

УДК 577.218

РОЛЬ МЕТИЛИРОВАНИЯ ДНК В РЕГУЛЯЦИИ ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ЭКСПРЕССИИ микроРНК В КАНЦЕРОГЕНЕЗЕ

© 2016 г. И.Е. Чикунов¹, А.В. Набока¹

Аннотация. Метилирование ДНК, так же как действие микроРНК, является решающим эпигенетическим регулятором экспрессии генов на посттранскрипционном уровне и обеспечивает динамическое изменение основных клеточных процессов у млекопитающих. Метилирование CpG-островков в промоторных районах, являющееся общим для белок-кодирующих генов и генов микроРНК, может ингибировать транскрипцию микроРНК, и, наоборот, микроРНК могут непосредственно действовать на ДНК-метилтрансферазы, вызывая их ингибирование. Тем не менее такие взаимодействия в значительной степени остаются неизученными. Аберрация экспрессии микроРНК или метилирования ДНК является причиной различных заболеваний, в том числе онкогенных процессов. В обзоре подчеркивается взаимосвязь между метилированием ДНК, микроРНК и канцерогенезом. Рассматриваются основные принципы метилирования ДНК, включая его иницирующие факторы, и биогенеза микроРНК в плане их взаимного влияния. Приведены некоторые показательные примеры их онкогенного действия. Метилирование ДНК в промоторных участках генов при одновременном тотальном гипометилировании ДНК и аберрантной экспрессии микроРНК при раке имеет большое значение, поскольку эпигенетические факторы являются обратимыми – в отличие от классических мутаций. Исследования направлены на дальнейшее развитие новых диагностических, прогностических и терапевтических методов в онкологии. Обзор дает общее представление о масштабах проблемы и подчеркивает как фундаментальную, так и практическую значимость ее решения.

Ключевые слова: молекулярная биология, эпигенетика, микроРНК, канцерогенез, метилирование ДНК, 5-метилцитозин.

THE ROLE OF DNA METHYLATION IN REGULATION OF microRNAs DIFFERENTIAL EXPRESSION IN CANCEROGENESIS

I.E. Chikunov¹, A.V. Naboka¹

Abstract. DNA methylation and microRNAs action are critical epigenetic regulators of gene expression at the post-transcriptional level and provide dynamic changes of the key cellular processes in mammals. Methylation of CpG-islands in the promoter regions, which is common to protein-coding genes and microRNA genes, can inhibit microRNAs transcription, and, vice versa, microRNAs can directly target DNA methyltransferases causing their inhibition. However, such interactions are largely unexplored. Aberration in microRNA expression or DNA methylation is an origin of various diseases, including oncogenic processes. The review highlights the interplay between DNA methylation, microRNAs, and carcinogenesis. The basic principles of DNA methylation including its initiating factors and microRNA biogenesis are discussed in view of their mutual influence. Besides, some representative examples of their oncogenic function are given. The role of DNA methylation of gene promoter regions, simultaneously with the total DNA hypomethylation and microRNAs aberrant expression in cancer are of great importance as epigenetic factors are reversible in contradiction to classic mutations. Thus, the aim of the considered studies is the further development of novel diagnostic, prognostic, and therapeutic methods in oncology. The paper gives a general idea about the scale of the described problem and emphasizes the fundamental and practical significance of its solution.

Keywords: molecular biology, epigenetics, microRNA, carcinogenesis, DNA methylation, 5-methylcytosine.

¹ Институт аридных зон Южного научного центра РАН (Institute of Arid Zones, Southern Scientific Centre, Russian Academy of Sciences, Rostov-on-Don, Russian Federation), Российская Федерация, 344006, г. Ростов-на-Дону, пр. Чехова, 41, e-mail: i.e.chikunov@yandex.ru

Метилирование ДНК – наследуемое метилирование цитозина – является одним из эпигенетических механизмов регуляции активности генов [1]. Аномальное изменение профиля экспрессии контролирующих клеточные процессы генов на фоне глобального гипометилирования генома, избирательного гиперметилирования промоторов генов-онкосупрессоров и aberrантной экспрессии микроРНК приводит к развитию различных патологических состояний и характерно для онкологических заболеваний – одной из ведущих причин смертности в развитых странах. Таким образом, исследования эпигенетической регуляции экспрессии генов приобретают как научное, так и практическое значение. В представленном обзоре обобщены современные литературные данные по участию метилирования CpG-островков промоторных участков генов микроРНК в онкогенезе и отмечены некоторые исторические этапы изучения указанных вопросов.

ТИПЫ МЕТИЛИРОВАНИЯ ДНК И УЧАСТКИ, ПОДВЕРЖЕННЫЕ МЕТИЛИРОВАНИЮ

Впервые различие уровней метилирования ДНК в образцах тканей открыто в 1970 г. [2]. Существует множество гипотез относительно функций метилирования ДНК: эволюция, апоптоз, инактивация X-хромосомы, геномный импринтинг, защита генома от чужеродной генетической информации, развитие и дифференцировка клеток, ремоделирование хроматина [3; 4]. Метилирование цитозина может передаваться в ряду клеточных поколений [1; 3–5], что обуславливает высокий интерес к явлению.

Различают *de novo* метилирование ДНК, осуществляющее модификацию прежде неметилированных последовательностей ДНК, и поддерживающее, которое сохраняет картину (pattern) метилирования генома. Последнему подвержены частично метилированные ДНК после репликации или репарации, а «гидом» служат 5-метилцитозиновые остатки материнской цепи.

Метилирование характерно для участков ДНК высокой плотности CpG-пар [6] (CpG-островки), которые обнаруживаются в промоторных участках большинства генов человека. Согласно расчетам, до 70 % промоторов генов содержат CpG-островки [7], в частности промоторы генов «домашнего хозяйства». Эти островки высококонсервативны [8], что подтверждает их большую функциональную значимость. Поиску и предсказанию расположения

островков посвящено достаточное количество работ [9; 10], и создано специальное программное обеспечение, в том числе бесплатное [11; 12]. За редким исключением (импринтированные гены) CpG-островки промоторных районов в нормальных тканях не метилированы, что говорит о функционально нормальном состоянии генов [9; 11; 12]. В среднем ДНК человека содержит 1 % 5-метилцитозина [13]. 5-метилцитозины могут как физически затруднять образование связей с транскрипционными факторами или связываться с метил-CpG-связывающим доменом белков, так и инактивировать хроматин [14].

У млекопитающих метилирование осуществляется ДНК-метилтрансферазами DNMT1, -3a, -3b и -3L (DNA methyltransferase) [3]. DNMT3a и -3b отвечают за метилирование на стадии имплантации эмбриона и дифференцировки зародышевых клеток [15]. DNMT3L не проявляет метилирующей активности, но незаменима при глобальном метилировании в зародышевых клетках и стимулирует активность DNMT3a [16; 17]. После формирования паттернов метилирования метилтрансфераза поддерживающего типа DNMT1 точно репродуцирует их в следующем поколении, причем проявляет и *de novo* метилирующую активность *in vivo* и *in vitro*, оказывая предпочтение частично метилированным сайтам [18; 19], которые появляются непосредственно после стадий репликации и репарации. Метилтрансфераза DNMT2 катализирует метилирование tРНК [20].

Инициировать дифференциальное метилирование ДНК могут внешние факторы, такие как ионизирующее излучение, химические агенты и т.д. [21]. Окислительный стресс вызывает подавление транскрипции генов-онкосупрессоров посредством гиперметилирования ДНК и, наоборот, активацию онкогенов деметилированием, что может приводить к канцерогенезу [22; 23]. Под его воздействием меняется экспрессия трансферазы DNMT1 и ряда микроРНК [24]. Окислительный стресс, вызванный действием радиации, влияет не только на облученные клетки, но и на соседствующие с ними необлученные [25], оказывая дозозависимый эффект и изменяя степень метилирования ДНК [26] не только сразу после облучения, но и в течение длительного времени после него [27; 28]. Интересно отметить, что гипоксия также вносит вклад в геномную нестабильность за счет незначительного метилирования промоторного участка и снижения экспрессии гена MLH1, отвечающего за репарацию ошибочно спаренных оснований [29].

МикроРНК И МЕТИЛИРОВАНИЕ ИХ ГЕНОВ

Влияние метилирования ДНК на транскрипционную активность генов микроРНК (~11 % генов [30]) и генов, кодирующих белки, участвующие в биогенезе на разных этапах созревания микроРНК, изучено в основном для развития злокачественных опухолей. Подавление экспрессии гена под действием микроРНК подтверждается множеством исследований [31]. Следует отметить, что в редких случаях микроРНК выступают активаторами трансляции [32].

МикроРНК – малые молекулы РНК, участвующие в контроле регуляции генной активности. Впервые микроРНК были обнаружены более 30 лет назад [33]. В клетках человека выявлено примерно 1800 генов микроРНК, которые кодируют порядка 2500 микроРНК и до 1900 их предшественников [34].

Биогенез микроРНК включает в себя ряд этапов, протекающих в ядре и цитоплазме [33; 35; 36]. В качестве первичного транскрипта, размер которого может составлять величину порядка 1000 нуклеотидов, микроРНК могут выступать как при-микроРНК, так и информационная РНК, если последовательности микроРНК расположены в составе белок-кодирующих генов. Самокомплементарный участок, формирующий шпильку на РНК, распознается и отрезается от остального транскрипта белковым комплексом – микропроцессором, включающим эндорибонуклеазу Drossha, DGCR8 и ряд РНК-связывающих белков. Также известно созревание за счет сплайсинга, когда область шпильки совпадает с границами вырезаемого интрона. В результате образуется пре-микроРНК длиной 60–70 нуклеотидов, которая содержит двухцепочечный участок, состоящий из двух соединенных петель комплементарных областей и небольшого одноцепочечного участка на 3'-конце. Пре-микроРНК распознается белком экспортин-5 в комплексе с малой ГТФазой Ran, переносится в цитоплазму и высвобождается. Затем структурные элементы пре-микроРНК распознаются ферментом Dicer. После связывания и позиционирования Dicer его РНКазные домены отрезают петлю от шпильки. Дуплекс зрелой микроРНК длиной около 22 нуклеотидов связывается белком Ago2, обладающим эндонуклеазной активностью, образуя комплекс RISC (RNA-induced silencing complex). Из двух отщепленных цепей только нить-«гид» остается связанной с Ago2, другая же – нить-«пассажир» – отделяется от комплекса и, как правило, дегради-

рует. В качестве функционально активной нити-«гида» с разной вероятностью могут выступать как 5p'-, так и 3p'-нити дуплекса. Вопрос о критериях селекции нитей микроРНК в настоящее время остается открытым. Полагают, что направленность выбора зависит от различий в термодинамической стабильности концевых участков дуплекса микроРНК [37] либо связана с тем, что 5'-концевой нуклеотид активной нити часто представлен урацилом, в то время как нити-«пассажиры» – цитозином [38]. Нуклеотидная последовательность этого участка форм 5p и 3p отдельных микроРНК не совпадает, и, соответственно, спектры их генов-мишеней различны [39].

Результат взаимодействия микроРНК и мРНК зависит от степени комплементарности. Полная или частичная комплементарность между ключевой последовательностью (seed sequence) микроРНК, расположенной с 1-го или 2-го по 7-й или 8-й нуклеотид на 5'-конце [40], и участком мРНК обеспечивает посадку на мРНК-мишень. При полной комплементарности включается РНКазная активность Ago2, который разрезает мРНК в месте посадки, последняя же расщепляется рибонуклеазами и деградирует. Когда взаимодействие seed-участка с мишенью является неполным (seed-участок слишком короткий, образует петлю или содержит некомплементарные нуклеотиды), микроРНК проявляет свою функцию, если некоторые из ее нуклеотидов в положении 12–17 также свяжутся с мишенью [41]. Тогда происходит не расщепление РНК, а подавление трансляции.

Одна микроРНК может влиять на экспрессию многих генов [33]. И наоборот, мРНК или гены, включая гены, ответственные за основные клеточные процессы, представляют собой мишень для ряда микроРНК, что резко повышает разнообразие эффектов. Гены-мишени микроРНК предсказывают с помощью баз данных и программного обеспечения [42; 43].

ВЛИЯНИЕ МЕТИЛИРОВАНИЯ ДНК НА АБЕРРАНТНУЮ ЭКСПРЕССИЮ МИКРОРНК В КАНЦЕРОГЕНЕЗЕ

Развитие злокачественных опухолей представляет собой микроэволюционный процесс, в основе которого лежат не только мутации, но и, как показали исследования последних 15 лет, индуцированные эпигенетические изменения – метилирование ДНК, модификация гистонов, а также aberrантная экспрессия микроРНК [21; 33]. Для целого ряда микроРНК установлено, что в

основе регуляции их экспрессии лежит характерное снижение общего уровня метилирования ДНК и увеличение метилирования промоторов генов-онкосупрессоров [44]. Участие микроРНК в канцерогенезе наглядно показано в обзоре [45].

Снижение экспрессии микроРНК под действием метилирования ближайших CpG-островков гена-продуцента описано во множестве работ [21; 30; 44; 45]. В качестве примера рассмотрим некоторые распространенные онкозаболевания. Известно, что при раке предстательной железы (РПЖ) изменяются уровни экспрессии 150 микроРНК [46], из которых экспрессия 114 снижается, и только для 36 повышается. Так, miR-145, снижение экспрессии которой связано с агрессивными видами рака и пессимистичным прогнозом, регулируется метилированием и мутацией гена p53 при РПЖ [47]. МикроРНК miR-127 и miR-124a снижают экспрессию под действием эпигенетических факторов, включая метилирование [48]. Экспрессия miR-23b значительно снижается в раковых клетках человека по сравнению со здоровыми, но при действии гипометилирующего агента 5-аза-2'-деоксицитидина наблюдается обратный эффект – увеличение экспрессии miR-23b [49]. MiR-34b снижает экспрессию в клетках линий PC3 и LNCaP в результате гиперметиличивания CpG-островков [50]. MiR-34b напрямую взаимодействует с метилтрансферазами, индуцируя частичное деметиличивание. Уровень ее экспрессии может служить прогностическим показателем, поскольку miR-34b является онкосупрессором, действие которого заключается в ингибировании клеточной пролиферации, образования колоний, миграции, инвазии, и запускает апоптоз. В работе [51] рассматривается роль miR-34a, являющейся онкосупрессором, в формировании хеморезистентности как результата метилирования ее гена-продуцента.

При раке молочной железы (РМЖ) изменяются уровни экспрессии 290 микроРНК [46], из них у 189 экспрессия снижается и у 33 повышается. В случае miR-125b снижение ее экспрессии при РМЖ является негативным прогностическим фактором. Гиперметиличивание CpG-островков в промоторе участка гена коррелирует с низким уровнем экспрессии miR-125b, повышение же значительно подавляет пролиферацию, образование колоний и угнетает рост опухоли [52]. MiR-125b интересна тем, что она является онкосупрессором при РМЖ, но действует и как онкоген при других видах рака, ускоряя пролиферацию [45]. Экспрессия miR-31 играет важную роль в метастазировании РМЖ [53] и напрямую регулируется метилированием CpG-островков промоторного участка гена,

что подтверждается данными бисульфитного секвенирования ДНК [54].

За последние два года появились данные, в частности – при изучении участвующих в канцерогенезе miR-155 и miR-143, что один из механизмов влияния микроРНК на метилирование ДНК может быть связан с прямым взаимодействием микроРНК с каталитическими доменами DNMT3a [55] и DNMT1 [56].

С колоректальным раком ассоциировано 340 микроРНК [46], из них у 191 экспрессия снижена и у 149 повышена. Экспрессия онкосупрессорной miR-345 снижается при метилировании CpG-островков промоторного участка [57]. Экспрессия miR-34c, также онкосупрессора, зависит от функции белка p53 и снижается при метилировании, что приводит к усилению пролиферации [58]. Предположительно, miR-125a и -125b инактивируются при метилировании ДНК [59]. Онкосупрессор miR-132 снижает экспрессию при метилировании регуляторных районов гена, что ведет к повышению инвазивности опухоли [60]. При метилировании ДНК снижается экспрессия miR-133b, и это критично для пролиферации и апоптоза опухолевых клеток; при деметиличивании ее экспрессия повышается [61].

Приведенные факты являются лишь малой частью свидетельств взаимосвязи эпигенетических факторов и канцерогенеза, но дают представление о масштабах существующей проблемы и перспективах ее решения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, накопленные данные показывают, что эпигенетические механизмы – метилирование ДНК и aberrантная экспрессия микроРНК – специфично регулируют экспрессию генов, и их нарушение приводит к существенным последствиям для клетки и организма в целом. Показана роль метилирования в патогенезе злокачественных опухолей и регуляции экспрессии как самих генов микроРНК, так и (опосредованно) их генов-мишеней (онкогенов, онкосупрессоров и др.). Изменение уровня метилирования генов микроРНК влияет на запуск и ход процесса канцерогенеза, включая апоптоз, пролиферацию, адгезию, клеточную миграцию, ангиогенез, инвазию и метастазирование. Для ряда опухолей показано, что снижение или, в редких случаях, повышение экспрессии микроРНК приводит либо к подавлению развития опухоли, либо к ее прогрессии.

Очевидно, поиск новых аспектов взаимодействия микроРНК и факторов метилирования ДНК

дает более глубокое понимание механизмов канцерогенеза, тем самым позволяя создавать принципиально новые диагностические и терапевтические подходы к борьбе с онкозаболеваниями человека, основанные на результатах фундаментальных исследований обратимых эпигенетических изменений.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ (REFERENCES)

1. Lim D.H.K., Maher E.R. 2010. DNA methylation: a form of epigenetic control of gene expression. *Obstetrician Gynaecol.* 12: 37–42. doi: 10.1576/toag.12.1.037.27556
2. Vanyushin B.F., Tkacheva S.G., Belozersky A.N. 1970. Rare bases in animal DNA. *Nature.* 225: 948–949. doi: 10.1038/225948a0
3. Suelves M., Carrió E., Núñez-Álvarez Y., Peinado M.A. 2016. DNA methylation dynamics in cellular commitment and differentiation. *Brief. Funct. Genomics.* elw017. doi: 10.1093/bfpg/elw017
4. Triantaphyllopoulos K.A., Ikononopoulos I., Bannister A.J. 2016. Epigenetics and inheritance of phenotype variation in livestock. *Epigenetics & Chromatin.* 9(31): 1–18. doi: 10.1186/s13072-016-0081-5
5. Maresca A., Zaffagnini M., Caporali L., Carelli V., Zanna C. 2015. DNA methyltransferase 1 mutations and mitochondrial pathology: is mtDNA methylated? *Front. Genet.* 6: 90. doi: 10.3389/fgene.2015.00090
6. Cooper D.N., Taggart M.H., Bird A.P. 1983. Unmethylated domains in vertebrate DNA. *Nucl. Acids Res.* 11(3): 647–658. doi: 10.1093/nar/11.3.647
7. Saxonov S., Berg P., Brutlag D.L. 2006. A genome-wide analysis of CpG dinucleotides in the human genome distinguishes two distinct classes of promoters. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 103(5): 1412–1417. doi: 10.1073/pnas.0510310103
8. Long H.K., King H.W., Patient R.K., Odom D.T., Klose R.J. 2016. Protection of CpG islands from DNA methylation is DNA-encoded and evolutionarily conserved. *Nucl. Acids Res.* gkw258. doi: 10.1093/nar/gkw258
9. Yang C.H., Lin Y.D., Chiang Y.C., Chuang L.Y. 2016. A Hybrid Approach for CpG Island Detection in the Human Genome. *PLoS One.* 11(1): e0144748. doi: 10.1371/journal.pone.0144748
10. Ghorbani M., Themis M., Payne A. 2016. Genome wide classification and characterisation of CpG sites in cancer and normal cells. *Comp. Biol. Med.* 68: 57–66. doi: 10.1016/j.compbio.2015.09.023
11. *Methylation Mark Atlas.* Available at: fame.edbc.org/methylmark/ (accessed 28 July 2016).
12. Liu H., Liu X., Zhang S., Lv J., Li S., Shang S., Wu Q. 2016. Systematic identification and annotation of human methylation marks based on bisulfite sequencing methylomes reveals distinct roles of cell type-specific hypomethylation in the regulation of cell identity genes. *Nucl. Acids Res.* 44(1): 75–94. doi: 10.1093/nar/gkv1332
13. Ehrlich M., Gama-Sosa M.A., Huang L.H., Midgett R.M., Kuo K.C., McCune R.A., Gehrke C. 1982. Amount and distribution of 5-methylcytosine in human DNA from different types of tissues or cells. *Nucl. Acids Res.* 10(8): 2709–2721. doi: 10.1093/nar/10.8.2709
14. Zou X., Ma W., Solov'yov I.A., Chipot C., Schulten K. 2012. Recognition of methylated DNA through methyl-CpG binding domain proteins. *Nucl. Acids Res.* 40(6): 2747–2758. doi: 10.1093/nar/gkr1057
15. Okano M., Bell D.W., Haber D.A., Li E. 1999. DNA methyltransferases DNMT3a and DNMT3b are essential for *de novo* methylation and mammalian development. *Cell.* 99(3): 247–257. doi: 10.1016/s0092-8674(00)81656-6
16. Bourc'his D., Xu G., Lin C., Bollman B., Bestor T.H. 2001. DNMT3L and establishment of maternal genomic imprints. *Science.* 294(5551): 2536–2539. doi: 10.1126/science.1065848
17. Hata K., Okano M., Lei H., Li E. 2002. DNMT3L cooperates with the DNMT3 family of *de novo* DNA methyltransferases to establish maternal imprints in mice. *Development.* 129(8): 1983–1993.
18. Vilkaitis G., Suetake I., Klimasauskas S., Tajima S. 2005. Processive methylation of hemimethylated CpG sites by mouse DNMT1 DNA methyltransferase. *J. Biol. Chem.* 280(1): 64–72. doi: 10.1074/jbc.m411126200
19. Arand J., Spieler D., Karius T., Branco M.R., Meilinger D., Meissner A., Jenuwein T., Xu G., Leonhardt H., Wolf V., Walter J. 2012. In vivo control of CpG and non-CpG DNA methylation by DNA methyltransferases. *PLoS Genet.* 8(6): e1002750. doi: 10.1371/journal.pgen.1002750
20. Goll M.G., Kirpekar F., Maggert K.A., Yoder J.A., Hsieh C.L., Zhang X., Golik K.G., Jacobsen S.E., Bestor T.H. 2006. Methylation of tRNA Asp by the DNA methyltransferase homolog DNMT2. *Science.* 311(5759): 395–398. doi: 10.1126/science.1120976
21. Yen C.Y., Huang H.W., Shu C.W., Hou M.F., Yuan S.S.F., Wang H.R., Chang H.W. 2016. DNA methylation, histone acetylation and methylation of epigenetic modifications as a therapeutic approach for cancers. *Cancer Lett.* 373(2): 185–192. doi: 10.1016/j.canlet.2016.01.036
22. Franco R., Schoneveld O., Georgakilas A.G., Panayiotidis M.I. 2008. Oxidative stress, DNA methylation and carcinogenesis. *Cancer Lett.* 266(1): 6–11. doi: 10.1016/j.canlet.2008.02.026
23. Hecht F., Pessoa C.F., Gentile L.B., Rosenthal D., Carvalho D.P., Fortunato R.S. 2016. The role of oxidative stress on breast cancer development and therapy. *Tumor Biol.* 37(4): 4281–4291. doi: 10.1007/s13277-016-4873-9
24. He J., Jiang B.H. 2016. Interplay Between Reactive Oxygen Species and MicroRNAs in Cancer. *Curr. Pharmacol. Rep.* 2(2): 82–90. doi: 10.1007/s40495-016-0051-4
25. Havaki S., Kotsinas A., Chronopoulos E., Kletsas D., Georgakilas A., Gorgoulis V.G. 2015. The role of oxidative DNA damage in radiation induced bystander effect. *Cancer Lett.* 356(1): 43–51. doi: 10.1016/j.canlet.2014.01.023
26. Pogribny I., Raiche J., Slovack M., Kovalchuk O. 2004. Dose dependence, sex- and tissue-specificity and persistence of radiation-induced genomic DNA methylation changes.

- Biochem. Biophys. Res. Commun.* 320(4): 1253–1261. doi: 10.1016/j.bbrc.2004.06.081
27. Koturbash I., Miousse I.R., Sridharan V., Nzabarushimana E., Skinner C.M., Melnyk S.B., Boerma M. 2016. Radiation-induced changes in DNA methylation of repetitive elements in the mouse heart. *Mutat. Res.* 787: 43–53. doi: 10.1016/j.mrfmmm.2016.02.009
 28. Kuzmina N.S., Lapteva N.S., Rubanovich A.V. 2016. Hypermethylation of gene promoters in peripheral blood leukocytes in humans long term after radiation exposure. *Environ. Res.* 146: 10–17. doi: 10.1016/j.envres.2015.12.008
 29. Mihaylova V.T., Bindra R.S., Yuan J., Campisi D., Narayanan L., Jensen R., Glazer P.M. 2003. Decreased expression of the DNA mismatch repair gene MLH1 under hypoxic stress in mammalian cells. *Mol. Cell. Biol.* 23(9): 3265–3273. doi: 10.1128/mcb.23.9.3265-3273.2003
 30. Kunej T., Godnic I., Ferdin J., Horvat S., Dovc P., Calin G.A. 2011. Epigenetic regulation of microRNAs in cancer: an integrated review of literature. *Mutat. Res.* 717(1): 77–84. doi: 10.1016/j.mrfmmm.2011.03.008
 31. Strmsek Z., Kunej T. 2015. MicroRNA Silencing by DNA Methylation in Human Cancer: a Literature Analysis. *Non-Coding RNA.* 1(1): 44–52. doi: 10.3390/ncrna1010044
 32. Valinezhad O.A., Safaralizadeh R., Kazemzadeh-Bavili M. 2014. Mechanisms of miRNA-mediated gene regulation from common downregulation to mRNA-specific upregulation. *Int. J. Genom.* 2014: 970607. doi: 10.1155/2014/970607
 33. Orellana E.A., Kasinski A.L. 2015. MicroRNAs in cancer: a historical perspective on the path from discovery to therapy. *Cancers.* 7(3): 1388–1405. doi: 10.3390/cancers7030842
 34. *miRBase: the microRNA database.* Available at: www.mirbase.org/cgi-bin/browse.pl?org=hsa (accessed 28 July 2016).
 35. Hata A., Kashima R. 2016. Dysregulation of microRNA biogenesis machinery in cancer. *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* 51(3): 121–134. doi: 10.3109/10409238.2015.1117054
 36. Бойко Н.В., Голиков А.Ю., Тарасов В.А., Матишов Д.Г. 2011. Роль микроРНК в регуляции активности генов у эукариот. *Вестник Южного научного центра.* 7(3): 69–78.
Boiko N.V., Golikov A.Yu., Tarasov V.A., Matishov D.G. 2011. [Role of micro-RNAs in regulation of activity of genes in eukaryotes]. *Vestnik Yuzhnogo nauchnogo tsentra.* 7(3): 69–78. (In Russian).
 37. Тарасов В.А., Махоткин М.А., Шин Е.Ф., Бойко Н.В., Тютякина М.Г., Чикуннов И.Е., Набока А.В., Машкарин А.Н., Кирпий А.А., Матишов Д.Г. 2016. Изменение селекции нитей микроРНК при индукции повреждений ДНК. *Доклады АН.* 467(2): 226–228.
Tarasov V.A., Makhotkin M.A., Shin E.F., Boiko N.V., Tyutyakina M.G., Chikunov I.E., Naboka A.V., Mashkarina A.N., Kirpii A.A., Matishov D.G. 2016. Change in the Selection of microRNA Strands during DNA Damage Induction. *Dokl. Biochem. Biophys.* 467(1): 1–3. doi: 10.1134/s160767291602006x
 38. Meijer H.A., Smith E.M., Bushell M. 2014. Regulation of miRNA strand selection: follow the leader? *Biochem. Soc. Trans.* 42(4): 1135–1140. doi: 10.1042/bst20140142
 39. Marco A., Macpherson J.I., Ronshaugen M., Griffiths-Jones S. 2012. MicroRNAs from the same precursor have different targeting properties. *Silence.* 3(1): 8. doi: 10.1186/1758-907x-3-8
 40. Lai E.C. 2005. miRNAs: whys and wherefores of miRNA-mediated regulation. *Curr. Biol.* 15(12): R458–R460. doi: 10.1016/j.cub.2005.06.015
 41. Grimson A., Farh K.K., Johnston W.K., Garrett-Engele P., Lim L.P., Bartel D.P. 2007. MicroRNA targeting specificity in mammals: determinants beyond seed pairing. *Mol. Cell.* 27(1): 91–105. doi: 10.1016/j.molcel.2007.06.017
 42. Dweep H., Gretz N. 2015. miRWalk2.0: a comprehensive atlas of microRNA-target interactions. *Nat. Methods.* 12(8): 697–697. doi: 10.1038/nmeth.3485
 43. *miRWalk2.0: a comprehensive atlas of microRNA-target interactions.* Available at: zmf.umm.uni-heidelberg.de/mirwalk2 (accessed 28 July 2016).
 44. Lopez-Serra P., Esteller M. 2012. DNA methylation-associated silencing of tumor-suppressor microRNAs in cancer. *Oncogene.* 31(13): 1609–1622. doi: 10.1038/onc.2011.354
 45. Логинов В.И., Рыков С.В., Фридман М.В., Брага Э.А. 2015. Метилирование генов микроРНК и онкогенез. *Биохимия.* 80(2): 184–203.
Loginov V.I., Rykov S.V., Fridman M.V., Braga E.A. Methylation of miRNA Genes and Oncogenesis. 2015. *Biochemistry (Moscow).* 80(2): 145–162. doi: 10.1134/s0006297915020029
 46. *miRCancer: a microRNA-cancer association database.* Available at: mircancer.ecu.edu/ (accessed 12 June 2016).
 47. Bucay N., Shahryari V., Majid S., Yamamura S., Mitsui Y., Tabatabai Z.L., Greene K., Deng G., Dahiya R., Tanaka Y., Saini S. 2015. miRNA Expression Analyses in Prostate Cancer Clinical Tissues. *J. Vis. Exp.* 103: e53123. doi: 10.3791/53123
 48. Lujambio A. 2007. CpG island hypermethylation of tumor suppressor microRNAs in human cancer. *Cell Cycle.* 6(12): 1455–1459. doi: 10.4161/cc.6.12.4408
 49. Majid Sh., Dar A.A., Saini Sh., Arora S., Shahryari V., Zaman M.S., Chang I., Yamamura S., Tanaka Y., Deng G., Dahiya R. 2012. MicroRNA-23b represses proto-oncogene Src kinase and functions as methylation-silenced tumor suppressor with diagnostic and prognostic significance in prostate cancer. *Cancer Res.* 72(24): 6435–6446. doi: 10.1158/0008-5472.can-12-2181
 50. Majid Sh., Dar A.A., Saini Sh., Shahryari V., Arora S., Zaman M.S., Chang I., Chiyomaru T., Yamamura S., Tanaka Y., Deng G., Dahiya R. 2013. MicroRNA-34b inhibits prostate cancer through demethylation, active chromatin modifications and AKT pathways. *Clin. Cancer Res.* 19(1): 73–84. doi: 10.1158/1078-0432.ccr-12-2952
 51. Liao H., Xiao Y., Hu Y., Xiao Y., Yin Z., Liu L., Kang X., Chen Y. 2016. Methylation-induced silencing of miR-34a enhances chemoresistance by directly upregulating ATG4B-induced autophagy through AMPK/mTOR pathway in prostate cancer. *Oncol. Rep.* 35(1): 64–72. doi: 10.3892/or.2015.4331
 52. Longacre M., Snyder N.A., Housman G., Leary M., Lapinska K., Heerboth S., Willbanks A., Sarkar S. 2016. A Comparative Analysis of Genetic and Epigenetic Events of Breast and Ovarian Cancer Related to Tumorigenesis. *Int. J. Mol. Sci.* 17(5): 759. doi: 10.3390/ijms17050759
 53. Valastyan S., Chang A., Benaich N., Reinhardt F., Weinberg R.A. 2011. Activation of miR-31 function in already-established metastases elicits metastatic regression. *Genes Dev.* 25(6): 646–659. doi: 10.1101/gad.2004211
 54. Augoff K., McCue B., Plow E.F., Sossey-Alaoui K. 2012.

- miR-31 and its host gene lncRNA LOC554202 are regulated by promoter hypermethylation in triple-negative breast cancer. *Mol. Cancer*. 11(1): 5. doi: 10.1186/1476-4598-11-5
55. Ng E.K.O., Li R., Shin V.Y., Siu J.M., Ma E.S.K., Kwong A. 2014. MicroRNA-143 is downregulated in breast cancer and regulates DNA methyltransferases 3A in breast cancer cells. *Tumour Biol*. 35(3): 2591–2598. doi: 10.1007/s13277-013-1341-7
56. Zhang G., Esteve P.-O., Chin H.-G., Terragni J., Dai N., Corr ea Jr. I.R., Pradhan S. 2015. Small RNA-mediated DNA (cytosine-5) methyltransferase 1 inhibition leads to aberrant DNA methylation. *Nucl. Acids Res*. Available at: nar.oxfordjournals.org/content/43/12/6112.full (accessed 09 September 2016). doi: 10.1093/nar/gkv518
57. Chen Q.W., Zhu X.Y., Li Y.Y., Meng Z.Q. 2014. Epigenetic regulation and cancer (Review). *Oncol. Rep*. 31(2): 523–532. doi: 10.3892/or.2013.2913
58. Yang S., Wu B., Sun H., Ji F., Sun T., Zhao Y., Zhou D. 2015. Interrupted E2F1-miR-34c-SCF negative feedback loop by hyper-methylation promotes colorectal cancer cell proliferation. *Biosci. Rep*. 36(1): e00293. doi: 10.1042/bsr20150290
59. Chen H., Xu Z. 2015. Hypermethylation-Associated Silencing of miR-125a and miR-125b: A Potential Marker in Colorectal Cancer. *Dis. Markers*. Available at: www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4674596/ (accessed 27 July 2016). doi: 10.1155/2015/345080
60. Qin J., Ke J., Xu J., Wang F., Zhou Y., Jiang Y., Wang Z. 2015. Downregulation of microRNA-132 by DNA hypermethylation is associated with cell invasion in colorectal cancer. *Oncotargets Ther*. 8: 3639–3648. doi: 10.2147/ott.s91560
61. Lv L.V., Zhou J., Lin C., Hu G., Yi L.U., Du J., Gao K., Li X. 2015. DNA methylation is involved in the aberrant expression of miR-133b in colorectal cancer cells. *Oncol. Lett*. 10(2): 907–912. doi: 10.3892/ol.2015.3336

Поступила 07.09.2016