ним относятся miR-221, miR-1, miR-206, miR-152, miR-122, miR-181a, miR-411, miR-99a, miR-34a, miR-30c, miR-384-5p, miR-30b-5p и miR-214. Ряд генов, ответственных за апоптоз, являются потенциальными мишенями для микроРНК, экспрессия которых понижена после повреждения СМ (miR-127, iR-181a, miR-411, miR-34a и miR-384-5p). Результаты исследований показывают, что аномальная экспрессия микроРНК после травматического повреждения СМ может способствовать генезу вторичных повреждений. Таким образом, эти микроРНК могут быть потенциальными мишенями для лечения травмы СМ. V. Sahni и соавт. отметили, что miR-21

отрицательно регулирует реактивную гипертрофию астроцитов при повреждении СМ [9]. Но авторы пока не смогли определить мишени miR-21, которые могут повлиять на увеличение размера астроцитов. В исследовании микроРНК, связанных с апоптозом, G. Liu и соавт. показали, что увеличение экспрессии Let-7a сопровождалось увеличением экспрессии RAS (семейство генов, а также белки, которые они кодируют — так называемые малые G-белки (малые ГТФазы)) и MYC (семейство генов, которые участвуют в контроле клеточной пролиферации, дифференцировки и канцерогенеза) через 10 дней после поражения; однако через 31 день экспрессия RAS и MYC вернулась к базовым уровням, несмотря на то, что уровень Let-7a оставался повышенным [23]. С одной стороны, увеличение экспрессии микроРНК связано с повышенной экспрессией Bcl-2. С другой стороны, показано, что физические упражнения после повреждения СМ поддерживают мышечную массу в парализованных конечностях, стимулируют анатомическую и биохимическую пластичность в СМ и приводят к повышению уровня нейротрофических факторов в мышцах и в СМ [27—32]. Эти данные послужили обоснованием для изучения влияния физических упражнений на экспрессию некоторых микроРНК [23]. В этой работе G. Liu и соавт. удалось показать, что физические упражнения в течение 5 дней после повреждения СМ сопровождалось значительным увеличением экспрессии miR-21, известной своим антиапоптотическим эффектом, а также значительным снижением экспрессии miR-15b [23]. Повышенная экспрессия miR-21 приводила к снижению экспрессии РНК-мессенджера PTEN (phosphatase and tensin homolog) и PDC4 (programmed cell death protein 4). Известно, что ингибирование этих белков связано с уменьшением апоптоза в раковых клетках путем ингибирования протеинкиназ B [23].

##### Функциональное восстановление и регенерация

T. Sehm и соавт. изучали потенциальные цели miR-196 в отношении регенерации хвоста у аксолотля [24]. Авторы доказали, что эта микроРНК действует непосредственно на ген *Pax7*, подавляя уровни экспрессируемого белка, тем самым влияя на деление клеток во время регенерации и продуцируя фенотип малого хвоста. Механизм, с помощью которого этот белок продуцировал указанный фенотип, осуществлялся через петлю обратной связи с белками BMP4 и Msx1 (Msh homeobox 1), необходимыми для контроля пролиферации клеток в СМ. J. Díaz Quiroz и соавт., после определения miR-125 как важного фактора в создании среды, которая является условием регенерации, проверили эффект повышения уровня miR-125b у крыс после повреждения СМ [25]. Для этого они вводили синтетический вариант miR-125b в место поражения через 7 дней после травмы и показали

снижение уровня Sema4D и образование глиальных рубцов, а также положительное влияние на функциональное восстановление (улучшение передвижения у некоторых животных). В своем исследовании роли miR-133b в функциональном восстановлении после повреждения СМ Y. Yu и соавт. выявили, что эта микроРНК важна для регенерации СМ у взрослых рыбок данио, которая происходит путем снижения уровня белка RhoA (RAS homolog gene family, member A) малой ГТФазы (гуанозинтрифосфата) [26]. Изучены закономерности активации этого белка после повреждения СМ и его роль в апоптозе клеток центральной нервной системы [33]. Оба белка, происходящие из миелина, и фактор некроза опухоли непосредственно активируют Rho. Инактивация Rho C3-05 (RAS homolog gene family, member C3-05 антагонист RhoA) после повреждения СМ блокирует повышение уровня белка p75NTR (p75 neurotrophin receptor) и ингибирует апоптоз. Инактивация Rho C3-05 предотвращает апоптоз и стимулирует регенерацию. Способ, которым miR-133b вызывает это уменьшение, заключается в ее непосредственном взаимодействии с РНК-посредником RhoA. Это важный вывод, поскольку показано, что инактивация этой ГТФазы приводит к восстановлению координации между передними и задними конечностями у мышей [34].

#### *Функциональная роль длнРНК при повреждении спинного мозга*

В последнее время открываются новые характеристики дифференциально экспрессированных длнРНК при ТСМ. В частности, модуляция глиальной активации и апоптоза нейронов с помощью длнРНК стала областью интенсивного исследования.

#### *Глиальная активация*

Глия может быть активирована в течение 1 дня (активация микроглии) и сохраняться в течение месяцев или даже лет (астроглиоз) после повреждения СМ [35—37]. В модели острой контузионной ТСМ у крыс обнаружено, что уровень белка MALAT1 (metastasis associated lung adenocarcinoma transcript 1) значительно повышен в поврежденной области СМ [38]. MALAT1 активирует miR-199b и, следовательно, способствует выработке провоспалительных цитокинов. Ингибирование спинального MALAT1 приводило к уменьшению экспрессии микроглиального маркера Iba-1 и провоспалительных цитокинов в эпицентре контузии и к улучшению локомоторной функции задней конечности. Однако роль MALAT1 в поляризации микроглии в этом исследовании не изучалась. В другом отчете установлено, что экспрессия нкРНК lncSCIR1 постоянно снижается на 1-, 4- и 7-й день после умеренной контузионной ТСМ [39]. Количество lncSCIR1 обратно пропорционально кор-

релировало с экспрессией костного морфогенетического белка 7 (Bmp7) и адреномедуллина (Adm), которые способствуют формированию астроглиоза в СМ [40, 41]. Ингибирование lncSCIR1 приводило к стимулированию миграции и пролиферации культивируемых астроцитов [39]. Однако большинство функциональных исследований выполнено *in vitro*. Тем не менее эти исследования предоставили предварительные доказательства того, что длнРНК могут участвовать в глиогенезе после ТСМ.

#### **Нейрональный апоптоз**

Гибель нейронов является наиболее очевидным следствием повреждения спинного мозга, особенно в острой фазе. Поэтому молекулы-модуляторы апоптоза нейронов постоянно привлекают внимание исследователей. XIST (X-inactive specific transcript) идентифицировали как одну из активных длнРНК с наибольшими кратными изменениями количества молекул в модели контузионной ТСМ у мышей [42]. Ингибирование XIST оказывало значительное нейропротекторное воздействие путем активации белка (PI3K)/АКТ в поврежденном СМ. Ингибирование XIST приводило к повышению экспрессии miR-494, которая затем ингибировала делецию PTEN. Снижение уровня PTEN активирует путь PI3K/АКТ и защищает нейроны от апоптоза.

#### *Возможные варианты терапии*

Роль микроРНК в повреждении СМ нуждается в дальнейшем изучении, однако появляется все больше свидетельств того, что микроРНК представляют новый класс терапевтических мишеней [43—45]. МикроРНК в центральной нервной системе снижают уровень белка посредством посттранскрипционной регуляции [16, 46]. Таким образом, ингибирование микроРНК, связанной с конкретным заболеванием, может устранить блокировку экспрессии нужного белка. Напротив, введение миметика микроРНК может стимулировать популяцию эндогенной микроРНК, которая подавляет нужный ген [47]. Некоторые модифицированные РНК могут быть использованы в качестве предварительно обработанных микроРНК или в качестве олигонуклеотидов против микроРНК [48]. Олигонуклеотиды против микроРНК являются комплекментарными нуклеотидами с обратной цепью. Их стабильность и специфика улучшены химическими модификациями. Показано, что олигонуклеотиды с 2'-O-метил-модификацией являются эффективными ингибиторами нескольких клеточных линий и культивируемых нейронов [49—51]. МикроРНК имитируют небольшие, как правило, двухцепочечные, химически модифицированные олигонуклеотиды, которые можно использовать для

подавления специфических белков-мишеней. Двухцепочечная структура необходима для эффективного объединения с RISC (RNA-induced silencing complex). Одна из цепей представляет собой зрелую микроРНК, а комплементарная цепочка образует комплекс с последовательностью зрелой микроРНК [51]. Хотя эти имитаторы часто используются в исследованиях сельскохозяйственных культур, пока нет данных, доказывающих их эффективность [52]. По-прежнему существует много проблем для использования микроРНК в качестве терапевтических мишеней, а именно сложное введение, возможные воздействия на другие генетические системы и обеспечение их безопасности. Однако стратегия манипулирования микроРНК *in vivo* для регуляции патологических процессов становится возможным терапевтическим подходом. Лучшее понимание их биосинтеза и функции, несомненно, будет способствовать развитию терапии с помощью микроРНК.

## Заключение

Травма спинного мозга является причиной инвалидности работоспособного населения и до настоящего времени остается серьезной клинической проблемой, для решения которой требуются интенсивные исследования. Начаты исследования некоди-

рующих РНК при этой патологии, которые показали их важность в контроле воспаления, ацидоза, апоптоза, пролиферации и регенерации. Необходимо продолжить изучение некодирующих РНК при поражении спинного мозга, а также выявление генов-мишеней и механизмов передачи сигналов, участвующих в их неврологических эффектах. Благодаря взаимодействию с сетью кодирующих генов, некодирующие РНК участвуют в различных клеточных и тканевых изменениях на всех стадиях травмы спинного мозга. Таким образом, дерегуляция некодирующих РНК представляет новое измерение в воздействии на молекулярные механизмы при травмах спинного мозга. При этом конечной целью является разработка эффективных и безопасных терапевтических и диагностических стратегий для пациентов с повреждением спинного мозга.

## Участие авторов:

Концепция и дизайн исследования — О.Б., Н.К.

Сбор и обработка материала — Ш.А., А.А., А.Б.

Анализ данных — Ш.А., А.А., А.Б.

Написание текста — И.Г.

Редактирование — О.Б., Н.К.

**Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.**

**The authors declare no conflicts of interest.**

## ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- Silva NA, Sousa N, Reis RL, Salgado AJ. From basics to clinical: A comprehensive review on spinal cord injury. *Progress in Neurobiology*. 2014;114:25-57. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2013>
- Kumar R, Lim J, Mekary RA, Rattani A, Dewan MC, Sharif SY, Osorio-Fonseca E, Park KB. Traumatic Spinal Injury: Global Epidemiology and Worldwide Volume. *World Neurosurgery*. 2018;113:345-363. <https://doi.org/10.1016/j.wneu.2018.02.033>
- Di Giovanni S, Knobloch SM, Brandoli C, Aden SA, Hoffman EP, Faden AI. Gene profiling in spinal cord injury shows role of cell cycle in neuronal death. *Annals of Neurology*. 2003;53(4):454-468. <https://doi.org/10.1002/ana.10472>
- Nesic O, Svrakic NM, Xu GY, McAdoo D, Westlund KN, Hulsebosch CE, Zeiming Ye, Galante A, Soteropoulos P, Tolias P, Young W, Hart RP, Perez Polo JR. DNA microarray analysis of the contused spinal cord: Effect of NMDA receptor inhibition. *Journal of Neuroscience Research*. 2002;68(4):406-423. <https://doi.org/10.1002/jnr.10171>
- Silver J, Miller JH. Regeneration beyond the glial scar. *Nature Reviews Neuroscience*. 2004;5(2):146-156. <https://doi.org/10.1038/nrn1326>
- Sofroniew MV. Reactive astrocytes in neural repair and protection. *Neuroscientist*. 2005;11(5):400-407. <https://doi.org/10.1177/1073858405278321>
- Herrmann JE, Imura T, Song B, Qi J, Ao Y, Nguyen TK, Korsak RA, Takekida K, Akira S, Sofroniew MV. STAT3 is a critical regulator of astrogliosis and scar formation after spinal cord injury. *The Journal of Neuroscience: the Official Journal of the Society for Neuroscience*. 2008;28(28):7231-7243. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1709-08.2008>
- Barnabé Heider F, Frisén J. Stem cells for spinal cord repair. *Cell Stem Cell*. 2008;3(1):16-24. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2008.06.011>
- Sahni V, Mukhopadhyay A, Tysseling V, Hebert A, Birch D, McGuire TL, Stupp SI, Kessler JA. BMPRI and BMPRIb signaling exert opposing effects on gliosis after spinal cord injury. *Journal of Neuroscience*. 2010;30(5):1839-1855. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4459-09.2010>
- Beattie MS, Farooqui AA, Bresnahan JC. Review of current evidence for apoptosis after spinal cord injury. *Journal of Neurotrauma*. 2000;17(10):915-925. <https://doi.org/10.1089/neu.2000.17.915>
- Shuman SL, Bresnahan JC, Beattie MS. Apoptosis of microglia and oligodendrocytes after spinal cord contusion in rats. *Journal of Neuroscience Research*. 1997;50(5):798-808. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-4547\(19971201\)50:5<798::AID-JNR16>3.0.CO;2-Y](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-4547(19971201)50:5<798::AID-JNR16>3.0.CO;2-Y)
- Chan CS, Elemento O, Tavazoie S. Revealing posttranscriptional regulatory elements through network-level conservation. *PLoS Computational Biology*. 2005;1(7):69. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.0010069>
- Lim LP, Lau NC, Garrett-Engle P, Grimson A, Schelter JM, Castle J, Bartel DP, Linsley PS, Johnson JM. Microarray analysis shows that some microRNAs downregulate large numbers of target mRNAs. *Nature*. 2005;433(7027):769-773. <https://doi.org/10.1038/nature03315>
- Hu JZ, Huang JH, Zeng L, Wang G, Cao M, Lu HB. Anti-apoptotic effect of microRNA-21 after contusion spinal cord injury in rats. *Journal of Neurology*. 2013;30(15):1349-1360. <https://doi.org/10.1089/neu.2012.2748>
- Liu NK, Wang XF, Lu QB, Xu XM. Altered microRNA expression following traumatic spinal cord injury. *Experimental Neurology*. 2009;219(2):424-429. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2009.06.015>
- Kosik KS. The neuronal microRNA system. *Nature Reviews Neuroscience*. 2006;7(12):911-920. <https://doi.org/10.1038/nrn2037>
- Bilen J, Liu N, Burnett BG, Pittman RN, Bonini NM. MicroRNA pathways modulate polyglutamine-induced neurodegeneration. *Molecular Cell*. 2006;24(1):157-163. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2006.07.030>
- Schaefer A, O'Carroll D, Tan CL, Hillman D, Sugimori M, Llinas R, Greenberg P. Cerebellar neurodegeneration in the absence of microRNAs. *Journal of Experimental Medicine*. 2007;204(7):1553-1558. <https://doi.org/10.1084/jem.20070823>

19. Derrien T, Johnson R, Bussotti G, Tanzer A, Djebali S, Tilgner H, Guernec G, Martin D, Merkel A, Knowles DG, Lagarde J, Veeravalli L, Ruan X, Ruan Y, Lassmann T, Carninci P, Brown JB, Lipovich L, Gonzalez JM, Thomas M, Davis CA, Shiekhattar R, Gingeras TR, Hubbard TJ, Notredame C, Harrow J, Guigó R. The GENCODE v7 catalog of human long noncoding RNAs: analysis of their gene structure, evolution, and expression. *Genome Research*. 2012;22(9):1775-1789.
20. Ziu M, Fletcher L, Savage JG, Jimenez DF, Digicaylioglu M, Bartanusz V. Spatial and temporal expression levels of specific microRNAs in a spinal cord injury mouse model and their relationship to the duration of compression. *Spine Journal*. 2014;14(2):353-360.
21. Bhalala O, Pan L, Sahni V, McGuire TL, Gruner K, Tourtellotte WG, Kessler JA. microRNA-21 regulates astrocytic response following spinal cord injury. *Journal of Neuroscience*. 2012;32:17935-17947. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3860-12.2012>
22. Izumi B, Nakasa T, Tanaka N, Nakanishi K, Kamei N, Yamamoto R, Nakamae T, Ohta R, Fujioka Y, Yamasaki K, Ochi M. MicroRNA-223 expression in neutrophils in the early phase of secondary damage after spinal cord injury. *Neuroscience Letters*. 2011;492(2):114-118. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2011.01.068>
23. Liu G, Keeler BE, Zhukareva V, Houllé JD. Cycling exercise affects the expression of apoptosis-associated microRNAs after spinal cord injury in rats. *Experimental Neurology*. 2010;226(1):200-206. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2010.08.032>
24. Sehm T, Sachse C, Frenzel C, Echeverri K. MiR-196 is an essential early-stage regulator of tail regeneration, upstream of key spinal cord Kettering events. *Developmental Biology*. 2009;334(2):468-480. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2009.08.008>
25. Diaz Quiroz JF, Tsai E, Coyle M, Sehm T, Echeverri K. Precise control of miR-125b levels is required to create a regeneration-permissive environment after spinal cord injury: A cross-species comparison between salamander and rat. *Disease Models and Mechanisms*. 2014;7(6):601-611. <https://doi.org/10.1242/dmm.014837>
26. Yu YM, Gibbs KM, Davila J, Campbell N, Sung S, Todorova TI, Otsuka S, Sabaawy HE, Hart RP, Schachner M. MicroRNA miR-133b is essential for functional recovery after spinal cord injury in adult zebrafish. *European Journal of Neuroscience*. 2011;33(9):1587-1597. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2011.07643.x>
27. Houle JD, Morris K, Skinner RD, Garcia-Rill E, Peterson CA. Effects of fetal spinal cord tissue transplants and cycling exercise on the soleus muscle in spinalized rats. *Muscle and Nerve*. 1999;22(7):846-856.
28. Beaumont E, Houllé JD, Peterson CA, Gardiner PF. Passive exercise and fetal spinal cord transplant both help to restore motoneuronal properties after spinal cord transection in rats. *Muscle and Nerve*. 2004;29(2):234-242. <https://doi.org/10.1002/mus.10539>
29. Tillakaratne NJK, Mouria M, Ziv NB, Roy RR, Edgerton VR, Tobin AJ. Increased expression of glutamate decarboxylase (GAD67) in feline lumbar spinal cord after complete thoracic spinal cord transection. *Journal of Neuroscience Research*. 2000;60(2):219-230. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-4547\(20000415\)60:2<219::AID-JNR11>3.0.CO;2-F](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-4547(20000415)60:2<219::AID-JNR11>3.0.CO;2-F)
30. Ying Z, Roy RR, Edgerton VR, Gómez-Pinilla F. Exercise restores levels of neurotrophins and synaptic plasticity following spinal cord injury. *Experimental Neurology*. 2005;193:411-419. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2005.01.015>
31. Dupont-Versteegden EE, Houllé JD, Dennis RA, Zhang J, Knox M, Wagoner G, Peterson CA. Exercise-induced gene expression in soleus muscle is dependent on time after spinal cord injury in rats. *Muscle and Nerve*. 2004;29(1):73-81. <https://doi.org/10.1002/mus.10511>
32. Sayed D, He M, Hong C, Gao S, Rane S, Yang Z, Abdellatif M. MicroRNA-21 Is a downstream effector of AKT that mediates its antiapoptotic effects via suppression of fas ligand. *The Journal of Biological Chemistry*. 2010;285(26):20281-20290. <https://doi.org/10.1074/jbc.M110.109207>
33. Dubreuil CI, Winton MJ, McKerracher L. Rho activation patterns after spinal cord injury and the role of activated Rho in apoptosis in the central nervous system. *Journal of Cell Biology*. 2003;162(2):233-243. <https://doi.org/10.1083/jcb.200301080>
34. Dergham P, Ellezam B, Essagian C, Avedissian H, Lubell WD, McKerracher L. Rho signaling pathway targeted to promote spinal cord repair. *Journal of Neuroscience*. 2002;22:6570-6577. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.22-15-06570.2002>
35. Popovich PG, Wei P, Stokes BT. Cellular inflammatory response after spinal cord injury in Sprague Dawley and Lewis rats. *The Journal of Comparative Neurology*. 1997;377(3):443-464. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1096-9861\(19970120\)377:3<443::aid-cne10>3.0.co;2-s](https://doi.org/10.1002/(sici)1096-9861(19970120)377:3<443::aid-cne10>3.0.co;2-s)
36. Watanabe T, Yamamoto T, Abe Y, Saito N, Kumagai T, Kayama H. Differential activation of microglia after experimental spinal cord injury. *Journal of Neurotrauma*. 1999;16(3):255-265. <https://doi.org/10.1089/neu.1999.16.255>
37. DePaul MA, Lin CY, Silver J, Lee YS. Combinatory repair strategy to promote axon regeneration and functional recovery after chronic spinal cord injury. *Scientific Reports*. 2017(1):7:9018. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-09432-6>
38. Zhou HJ, Wang LQ, Wang DB, Yu JB, Zhu Y, Xu QS, Zheng XJ, Zhan RY. Long noncoding RNA MALAT1 contributes to inflammatory response of microglia following spinal cord injury via the modulation of a miR199b/IKKβ/NFκB signaling pathway. *American Journal of Physiology. Cell Physiology*. 2018;315(1):52-61. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00278.2017>
39. Wang J, Hu B, Cao F, Sun S, Zhang Y, Zhu Q. Down regulation of lncSCIR1 after spinal cord contusion injury in rat. *Brain Research*. 2015;22(1624):314-320. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2015.07.052>
40. Fuller ML, DeChant AK, Rothstein B, Capriello A, Wang R, Hall AK, Miller RH. Bone morphogenetic proteins promote gliosis in demyelinating spinal cord lesions. *Annals of Neurology*. 2007;62(3):288-300. <https://doi.org/10.1002/ana.21179>
41. Zeng X, Lin MY, Wang D, Zhang Y, Hong Y. Involvement of adrenomedullin in spinal glial activation following chronic administration of morphine in rats. *European Journal of Pain*. 2014;18(9):1323-1332. <https://doi.org/10.1002/j.1532-2149.2014.493.x>
42. Gu S, Xie R, Liu X, Shou J, Gu W, Che X. Long coding RNA XIST contributes to neuronal apoptosis through the downregulation of AKT phosphorylation and is negatively regulated by miR494 in rat spinal cord injury. *International Journal of Molecular Sciences*. 2017;18(4):732. <https://doi.org/10.3390/ijms18040732>
43. Esau CC, Monia BP. Therapeutic potential for microRNAs. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2007;59(2-3):101-114. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2007.03.007>
44. Mirnezami AHF, Pickard K, Zhang L, Primrose JN, Packham G. MicroRNAs: Key players in carcinogenesis and novel therapeutic targets. *European Journal of Surgical Oncology*. 2009;35(4):339-347. <https://doi.org/10.1016/j.ejso.2008.06.006>
45. Weiler J, Hunziker J, Hall J. Anti-miRNA oligonucleotides (AMOs): Ammunition to target miRNAs implicated in human disease? *Gene Therapy*. 2006;13(6):496-502. <https://doi.org/10.1038/sj.gt.3302654>
46. Krichevsky AM. MicroRNA profiling: From dark matter to white matter, or identifying new players in neurobiology. *Scientific World Journal*. 2007;7:155-166. <https://doi.org/10.1100/tsw.2007.201>
47. Liu NK, Xu XM. MicroRNA in central nervous system trauma and degenerative disorders. *Physiological Genomics*. 2011;43(10):571-580. <https://doi.org/10.1152/physiolgenomics.00168.2010>
48. Medina PP, Slack FJ. Inhibiting microRNA function *in vivo*. *Nature Methods*. 2009;6(1):37-38. <https://doi.org/10.1038/nmeth0109-37>
49. Meister G, Landthaler M, Dorsett Y, Tuschl T. Sequence-specific inhibition of microRNA- and siRNA-induced RNA silencing. *RNA*. 2004;10(3):544-550. <https://doi.org/10.1261/rna.5235104>
50. Poy MN, Eliasson L, Krutzfeldt J, Kuwajima S, Ma X, MacDonald PE, Pfeffer S, Tuschl T, Rajewsky N, Rorsman P, Stoffel M. A pancreatic islet-specific microRNA regulates insulin secretion. *Nature*. 2004;432(7014):226-230. <https://doi.org/10.1038/nature03076>
51. Schrott GM, Tuebing F, Nigh EA, Kane CG, Sabatini ME, Kiebler M, Greenberg ME. A brain-specific microRNA regulates dendritic spine development. *Nature*. 2006;439(7074):283-289. <https://doi.org/10.1038/nature04367>
52. Zhao X, He X, Han X, Yu Y, Ye F, Chen Y, Hoang T, Xu X, Mi QS, Xin M, Wang F, Appel B, Lu QR. MicroRNA-mediated control of oligodendrocyte differentiation. *Neuron*. 2010;65(5):612-626. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2010.02.018>

Поступила 01.11.2019

Received 01.11.2019

Принята к печати 28.02.2020

Accepted 28.02.2020