

Władysław Grzeszczak, Mirosław Śnit

Katedra Chorób Wewnętrznych, Diabetologii i Nefrologii w Zabrzu Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach

# Znaczenie mikroRNA w patogenezie, rozwoju powikłań i ewentualnym leczeniu cukrzycy

The importance of microRNAs in the pathogenesis, development of complications and possible treatment of diabetes

## STRESZCZENIE

W patogenezie cukrzycy typu 2 udział biorą głównie dwa czynniki: nadmierne spożycie kalorii w diecie oraz zbyt mała aktywność fizyczna. Istotne są jednak również czynniki genetyczne. W ostatnich latach coraz częściej podkreśla się ich rolę, zwłaszcza znaczenie cząsteczek mikroRNA w rozwoju typu 2 cukrzycy i jej powikłań. MikroRNA stanowią rodzinę jednoniciowych, niekodujących, endogennych cząsteczek regulacyjnych, powstających z dwuniciowych prekursorów. Są one obecne w komórkach roślinnych, zwierzęcych i ludzkich. Zbudowane są zwykle z 21–23 nukleotydów, a ich główna rola wiąże się z potranskrypcyjną regulacją ekspresji licznych genów. W pracy omówiono znaczenie mikroRNA w patogenezie rozwoju cukrzycy oraz w rozwoju jej późnych powikłań dotyczących zarówno małych, jak i dużych naczyń (retinopatia, neuropatia, nefropatia, miażdżyca, uszkodzenie mięśnia sercowego). W dalszej części opracowania przedstawiono sugerowane wstępnie zastosowanie mikroRNA jako biomarkera oraz potencjalne znaczenie blokady mikroRNA w terapii. (Diabet. Klin. 2014; 3, 5: 184–189)

**Słowa kluczowe:** mikroRNA, cukrzyca, patogeneza, powikłania, leczenie

Adres do korespondencji:  
 prof. dr hab. n. med. Władysław Grzeszczak  
 Katedra Chorób Wewnętrznych, Diabetologii i Nefrologii w Zabrzu  
 Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach  
 ul. 3 Maja 13–15, 41–800 Zabrze  
 Tel.: +48 (32) 271 25 11, faks: +48 (32) 271 46 17  
 e-mail: wgrzeszczak@sum.edu.pl  
 Diabetologia Kliniczna 2014, tom 3, 5, 184–189  
 Copyright © 2014 Via Medica  
 Nadesłano: 13.08.2014      Przyjęto do druku: 22.09.2014

## ABSTRACT

In the pathogenesis of type 2 diabetes primarily involves two factors: excessive intake of calories in the diet, and too little physical activity. Not without significance here are, however, also genetic factors. In recent years, more frequently stresses the importance of particular importance of microRNA molecules in the development of type 2 diabetes and its complications. MicroRNAs are a family of single-stranded, non-coding, endogenous regulatory molecules, resulting from double-stranded precursors. They are present in plant cells, animal and human. Consist normally of 21–23 nucleotides, and their main role is associated with post-transcriptional regulation of expression of numerous genes. The paper discusses the importance of microRNAs in the pathogenesis of diabetes and the development of its late complications, both small and large vessels (retinopathy, neuropathy, nephropathy, arteriosclerosis, myocardial damage). In the following part of the paper presents initially suggested the use of microRNAs as a biomarker and potential significance of the lock microRNAs in therapy. (Diabet. Klin. 2014; 3, 5: 184–189)

**Key words:** microRNA, diabetes, pathogenesis, complications, treatment

## Wstęp

Cukrzyca to plaga początku XXI wieku. W atlasie *International Diabetes Federation* (IDF) [1] znajduje się informacja, iż obecnie na świecie na cukrzycę choruje 366,2 mln osób. Przewiduje się, że w 2030 roku liczba

ta wzrosnie do 551,8 mln osób. Około 85–90% tych chorych cierpi na cukrzycę typu 2. Nieprawidłowa glikemia na czczo lub nieprawidłowa tolerancja glukozy dotyczą dodatkowo 280 mln osób. Przewiduje się również, że w 2030 roku te dwa stany metaboliczne, które istotnie zwiększają ryzyko rozwoju cukrzycy (u 2–10% osób z tej grupy cukrzyca rozwinię się w ciągu jednego roku), będą występowały u 398 mln osób.

Jak podano w ostatnim atlasie IDF [1], w Polsce obecnie na cukrzycę choruje 3,1 mln osób (1,6 mln mężczyzn i 1,5 mln kobiet). Więcej osób choruje w miastach niż na wsi (odpowiednio 1,7 mln i 1,4 mln). W zależności od wieku wykazano, że 0,44 mln chorych w Polsce ma 20–39 lat, 1,3 mln — 40–59 lat, zaś 1,345 mln — 60–79 lat. Atlas IDF informuje, że w Polsce 1,1 mln osób ma cukrzycę nierozpoznaną (!). Nieprawidłowa glikemia na czczo lub nieprawidłowa tolerancja glukozy występują aż u 5,22 mln Polaków. To bardzo dużo — Polska znajduje się w tym względzie niestety w czołówce krajów na świecie. Przewiduje się, że w 2030 roku cukrzyca będzie występowała u 3,41 mln Polaków (pomimo przewidywanego zmniejszenia liczby ludności w Polsce).

W patogenezie cukrzycy typu 2 udział biorą głównie dwa czynniki: nadmierne spożycie kalorii w diecie oraz zbyt mała aktywność fizyczna. Istotne są jednak również czynniki genetyczne. W ostatnich latach coraz częściej podkreśla się ich rolę, zwłaszcza znaczenie cząsteczek mikroRNA (miR) w rozwoju cukrzycy typu 2 i jej powikłań.

### Czym są mikroRNA i jaka jest ich biogeneza?

MikroRNA stanowią rodzinę jednoniciowych, niekodujących, endogennych cząsteczek regulacyjnych, powstających z dwuniciowych prekursorów. Są one obecne w komórkach roślinnych, zwierzęcych i ludzkich. Zbudowane są zwykle z 21–23 nukleotydów, a ich główna rola wiąże się z potranskrypcyjną regulacją ekspresji licznych genów. Należy podkreślić, że pojedyncza cząsteczka miR może jednocześnie kontrolować ekspresję setek docelowych genów [2]. Aż ponad 1/3 genów kodujących białka w ludzkich komórkach podlega regulacji przez miR. Szacuje się, że geny kodujące miR stanowią 1–5% wszystkich genów u ludzi i zwierząt [3]. Wykazano, że miR odgrywają istotną rolę w organizmie, uczestnicząc w przebiegu wielu ważnych procesów, takich jak podziały komórkowe, różnicowanie komórek, apoptoza, angiogeneza czy onkogeneza [4].

Pierwszymi zidentyfikowanymi miR były let-7 oraz lin-4, które kontrolują przejście nicienia *Caenorhabditis elegans* przez kolejne stadia larwalne.

Geny dla miR znajdują się zarówno w eksonach, intronach, jak i w regionach niepodlegających translacji [5].

Taki układ jednostki transkrypcyjnej może prowadzić do powstania transkryptów miR [6]. Geny miR są zorganizowane w sposób charakterystyczny dla działania polimerazy II oraz III, transkrybującej geny małych RNA [7, 8].

Powstawanie miR składa się z kilku etapów. Pierwszy z nich to transkrypcja, która prowadzi do utworzenia pierwotnego transkryptu pri-miR (*primary microRNA*). Kolejnym jest obróbka pri-miR, w wyniku której powstaje pre-miR. Obydwa etapy zachodzą w jądrze komórkowym. Następnie pre-miR jest przenieszone do cytoplazmy, gdzie jest poddawane procesom prowadzącym do powstania dojrzałej, funkcjonalnej cząsteczki miR o długości około 20 nukleotydów [9].

Mechanizm działania cząsteczek miR wiąże się z potranskrypcyjną regulacją ekspresji genów, która jest możliwa dzięki komplementarności par zasad z cząsteczkami informacyjnego RNA [10]. Wyciszenie genów może się odbywać albo poprzez degradację określonego mRNA albo w wyniku zahamowania translacji transkryptu. Cząsteczki miR są przyłączane do regionu 3' nieulegającego translacji (3'UTR, 3' *untranslated region*) docelowego mRNA [11]. Szczegółowy przebieg mechanizmu związanego z blokowaniem translacji nie został dokładnie poznany. Przypuszcza się, że sekwencje docelowe dla miR mogą być kompleksowane na polisomach lub też przyciągane do komórkowych ciałek P, gdzie są usuwane z kompleksu translacyjnego i ewentualnie niszczone [12].

W ostatnich latach ekspresję wykazano we wszystkich tkankach nowych niekodujących cząsteczek RNA (mikroRNA). Cząsteczki te odgrywają ważną rolę w homeostazie czynności tkanek oraz w patogenezie i progresji wielu chorób. Niekodujące miR znajdują się w wielu płynach ustrojowych. Można ich zatem użyć jako markerów określających podatność na choroby oraz rozwój ich powikłań.

### Znaczenie mikroRNA w rozwoju cukrzycy

Celem niniejszego opracowania jest zaprezentowanie znaczenia miR w rozwoju cukrzycy, jej powikłań oraz znaczenia ich obecności w postępowaniu terapeutycznym.

### Obecność mikroRNA a niszczenie komórek $\beta$ i zmniejszenie syntezy insuliny

Degradacja komórek  $\beta$  trzustki jest bardzo charakterystyczna dla cukrzycy typu 1. W patogenezie tego procesu udział biorą limfocyty T-regulatorowe; miR mogą doprowadzić do dysregulacji w populacji limfocytów T-regulatorowych. W przeprowadzonych dotychczas badaniach dowiedziono na przykład, że miR-342 powoduje spadek liczby receptorów NF- $\kappa$ B, BMPR2 (*bone morphogenetic protein receptor*) oraz

**Tabela 1. Znaczenie mikroRNA w rozwoju insulinooporności (wg [18] w modyfikacji własnej)**

MikroRNA	Zmiany w cukrzycy	Znaczenie	Piśmiennictwo
miR-24	Obniża poziom p38	Zwiększenie indukowanej przez TNF- $\alpha$ insulinooporności	[1–33]
miR-125b	Podwyższa poziom TNF <sub>AIP3</sub>	Wzrost stężenia NF- $\kappa$ B	[1–43]
miR-144	Podwyższa poziom IRS-1	Zmniejszenie sygnału insulinowego docierającego do komórek	[1–44]
miR-181	Podwyższa poziom IRS-2	Zmniejszenie sygnału insulinowego docierającego do komórek	[1–44]

TNF- $\alpha$  (*tumor necrosis factor alpha*) — czynnik martwicy nowotworu alfa; IRS (*insulin receptor substrate*) — substrat receptora insulinowego

płatkopochodnego czynnika wzrostu (PDGF, *platelet-derived growth factor*) [13].

Wydzielanie insuliny może zostać zaburzone przez specyficzny miR, jakim jest miR-375. Jego podwyższona ekspresja koreluje ujemnie ze stężeniem insuliny [14]. Wydaje się, że wspomniane miR uczestniczy czynnie w zmniejszeniu liczby komórek  $\beta$ , a co za tym idzie — w zmniejszeniu ilości syntetyzowanej insuliny. Niezwykle ciekawą rolę odgrywa również występowanie miR-124a, miR-9, miR-96 [15]. Pierwszy z wymienionych prowadzi do zwiększenia uwalniania insuliny przy niskim poziomie glikemii, wpływając w ten sposób hamująco na pobudzane przez glukozę uwalnianie insuliny.

### Znaczenie mikroRNA w powstawaniu insulinooporności

Insulinooporność to jeden z najistotniejszych czynników biorących udział w patogenezie cukrzycy typu 2. Insulinooporność dotyczy zarówno hepatocytów mięśni szkieletowych, jak również adipocytów. Podwyższone stężenie wolnych kwasów tłuszczowych jest tym czynnikiem, który inicjuje rozwój insulinooporności w wymienionych tkankach. W badaniach dowiedziono, że miR-103 i miR-107 przyspieszają różnicowanie i wzrost adipocytów, zwiększając ilość tkanki tłuszczowej [16]. Wyniki analiz wykazały także, że miR-181d powoduje w ludzkich hepatocytach zwiększone gromadzenie się kropelek tłuszczu [17]. Trzeba również wspomnieć o kilku innych miR, które mają znaczenie w rozwoju insulinooporności — przedstawiono je w tabeli 1.

### Obecność mikroRNA a ryzyko rozwoju późnych powikłań cukrzycy dotyczących małych naczyń krwionośnych

#### Retinopatia

U chorych na cukrzycę stwierdzono obecność wielu markerów zapalnych w ciałku szklistym oraz w siatkówce. Wśród nich należy wymienić czynnik martwicy nowotworu alfa (TNF- $\alpha$ , *tumor necrosis factor alpha*), interleukinę 1 beta (IL-1 $\beta$ ) i CXCL10 (*CXC chemokine ligand 10*) [19].

Tylko pojedyncze doniesienia opisują znaczenie miR w procesach zapalnych toczących się w siatkówce. Wśród istotnych zmian patogenetycznych mR w siatkówce znajduje się obniżony poziom miR-200b [20], będący czynnikiem pobudzającym syntezę czynnika wzrostu śródbłonna naczyniowego (VEGF, *vascular endothelial growth factor*). Z kolei VEGF nasila angiogenezę i neowaskularyzację [19]. Wykazano także, iż rodzina miR-29 ulega spadkowi liczby receptorów [21], co doprowadza do zmniejszonego odkładania macierzy i włóknienia siatkówki. Ponadto związki te biorą udział w nasilaniu angiogenezy i neowaskularyzacji [22].

#### Neuropatia

Neuropatia stanowi kolejne poważne późne powikłanie cukrzycy typu 2, o największym ze wszystkich ryzyku wystąpienia. Do chwili obecnej znaczenie miR jest tylko sugerowane. Aby znaleźć odpowiedź na pytanie, w jaki sposób miR wpływa na patogenezę neuropatii, należy przeprowadzić dalsze badania w tym względzie.

#### Nefropatia

W patogenezie nefropatii cukrzycowej istotną rolę odgrywają cewki makrofagów nerkowych. Wśród czynników pobudzających aktywację makrofagów wymienia się NEF $\beta$ , interferon gamma (IFN- $\gamma$ ) i IL-1 $\beta$ . Aktywowane makrofagi pobudzają sekrecję wielu czynników patogenetycznych, wśród nich: TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , ROS, PAL-1 (*platelet activator inhibitor 1*), TGF- $\beta$ , PDGF. Aktywacji makrofagów towarzyszą pojawienie się białkomoczu oraz wzrost stężenia kreatyniny [23]. Najważniejsze miR biorące udział w rozwoju zaburzeń czynności nerek przedstawiono w tabeli 2.

### Obecność mikroRNA a ryzyko rozwoju późnych powikłań cukrzycy dotyczących dużych naczyń krwionośnych

#### Miażdżyca

Rozwój zmian miażdżycowych to proces immunologiczny, w którym udział biorą makrofagi oraz limfocyty T [28]. Na skutek uszkodzenia śródbłonna naczyń poprzez wpływ wysokich stężeń glukozy i cholesterolu frakcji LDL wspomniane komórki nacieka

**Tabela 2. Najważniejsze mikroRNA biorące udział w rozwoju zaburzeń czynności nerek (wg [18] w modyfikacji własnej)**

miRNA	Zmiany w cukrzycy	Zmiany w nerkach	Piśmiennictwo
miR-200	Obniżenie aktywności e-kadheryny	Wzrost macierzy pozakomórkowej	[24]
miR-29	Obniżenie aktywności kolagenu	Wzrost macierzy pozakomórkowej i nasilenie włóknienia	[25]
miR-21	Wzrost aktywności SMAD 7	Wzrost aktywności TGF- $\beta$	[26]
miR-21	Wzrost aktywności PDCD4	Nasilenie apoptozy podocytów	[26]
miR-93	Obniżenie aktywności CEGF	Nasilenie angiogenezy i neowaskularyzacji	[27]

TGF- $\beta$  (transforming growth factor beta) — transformujący czynnik wzrostu beta

**Tabela 3. Udział mikroRNA w patogenezie rozwoju i progresji miażdżycy (wg [18] w modyfikacji własnej)**

miR	Zmiany w cukrzycy	Wywoływane zmiany	Piśmiennictwo
miR-34	Wzrost aktywności SIRT1	Zahamowanie cyklu podziału komórek śródbłonka oraz tworzenie fenotypu miażdżycowego	[29]
miR-155	Obniżenie aktywności AT <sub>1</sub> R	Wzrost wazokonstrykcji Wzrost aktywacji makrofagów Wzrost nacieków makrocytarnych	[28]
miR-125a/b	Wzrost aktywności ET-1	Wzrost absorpcji oxy-LDL przez makrofagi	[34]
miR-21	Wzrost aktywności PTEN	Nasilenie proliferacji komórek śródbłonkowych Wydłużenie czasu przeżycia komórek śródbłonkowych	[32]
miR-221	Wzrost aktywności P27 i p57	Nasilenie proliferacji komórek śródbłonkowych Nasilenie angiogenezy	[32]

ściany naczyń. Wiele z tych komórek na skutek obecności oxy-LDL przeistacza się w komórki piankowate. Nieprzypadkowo miR biorą udział w różnych stadiach rozwoju blaszki miażdżycowej. Przeprowadzono w tym względzie wiele badań. Wśród najistotniejszych miR biorących udział w powyższych procesach wymienia się: miR-44a, miR-155, miR-125a/b, miR-21, miR-27, miR-221 [29–33]. Najważniejsze dane na ten temat zaprezentowano w tabeli 3.

### Rozwój uszkodzenia mięśnia sercowego

W patogenezie rozwoju kardiomiopatii cukrzycowej udział biorą zarówno komórki śródbłonka, kardiomiocyty, jak i mioblasty [35]. Ponadto, zwiększeniu ulega liczba makrofagów w sercu. Do tego zjawiska dochodzi na skutek wzrostu stężenia cytokin w sercu [36]. Wśród nich wymienia się krążące NEF $\beta$  prowadzące do wzrostu TLB4 i w dalszej konsekwencji do wzrostu TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 i NF- $\kappa$  $\beta$ . Wiedzie to do przerostu serca, pogorszenia kurczliwości oraz nasilenia włóknienia [35]. Wśród istotnych miR uczestniczących w opisanych procesach wymienia się: miR-133, miR-320, miR-29, miR-1, miR-206 i miR-21.

U chorych na cukrzycę obserwuje się wzrost aktywności miR-21 [37], który prowadzi do przerostu miokardiocytów, nasilenia ich proliferacji oraz ograniczenia apoptozy tych komórek. Jednocześnie wywołuje niepotrzebne wydłużenie ich przeżycia. Z kolei obni-

żenie aktywności miR-133 doprowadza do nasilenia włóknienia śródmiąższowego oraz do hipertrofii serca [38]. Wykazano także, że może wpływać na wydłużenie odcinka QT. Wzrost aktywności miR-300 natomiast pociąga za sobą nasilenie uszkodzenia niedokrwienne mięśnia sercowego oraz nasilenie włóknienia [35]. Obniżenie aktywności miR-29 też prowadzi do nasilenia włóknienia mięśnia sercowego [39]. Reasumując, wiele z miR może uczestniczyć w uszkodzeniu mięśnia sercowego, prowadząc do rozwoju kardiomiopatii cukrzycowej.

### Czy oznaczanie mikroRNA może służyć jako biomarker cukrzycy lub jej powikłań?

Oznaczanie miR znalazło już zastosowanie jako biomarker u osób z niewydolnością sercową i chorych na nowotwory [40, 41]. Przeprowadzono badania nad profilem krążących miR u chorych na cukrzycę, porównując je do tych krążących u osób zdrowych i osób z grup ryzyka. Na tej podstawie wykazano u tych chorych zwiększoną ekspresję miR-28-3p i obniżoną ekspresję miR-24, miR-21, miR-20b, miR-15a, miR-191, miR-21, miR-223, miR-320, miR-486, miR-150 i miR-296. Na podstawie zmian w ekspresji możliwe było przewidzenie rozwoju cukrzycy w 70% przypadków w ciągu 10 lat [42].

U osób ze świeżo rozpoznaną cukrzycą stwierdzono także zwiększoną ekspresję następujących miR:

miR-9, miR-29a, miR-34a, miR-30d, miR-124, miR-146a i miR-375 [43]. Wykazano również wzmożoną ekspresję miR-368 u osób w 4. stadium przewlekłej choroby nerek (w 3. stadium nieobserwowana) [44]. Stężenie miR-368 koreluje ujemnie ze współczynnikiem filtracji kłębuszkowej (GFR, *glomerular filtration rate*). Wreszcie wykazano zmniejszenie ekspresji wielu miR u chorych z albuminurią. Przeprowadzono także badania nad znaczeniem miR jako biomarkera powikłań makrocząyniowych w cukrzycy [45]. Wśród miR mogących być biomarkerami choroby wieńcowej należy wymienić: miR-1, miR-21, miR-27, miR-33 (zwiększona ekspresja) i miR-30 (zmniejszona ekspresja) [46].

### Potencjalne znaczenie blokady mikroRNA w terapii

Przeprowadzono pierwsze obserwacje w kwestii potencjalnego znaczenia blokady miR w terapii. Celem badań było sprawdzenie, czy blokada endogennych miR o wzmożonej aktywności może prowadzić do zahamowania procesu chorobowego. Putta i wsp. [47] wykazali, iż bloker chemiczny, jakim jest LNA (*locked nucleic acid*) RNA, potrafi doprowadzić do poprawy. Stosując go, wykazano, że w zmniejszonym stopniu obniża on aktywność miR-191 i przez to zmniejsza postęp zmian w nerkach u myszy. Z kolei blokada miR-208, miR-499 oraz miR-195 zmniejsza remodeling u osób z przewlekłą niewydolnością serca, natomiast stosując wektor 2 adenowirusa, można zahamować tworzenie niektórych miR, a poprzez to zminimalizować ich działanie [47].

### Podsumowanie

Cukrzyca to plaga początku XXI wieku. W patogenezie cukrzycy typu 2 udział biorą głównie dwa czynniki: nadmierne spożycie kalorii w diecie oraz zbyt mała aktywność fizyczna. Istotne są jednak również czynniki genetyczne. W ostatnich latach coraz częściej podkreśla się ich znaczenie, zwłaszcza cząsteczek miR, w rozwoju cukrzycy typu 2 i jej powikłań. MikroRNA stanowią rodzinę jednoniciowych, niekodujących, endogennych cząsteczek regulacyjnych, powstających z dwuniciowych prekursorów. Są one obecne w komórkach roślinnych, zwierzęcych i ludzkich. Zbudowane są zwykle z 21–23 nukleotydów, a ich główna rola wiąże się z potranskrypcyjną regulacją ekspresji licznych genów. Wydaje się, że miR odgrywają istotną rolę zarówno w patogenezie cukrzycy, jak i w rozwoju późnych powikłań dotyczących małych oraz dużych naczyń (retinopatia, neuropatia, nefropatia, miażdżyca, uszkodzenie mięśnia sercowego). W pracy omówiono niektóre z miR biorące czynny udział w wymienionych procesach. Przywołano również badania, których auto-

rzy wykazali, iż bloker chemiczny, jakim jest LNA RNA, potrafi doprowadzić do zahamowania postępu procesu cukrzycowego, a także zbadali profil krążących miR u chorych na cukrzycę, porównując je do tych krążących u osób zdrowych i osób z grup ryzyka. Na podstawie zmian w ekspresji możliwe było przewidzenie ryzyka rozwoju cukrzycy w 70% przypadków w ciągu 10 lat.

Wydaje się, że już w nieodległej przyszłości znalezienie miR w przewidywaniu rozwoju cukrzycy oraz jej powikłań wzrośnie. Prawdopodobnie nie bez znaczenia będzie również zastosowanie oznaczeń miR jako biomarkera.

### Oświadczenie o konflikcie interesów

Autorzy nie zgłaszają konfliktu interesów.

### PIŚMIENNICTWO

1. IDF Atlas, 2011-12-06.
2. Satoh J., Tabunoki H. Comprehensive analysis of human mikroRNA target networks. *BioData Mining* 2011; 4: 17.
3. Berezikov E., Guryev V., van de Belt J., Wienholds E., Plasterk R., Cuppen E. Phylogenetic shadowing and computational identification of human mikroRNA genes. *Cell* 2004; 120: 21–24.
4. Izzotti A., Calin G.A., Arrigo P., Steele V.E., Croce C.M., De Flora S. Downregulation of mikroRNA expression in the lungs of rats exposed to cigarette smoke. *FASEB J.* 2009; 23: 806–812.
5. Isik M., Korswagen H.C., Berezikov E. Expression patterns of intronic mikroRNAs in *Caenorhabditis elegans*. *Silence* 2010; 1: 5.
6. Shomron N., Levy C. MikroRNA — biogenesis and pre-mRNA splicing crosstalk. *J. Biomed. Biotechnol.* 2009; 2009: 594–678.
7. Borchert G.M., Lanier W., Davidson B.L. RNA polymerase III transcribes human mikroRNAs. *Nat. Struct. Mol. Biol.* 2006; 13: 1097–1101.
8. Lee Y., Kim M., Han J. i wsp. MikroRNA genes are transcribed by RNA polymerase II. *EMBO J.* 2004; 20: 4051–4060.
9. Beezhold K.J., Castranova V., Chen F. Microprocessor of mikroRNAs: regulation and potential for therapeutic intervention. *Mol. Cancer* 2010; 9: 134.
10. Wienholds E., Plasterk R.H. MikroRNA function in animal development. *FEBS Lett.* 2005; 579: 5911–5922.
11. Bartel D.P. MikroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell* 2004; 116: 281–297.
12. Liu J., Valencia-Sanchez M.A., Hannon G.J., Parker R. MikroRNA-dependent localization of targeted mRNAs to mammalian P-bodies. *Nat. Cell Biol.* 2005; 7: 719–723.
13. Hezova R., Slaby O., Faltejskova P. i wsp. MikroRNA-342, mikroRNA-191 and mikroRNA-510 are differentially expressed in T regulatory cells of type 1 diabetic patients. *Cell. Immunol.* 2010; 260: 70–74.
14. Poy M.N., Eliasson L., Krutzfeldt J. i wsp. A pancreatic islet-specific mikroRNA regulate4s insulin secretion. *Nature* 2004; 432: 226–230.
15. Karolina D.S., Armugam A., Sepramaniam S., Jeyaseelan K. miRNAs and diabetes mellitus. *Expert Rev. Endocrinol. Metab.* 2012; 7: 281–300.
16. Xie H., Lim B., Lodish H.F. MikroRNAs induced during adipogenesis that accelerate fat cell development are downregulated in obesity. *Diabetes* 2009; 58: 1050–1057.
17. El Ouaamari A., Baroukh N., Martens G.A., Lebrun P., Pilleleers D., van Obberghen E. miR-375 targets 3-phosphoinositide-dependent protein kinase 1 and regulates glucose-induced biological responses in pancreatic  $\beta$ -cells. *Diabetes* 2008; 57: 2708–2717.



18. McClelland A.D., Kantharidis P. MicroRNA in the development of diabetic complications. *Clinical Science* 2014; 126: 95–110.
19. Tang J., Kern T.S. Inflammation in diabetic retinopathy. *Prog. Retin. Eye Res.* 2011; 30: 343–358.
20. Kantharidis P., Wang B., Crew R.M., Lan H.Y. Diabetes complications: the microRNA perspective. *Diabetes* 2011; 60: 1832–1837.
21. Kovacs B., Lumayag S., Cowan C., Xu S. microRNAs in early diabetic retinopathy in streptozotocin-induced diabetic rats. *Invest. Ophthalmol. Visual Sci.* 2011; 21: 4402–4409.
22. Natarajan R., Putta S., Kato M. MicroRNAs and diabetic complications. *J. Cardiovasc. Transl. Res.* 2012; 5: 413–422.
23. Lim A.K.H., Tesch G.H. Inflammation in diabetic nephropathy. *Mediators Inflamm.* 2012; 2012: 146–154.
24. Tesch G.H. Macrophages and diabetic nephropathy. *Semin. Nephrol.* 2010; 30: 290–301.
25. Schena F.P., Gesualdo L. Pathogenetic mechanisms of diabetic nephropathy. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2005; 16: S30–S33.
26. Wang B., Komers R., Carew R. i wsp. Suppression of microRNA-29 expression by TGF- $\beta$ 1 promotes collagen expression and renal fibrosis. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2011; 23: 252–265.
27. Karolina D.S., Armugam A., Tavintharan S. i wsp. MicroRNA 144 impairs insulin signaling by inhibiting the expression of insulin receptor substrate 1 in type 2 diabetes mellitus. *Plos One* 2011; 6: e22839.
28. Ross R. Atherosclerosis: an inflammatory disease. *N. Engl. J. Med.* 1999; 340: 115–126.
29. Godwin J.G., Ge X., Stephan K., Jurisch A., Tullius S.G., Iacomini J. Identification of a microRNAs signature of renal ischemia reperfusion injury. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2010; 107: 14339–14344.
30. Wang Q., Wang Y., Minto A.W. i wsp. MicroRNA-377 is up-regulated and can lead to increased fibronectin production in diabetic nephropathy. *FASEB J.* 2008; 22: 4126–4135.
31. Yamakushi M., Lowenstein C.J. MiR-34, SIRT1 and p53: the feedback loop. *Cell Cycle* 2009; 8: 712–715.
32. Zhong X., Chung A.C.K., Chen H.Y., Meng X.M., Lan H.Y. Smad3-mediated upregulation of miR-21 promotes renal fibrosis. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2011; 22: 1668–1681.
33. Huang R., Hu G., Lin B., Lin Z., Sun C. MicroRNA-155 silencing enhances inflammatory response and lipid uptake in oxidized low-density lipoprotein-stimulated human THP-1 macrophages. *J. Investig. Med.* 2010; 58: 961–967.
34. Zhu N., Zhang D., Chen S. i wsp. Endothelial enriched microRNAs regulate angiotensin II-induced endothelial inflammation and migration. *Atherosclerosis* 2011; 215: 286–293.
35. Miki T., Yuda S., Kouzu H., Miura T. Diabetic cardiomyopathy: pathophysiology and clinical features. *Heart Failure Rev.* 2012; 18: 149–166.
36. Schilling J.D., Machkovech H.M., Kim A.H.J., Schwedwener R., Schaffer J.E. Macrophages modulate cardiac function in lipotoxic cardiomyopathy. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2012; 303: H1366–H1373.
37. Villeneuve L.M., Kato M., Reddy M.A., Wang M., Lanting L., Natarajan R. Enhanced levels of microRNA-125b in vascular smooth muscle cells of diabetic db/db mice lead to increased inflammatory gene expression by targeting the histone methyltransferase Suv39h1. *Diabetes* 2010; 59: 2904–2915.
38. Chen W.J., Yin K., Zhao G.J., Fu Y.C., Tang C.K. The magic and mystery of microRNA-27 in atherosclerosis. *Atherosclerosis* 2012; 222: 314–323.
39. Sabatel C., Malvaux L., Bovy N. i wsp. MicroRNA-21 exhibits anti-angiogenic function by targeting RhoB expression in endothelial cells. *Plos One* 2011; 6: e16979.
40. Shantikumar S., Caporale A., Emanuelli C. Role of microRNAs in diabetes and its cardiovascular complications. *Cardiovasc. Res.* 2012; 93: 583–593.
41. Chen X., Ba Y., Ma L. i wsp. Characterization of microRNAs in serum: a novel class of biomarkers for diagnosis of cancer and other diseases. *Cell Res.* 2008; 18: 997–1006.
42. Zampetaki A., Kiechl S., Drozdov I. i wsp. Plasma microRNA profiling reveals loss of endothelial miR-126 and other microRNAs in type 2 diabetes. *Circ. Res.* 2010; 107: 810–817.
43. Kong L., Zhu J., Han W. i wsp. Significance of serum microRNAs in pre-diabetes and newly diagnosed type 2 diabetes: a clinical study. *Acta Diabetol.* 2011; 48: 61–69.
44. Neal C.S., Michael M.Z., Pimlott L.K., Yong T.Y., Li J.Y.Z., Gleadle J.M. Circulating microRNA expression is reduced in chronic kidney disease. *Nephrol. Dial. Transplant.* 2011; 26: 3794–3802.
45. Tijssen A.J., Pinto Y.M., Vreemers E. E. Circulating microRNAs as diagnostic biomarkers for cardiovascular diseases. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2012; 303: H1085–H1095.
46. Diehl P., Fricke A., Sander L. i wsp. Microparticles: major transport vehicles for distinct microRNAs in circulation. *Cardiovasc. Res.* 2012; 93: 633–644.
47. Putta S., Lanting L., Sun G., Lawson G., Kato M., Natarajan R. Inhibiting microRNA-192 ameliorates renal fibrosis in diabetic nephropathy. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2012; 23: 458.