

©КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2018

УДК 616.1-092:575.083.3

Великий Д.А.¹, Гичкун О.Е.^{1,2}, Шевченко А.О.^{1,3}

МИКРОРНК: РОЛЬ В РАЗВИТИИ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ, ПЕРСПЕКТИВЫ КЛИНИЧЕСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ

¹ФГБУ «НМИЦ ТИО им.ак. В.И. Шумакова» Минздрава РФ, 123182, Москва, Россия;

²ФГАУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава РФ (Сеченовский университет), 119991, Москва, Россия;

³ФГБОУ ВО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова» Минздрава РФ, 117997, Москва, Россия

Представлен анализ опубликованных данных о диагностической роли микроРНК при развитии сердечно-сосудистых заболеваний. МикроРНК представляют собой класс малых некодирующих РНК, регулирующих экспрессию генов и влияющих на различные функции клетки. Описаны современные методы исследования микроРНК. Проанализированы данные об изменении их концентрации при ишемической болезни сердца, сердечной недостаточности и других заболеваниях. В настоящее время накопление клинических данных о роли этих биомаркеров позволит определить диагностическую и прогностическую значимость отдельных микроРНК или их панелей при сердечно-сосудистых заболеваниях.

Ключевые слова: микроРНК; биомаркеры; сердечно-сосудистые заболевания; мультимаркерный анализ.

Для цитирования: Великий Д.А., Гичкун О.Е., Шевченко А.О. МикроРНК: роль в развитии сердечно-сосудистых заболеваний, перспективы клинического применения. Клиническая лабораторная диагностика. 2018; 63 (7): 403-409. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2018-63-7-403-409>

Velikiy D.A.¹, Gichkun O.E.^{1,2}, Shevchenko A.O.^{1,3}

MICRORNAS: A ROLE IN THE DEVELOPMENT OF CARDIOVASCULAR DISEASE, THE POSSIBILITY FOR CLINICAL APPLICATION

¹V.I. Shumakov National Medical Research Center of Transplantology and Artificial Organs of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow, Russia;

²I.M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow, Russia;

³N.I. Pirogov Russian National Research Medical University of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow, Russia

This review summarizes the published literature devoted to the analysis of diagnostic role of microRNAs in cardiovascular disease. MicroRNAs are a class of small non-coding RNAs that regulate gene expression and affect various cellular functions. Modern methods for the detection of microRNA are described. The data of variations in their concentration in ischemic heart disease, heart failure and other diseases are analyzed. At present, the accumulation of clinical data on the role of these biomarkers will allow to determine the diagnostic and prognostic significance of microRNAs (microRNA sets) in cardiovascular diseases.

Key words: microRNA, biomarkers, cardiovascular disease, multimarker analysis.

For citation: Velikiy D.A., Gichkun O.E., Shevchenko A.O. MicroRNAs: a role in the development of cardiovascular disease, the possibility for clinical application. Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics). 2018; 63 (7): (in Russ) 403-409. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2018-63-7-403-409>

For correspondence: Velikiy D.A., Ph.D. (Medicine), Lead Researcher of the Department of Regulatory Mechanisms in Transplantology; e-mail: dim_vel@mail.ru

Information about authors:

Velikiy D.A., <https://orcid.org/0000-0002-8742-5102>

Gichkun O.E., <http://orcid.org/0000-0002-3475-3161>

Shevchenko A.O. <http://orcid.org/0000-0003-4719-9486>

Conflict of interests: The authors declare the absence of conflict of interests.

Acknowledgment. The study had no sponsor ship.

Received 28.03.2018
Accepted 03.04.2018

Несмотря на открытие новых лекарственных препаратов и достижения в области терапии, сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ), в первую очередь атеросклероз и его осложнения, тяжёлая хроническая сердечная недостаточность (СН), остаются основной причиной смертности в мире [1]. Лучшее понимание патофизиологии ССЗ может помочь в проведении более

эффективного мониторинга прогрессирования заболеваний и применения новых терапевтических стратегий. В последние десятилетия во всем мире активно изучается связь новых факторов и медиаторов воспаления, неоангиогенеза, деструкции тканей, тромбообразования с риском ССЗ и их осложнений. МикроРНК являются предметом исследований, направленных на понимание патогенеза ССЗ, поиск и валидацию новых биомаркеров для их диагностики [2]. Эту группу веществ можно отнести, очевидно, к потенциальным биомаркерам, которые либо недавно используются в клинической медицине, либо только в перспективе могут быть рекомендованы для

Для корреспонденции: Великий Дмитрий Алексеевич, канд. мед. наук, вед. науч. сотр. отдела регуляторных механизмов в трансплантологии; e-mail: dim_vel@mail.ru

практического применения. В то же время эти сведения информативно ёмки, клиническое применение лабораторных маркеров отражает современное состояние научных разработок в области аналитических технологий, а диагностическая значимость постоянно расширяется и уточняется [3].

МикроРНК относятся к классу небольших (приблизительно 22 нуклеотида) некодирующих РНК, которые после транскрипции регулируют экспрессию гена путём расщепления специфических мРНК или репрессии их трансляции. Первая микроРНК, *lin-4*, была идентифицирована в *Caenorhabditis elegans* в 1993 г. [4]. На сегодняшний день идентифицировано более 1000 микроРНК и подтверждено их участие в регуляции всех известных клеточных процессов [5]. Экспрессия микроРНК в основном тканеспецифична и позволяет контролировать экспрессию генов на разных стадиях биологических процессов. Благодаря разнообразию регуляторных функций микроРНК могут являть собой новый перспективный класс биомаркеров, пригодных как для диагностики, так и для мониторинга прогрессирования заболевания. Кроме того, их использование может помочь в выборе тактики лечения и/или подборе дозы лекарственных препаратов.

Структура и функции микроРНК. По своей структуре микроРНК представляют класс малых (около 22 нуклеотидов) некодирующих молекул, которые препятствуют иницированию трансляции, что приводит к распаду соответствующих мишеней [6]. В ядре с помощью РНК-полимеразы II/III происходит транскрипция микроРНК; далее - модификация (процессинг) с участием рибонуклеазы Droscha и внутриядерного белка DGCR8 в «шпилечные» РНК (пре-микроРНК), которые состоят из 70 нуклеотидов и более и имеют характерную конфигурацию. После экспорта в цитоплазму с помощью белков внутриядерного транспорта Exportin 5 и Ran-GTP пре-микроРНК расщепляются рибонуклеазой Dicer с образованием 21–23 нуклеотидных дуплексов. Затем эти дуплексы «разматываются» и могут непосредственно внутри клетки образовывать микроРНК-опосредованные блокирующие комплексы (miRISC),

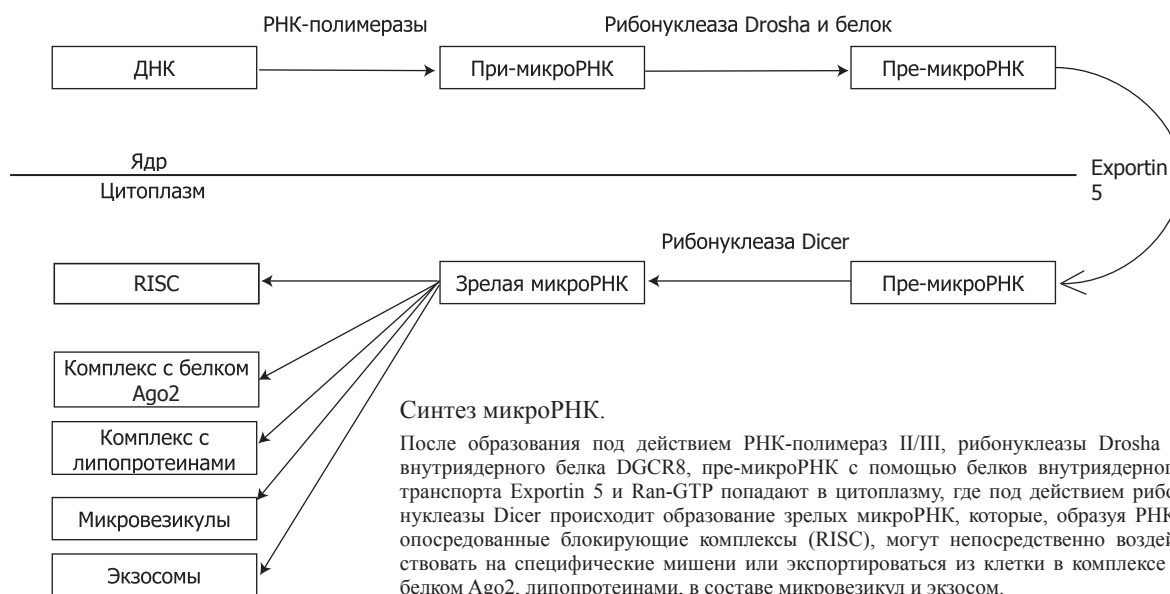
которые контролируют ингибирование трансляции мишеней данной микроРНК. При этом микроРНК могут также высвобождаться из клетки в виде комплексов с белком Ago2 или с липопротеинами, секретироваться в экзосомах или упаковываться в микровезикулы (см. рисунок) [7].

После образования под действием РНК-полимераз II/III рибонуклеазы Droscha и внутриядерного белка DGCR8 пре-микроРНК с помощью белков внутриядерного транспорта Exportin 5 и Ran-GTP попадают в цитоплазму, где под действием рибонуклеазы Dicer происходит образование зрелых микроРНК, которые, образуя РНК-опосредованные блокирующие комплексы (RISC), могут непосредственно воздействовать на специфические мишени или экспортироваться из клетки в комплексе с белком Ago2, липопротеинами, в составе микровезикул и экзосом.

Согласно некоторым данным, более 60% транскриптома человека может контролироваться с помощью микроРНК, тем самым делая этот путь посттранскрипционной регуляции одним из важнейших для общего функционирования клетки. При этом микроРНК играют ключевую роль в регулировании функций как здоровых, так и повреждённых клеток [8].

Как было показано, помимо регуляции процессов внутри клетки, микроРНК секретируются и могут быть обнаружены в биологических жидкостях организма, в том числе в крови и моче. Для перспективы клинического использования важным является тот факт, что циркулирующие микроРНК очень устойчивы и стабильны к различным повреждающим факторам: действию рибонуклеаз, замораживанию и оттаиванию и другим [9]. Показано, что секретлируемые микроРНК могут не только воздействовать на специфические мишени, но и функционировать в качестве вторичных мессенджеров. Упакованные в экзосомы микроРНК используются соседними клетками и индуцируют модификацию и/или регуляцию клетки [10].

Методы исследования микроРНК. МикроРНК стабильно сохраняются как в цельной крови, так и сыворотке или плазме. При использовании цельной крови



необходимо помнить, что в присутствии стандартного антикоагулянта (например, этилендиаминтетрауксусной кислоты – ЭДТА) с течением времени может изменяться уровень микроРНК в образце, так как транскрипция и деградация микроРНК продолжаются в белых кровяных клетках и тромбоцитах. Во избежание этого эффекта пробирки для сбора крови должны содержать стабилизирующие реагенты, которые разрушают клетки крови и тем самым останавливают экспрессию микроРНК [11]. Другие методы основаны на использовании химической экстракции на основе концентрированных хаотропных солей, таких как гуанидинтиоцианат, которые лизируют клетки и ингибируют РНКазу.

Для анализа уровня экспрессии микроРНК в плазме крови могут использоваться такие антикоагулянты, как ЭДТА, гепарин, цитрат [12]. Однако цитрат и гепарин ингибируют полимеразную цепную реакцию (ПЦР), а ЭДТА является антикоагулянтом выбора при анализе микроРНК методом обратной транскрипции ПЦР (ОТ-ПЦР). Показано, что существует разница в концентрации микроРНК при сравнении образцов сыворотки и плазмы [13]. Последнее объясняется высвобождением микроРНК из тромбоцитов в процессе коагуляции. После подготовки соответствующих клинических образцов уровень экспрессии микроРНК можно проанализировать с помощью различных технологий. Известно несколько методов для определения экспрессии генов микроРНК в биологических образцах.

Первым методом является Нозерн-блот (англ. Northern blot). Он хорошо изучен и описан, однако довольно трудоёмок, а кроме того, существует много ограничений использования образцов. Для определения зрелой микроРНК в пробе общую РНК наносят на 12% денатурирующий полиакриламидный гель. В качестве маркера используют низкомолекулярный олигонуклеотид. После электрофореза пробы помещают на мембрану и проводят гибридизацию с олигонуклеотидными пробами (меченными ^{32}P изотопом или другой меткой), комплементарными зрелой форме изучаемой микроРНК. Далее мембрану отмывают от несвязавшихся олигонуклеотидных последовательностей и осуществляют детекцию с помощью радиочувствительной плёнки (если метка ^{32}P). Этот метод позволяет определить наличие интересующей последовательности микроРНК в исследуемом материале при изучении экспрессии генов [14].

В последнее время для обнаружения молекул микроРНК в биологическом образце используют метод микрочипов. Он позволяет исследовать образец на наличие одновременно большого количества молекул микроРНК. Недостаток такого подхода – необходимость содержания в образце больших количеств исследуемой РНК, что не всегда возможно. Из клеточной культуры, в которой нужно определить микроРНК, выделяют общую РНК. Выделенный материал инкубируют с малыми последовательностями РНК, меченными флуоресцентными метками. Далее меченый образец наносится на микрочип, содержащий ДНК-последовательности известных молекул микроРНК. После инкубации в течение 14 ч происходит гибридизация, затем планшет отмывается. Результат считывается при помощи флуоресцентного сканера. По свечению в лунках планшета определяют, какой из 200 образцов микроРНК экспрессируется в пробе [15].

Метод для определения уровня экспрессии генов микроРНК – количественная ОТ-ПЦР – имеет высокую специфичность и чувствительность. Чтобы исследовать

микроРНК с помощью ПЦР, необходимо модифицировать последнюю, так как праймеры в обычной системе для ПЦР имеют тот же размер, что и исследуемая микроРНК. Разработан новый методический подход, основанный на модификации ПЦР. Первым шагом в данной методике является встраивание последовательности искомого микроРНК в комплементарную ДНК (кДНК) с известной последовательностью. Это осуществляется при реакции обратной транскрипции. После проводят ПЦР и детекцию полученных ампликонов [16].

Аналитические особенности количественного анализа микроРНК. Существуют факторы, влияющие на точность анализа микроРНК. Критическое рассмотрение таких факторов имеет первостепенное значение, так как помогает избежать ошибочных результатов и обеспечить сопоставимость различных анализов. Например, при выделении РНК максимальная эффективность, воспроизводимость и надёжность имеют огромное значение, так как даже минимальная сопутствующая экстракция ингибирующих факторов может существенно влиять на результаты измерений. Для количественного определения уровня микроРНК используются различные методы выявления (секвенирование, ПЦР в реальном времени, микрочипы). Их применение необходимо определить согласно поставленным задачам, чтобы минимизировать разницу значений между результатами исследований. Важно отметить, что методы исследования должны быть стандартизованы, должны применяться воспроизводимые протоколы выделения и обнаружения; в противном случае сопоставимость значительно затруднена [17].

Помимо этих аналитических аспектов, существуют другие параметры, влияющие на уровень микроРНК в анализируемом биоматериале. Лекарственные препараты, такие как статины, антиагрегантные препараты и гепарин, могут изменять показатели определения микроРНК. Например, статины снижают уровень циркулирующего микроРНК-122, антитромбоцитарные препараты облегчают количество свободно циркулирующих тромбоцитарных микроРНК, а гепарин влияет на ПЦР в процессе количественной оценки [18]. Наконец, существуют различия в результатах количественной оценки микроРНК между клеточным и внеклеточным источниками биоматериала [19].

МикроРНК при сердечно-сосудистых заболеваниях. Многочисленные исследования последних лет показывают, что микроРНК могут выступать в качестве сильных диагностических биомаркеров и обладать прогностическим потенциалом при ССЗ. При ишемической болезни сердца (ИБС) и СН их надёжность сопоставима с таковой сердечных тропонинов и натрийуретических пептидов [20–23]. Кроме того, микроРНК были идентифицированы как специфические биомаркеры при заболеваниях, для которых не установлены белковые биомаркеры, – при фибрилляции предсердий и острой лёгочной эмболии [24, 25]. Имеются данные и о возможной диагностической роли микроРНК у реципиентов трансплантированного сердца.

Клиническая значимость микроРНК при ССЗ объясняется разнообразием регуляторных функций, которые контролируются этими молекулами. В частности, они выступают в качестве регуляторов метаболических процессов, таких как обмен липидов и гомеостаз глюкозы, играющих важную роль в развитии ССЗ и их осложнений [26]. Более того, установлена роль микроРНК в ре-

гуляции пролиферации, дифференцировки, миграции и выживаемости гладкомышечных клеток сосудов и клеток эндотелия [27, 28]. Всё указанное определяет большое количество исследований, направленных на установление роли микроРНК в качестве диагностических биомаркеров при ССЗ.

МикроРНК при ИБС и вопросы совершенствования диагностики острого коронарного синдрома. Острый коронарный синдром (ОКС), объединяющий нестабильную стенокардию и инфаркт миокарда (ИМ), характеризуется непредсказуемостью развития и связан с высоким риском осложнений и смерти. Появление клинических признаков ОКС свидетельствует об уже свершившемся повреждении атеросклеротической бляшки и образовании тромба в просвете коронарной артерии. Очень важной, но в настоящее время нерешённой проблемой является обнаружение признаков, предвещающих готовящуюся катастрофу.

При остром ИМ отмечается повышение концентрации определённых микроРНК в периферической крови [29]. Для более точной оценки их диагностического потенциала необходимо сравнение микроРНК с биомаркерами, используемыми в клинической практике, в первую очередь с тропонинами. В экспериментальном исследовании при индуцированном ИМ у мышей отмечено значительное повышение концентрации микроРНК-208 в плазме крови по сравнению с контролем; эти данные были подтверждены в клиническом исследовании, в котором приняли участие 424 пациента с острым ИМ. Концентрация микроРНК-208b и микроРНК-499-5p в плазме этих больных была значительно выше по сравнению с уровнем у здоровых людей. Однако диагностическая способность указанных микроРНК была ниже, чем у тропонина Т (площадь под ROC-кривой: тропонин Т – 0,95, микроРНК-208b – 0,82, микроРНК-499-5p – 0,79) [30]. Несмотря на постоянное совершенствование методик определения и внедрение высокочувствительного анализа тропонинов, процент ложноположительных реакций остаётся достаточно высоким [31], с этой точки зрения определение микроРНК может повысить точность диагностики острого ИМ с помощью биомаркеров крови. Было отмечено увеличение концентрации микроРНК-499-5p у пациентов с ИМ без повышения сегмента ST, причём диагностическая точность при дифференциальной диагностике этого заболевания с острой СН была выше, чем у тропонина [20]. В другом исследовании было показано, что совместное определение концентрации микроРНК-1, микроРНК-499 и микроРНК-21 с высокочувствительным тропонином Т значительно увеличивало его диагностический потенциал у пациентов с ОКС (площадь под ROC-кривой увеличивалась с 0,89 до 0,94) [32]. При развитии нестабильной стенокардии, когда уровень тропонина Т не изменяется, было отмечено дифференциально значимое повышение концентрации микроРНК-133a в сыворотке крови пациентов по сравнению с концентрацией у здоровых людей [33]. В исследовании, включившем 444 пациента с ОКС, установлено повышение концентрации микроРНК-1, микроРНК-133a и микроРНК-208b в группе больных с ИМ по сравнению с группой пациентов с нестабильной стенокардией [34].

С учётом многофакторности патогенеза атеросклероза и его осложнений, а также в связи с различной степенью выраженности разных факторов у каждого пациента в настоящее время разрабатывается концепция мульти-

маркерного анализа, т.е. создания панелей биомаркеров для диагностики и оценки риска развития осложнений. Предполагается, что применение мультимаркерного анализа может быть перспективным путём к персонализации наблюдения и лечения пациентов и позволит повысить чувствительность и специфичность диагностики [35]. Набор из шести микроРНК (микроРНК-1, микроРНК-134, микроРНК-186, микроРНК-208, микроРНК-223 и микроРНК-499) был валидизирован в качестве надёжного биомаркера развития острого ИМ. Диагностическая значимость этого набора была выше не только каждой микроРНК по отдельности, но и выше таких биомаркеров, как тропонин Т и креатининкиназа-МВ (площадь под ROC-кривой составляла 0,83 против 0,768 и 0,709 соответственно) [21]. В другом исследовании для диагностики ИМ оказался эффективным набор из 20 микроРНК, который как по своей чувствительности и специфичности, так и по диагностической способности был выше, чем каждая микроРНК по отдельности. Более того, указанный набор позволял проводить более раннюю диагностику инфаркта по сравнению с тропонином Т [36].

Помимо диагностического потенциала микроРНК могут иметь значение в качестве предикторов неблагоприятных сердечно-сосудистых событий как у здоровых людей, так и у пациентов с установленными ССЗ. Показана предиктивная роль набора из пяти микроРНК в отношении развития ИМ [37]. В другом исследовании набор из семи микроРНК был определён в качестве предиктора гибели пациентов с установленным диагнозом ИБС [38]. В крупном исследовании, включившем 820 пациентов, установлено, что микроРНК-126, микроРНК-197 и микроРНК-223 могут являться надёжными предикторами развития ИМ [39]. Эти же микроРНК, как было показано в исследовании с участием 873 пациентов, являются сильными предикторами гибели больных с диагностированной ИБС [40]. Приведённые данные показывают не только наличие у микроРНК прогностического потенциала, но и открывают возможности их использования при вторичной профилактике ССЗ.

На сегодняшний день диагностика нестабильной стенокардии на фоне нормальных значений уровня сердечного тропонина основывается на клинической оценке, при этом риск развития ИМ у данной категории больных значительно повышен. В клиническом исследовании с участием 95 пациентов было показано, что концентрация в сыворотке крови микроРНК-486 и микроРНК-92a может служить для дифференцирования пациентов со стабильной и нестабильной стенокардией [41]. В другом исследовании установлено увеличение экспрессии на мононуклеарных клетках периферической крови микроРНК-134, микроРНК-198 и микроРНК-370 у пациентов с нестабильной стенокардией в отличие от пациентов со стабильной стенокардией [42]. Было установлено, что дифференциальная диагностика нестабильной стенокардии и боли в груди некоронарной этиологии может осуществляться с помощью определения концентрации в периферической крови набора из микроРНК-132, микроРНК-150 и микроРНК-186 [43]. Таким образом, исследования показывают, что для диагностики нестабильной стенокардии более перспективно использование наборов из нескольких микроРНК, позволяющих выявлять незначительные метаболические нарушения и изменения концентрации циркулирующих биомаркеров, которые происходят до развития ИМ.

МикроРНК при сердечной недостаточности. Ишемические нарушения в сердце, такие как ИМ, могут вызывать последовательное ремоделирование миокарда и фиброз, следствием чего является развитие СН. МикроРНК, как было показано, участвуют в регуляции процессов роста, гипертрофии, фиброза и жизнеспособности миокарда, поэтому изменение концентрации специфических микроРНК в крови отмечается у пациентов после ИМ. Был составлен набор из четырёх микроРНК: микроРНК-1, микроРНК-21, микроРНК-133а и микроРНК-208, концентрация которых повышалась после перенесённого ИМ [44]. В другом исследовании показано, что уровень микроРНК-208b и микроРНК-499 изменяется при повреждении миокарда. При этом уровень микроРНК-499 повышался и у пациентов с развившейся острой СН [45]. В ряде исследований была также описана возможная роль микроРНК в качестве биомаркеров для диагностики СН [46, 47]. Всего установлено 24 микроРНК, концентрация которых в периферической крови в той или иной степени изменяется у пациентов с СН по сравнению с таковой у здоровых людей [22].

На сегодняшний день в качестве биомаркеров диагностики СН используют N-терминальный фрагмент мозгового натрийуретического пептида (NT-proBNP) и ST2 (член семейства рецепторов интерлейкина-1) [48, 49]. Как и сердечный тропонин, NT-proBNP характеризуется как высокой чувствительностью, так и значительным процентом ложноположительных реакций. Поэтому с клинической точки зрения особенно большое значение имеет высокая диагностическая чувствительность и специфичность микроРНК. Недавно было описано пять микроРНК, снижение концентрации которых коррелировало как с развитием СН, так и с уровнем NT-proBNP. Значения площади под ROC-кривой составляли от 0,84 до 0,91, что отражает высокий диагностический потенциал данных микроРНК [22]. В другой работе при скрининговом исследовании циркулирующих микроРНК у пациентов с СН было показано повышение концентрации микроРНК-423-5p, микроРНК-320a, микроРНК-22 и микроРНК-92b по сравнению с уровнем у здоровых людей. При этом для микроРНК-320 и микроРНК-423-5p была установлена также корреляция с такими параметрами, как уровень NT-proBNP, широкий комплекс QRS и дилатация левого желудочка [50]. Большое клиническое значение имеют данные, которые показывают, что изменение концентрации в плазме микроРНК-23a, микроРНК-27b, микроРНК-324-5p и микроРНК-342-3p может помочь дифференцировать пациентов с СН и пациентов с обострением хронической обструктивной болезни лёгких или с одышкой другой этиологии. В этом же исследовании отмечено значительное увеличение диагностической способности биомаркеров при сочетанном определении микроРНК-423-5p и NT-proBNP [51]. Предполагается, что наборы, состоящие из двух микроРНК и более, могут иметь более высокий диагностический потенциал [46]. В исследовании, включившем 53 пациента с неишемической СН и сниженной фракцией выброса, был сформирован набор из восьми микроРНК (микроРНК-520d-5p, микроРНК-558, микроРНК-122, микроРНК-200b, микроРНК-622, микроРНК-519e, микроРНК-1231 и микроРНК-1228), который с высокой точностью (площадь под ROC-кривой 0,81) может использоваться для диагностики [52].

Ранняя диагностика СН у пациентов с сохранённой фракцией выброса затруднительна, вследствие того что

функциональные параметры часто остаются в пределах нормы, а клинические симптомы появляются на более поздних стадиях развития заболевания. При исследовании кардиомиоцитов крыс в модели СН с сохранённой фракцией выброса было показано значительное увеличение уровня микроРНК-21 по сравнению с таковым у здоровых животных [53]. В клинических исследованиях удалось выявить несколько микроРНК, изменение концентрации которых было связано с развитием заболевания, однако эти данные нуждаются в подтверждении на большем количестве пациентов [54, 55].

Показана прогностическая роль микроРНК при развитии СН [56]. При обследовании 42 пациентов микроРНК-182 была описана в качестве предиктивного биомаркера гибели больных с СН, причём её прогностическое значение было выше, чем у NT-proBNP и С-реактивного белка [23]. Известно, что развитие СН сопровождается нарушением функций других органов. Снижение уровня микроРНК-199a-3p в плазме крови было сильным предиктором развития почечной недостаточности у пациентов с острой СН [57]. Однако несмотря на перспективные результаты оценки прогностической роли микроРНК при развитии СН и нежелательных сердечно-сосудистых событий, на сегодняшний день нет данных исследований, проведённых с участием большого количества пациентов.

В настоящее время высказываются предположения о том, что измерение уровня микроРНК при трансплантации сердца может иметь значение для оценки риска развития отторжения и минимизации иммуносупрессивной терапии. Были установлены как отдельные микроРНК, так и мультимаркерные тесты на их основе, позволяющие достоверно различить пациентов после трансплантации сердца с острым клеточным отторжением и пациентов без отторжения [58, 59]. Известно, что васкулопатия сердечного трансплантата является лимитирующим фактором долгосрочного выживания реципиентов сердца. Было установлено, что уровни некоторых эндотелиальных микроРНК в плазме крови могут выступать в качестве диагностических маркеров распространённой васкулопатии независимо от клинических предикторов или других биомаркеров [60].

МикроРНК являются перспективными биомаркерами для диагностики ССЗ, наибольшее значение оценка их концентрации имеет при ИБС и СН. МикроРНК обладают высоким диагностическим потенциалом, который сопоставим с потенциалом широко используемых белковых биомаркеров или даже превосходит его, при этом применение наборов из нескольких микроРНК может повысить диагностическую точность. Более того, в нескольких крупных исследованиях была показана возможность использования наборов микроРНК в качестве предикторов нежелательных сердечно-сосудистых событий у пациентов с ИБС.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА (пп. 1, 4-34,36-46,48, 50-60 см. REFERENCES)

2. Щербо С.Н., Щербо Д.С., Кралин М.Ю. Биомаркеры персонализированной медицины часть 5. Некодирующие РНК и МикроРНК. *Медицинский алфавит*. 2015; 3(11): 5-11.

3. Долгов В.В., Шевченко О.П., Шевченко А.О. *Биомаркеры в лабораторной диагностике*. М.- Тверь: ООО «Издательство «Триада»; 2014.
35. Шевченко О.П., Аксенова А.В., Улыбышева А.А., Можейко Н.П., Никитина Е.А., Орлов В.И., Стаханова Е.А., Шевченко А.О. Сравнительный анализ диагностической значимости панелей биомаркеров у реципиентов сердца в отдаленные сроки после трансплантации. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2017; 19(2): 27-33.
47. Жиров И.В., Кочетов А.Г., Засеева А.В., Лянг О.В., Скворцов А.А., Абрамов А.А., Гимадиев Р.Р., Масенко В.П., Терещенко С.Н. МикроРНК в диагностике хронической сердечной недостаточности: состояние проблемы и результаты пилотного исследования. *Системные гипертензии*. 2016; 13(1): 39-46.
49. Шевченко О.П., Улыбышева А.А., Великий Д.А., Шевченко А.О. ST2 при отторжении трансплантированного сердца. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2015; 17(4): 90-4.
18. Kaudewitz D., Zampetaki A., Mayr M. MicroRNA biomarkers for coronary artery disease? *Curr Atheroscler. Rep*. 2015; 17:70.
19. Shah R., Tanriverdi K., Levy D., Larson M., Gerstein M., Mick E. et al. Discordant expression of circulating microRNA from cellular and extracellular sources. *PLoS One* 2016; 11:e0153691.
20. Olivieri F., Antonicelli R., Lorenzi M., D'Alessandra Y., Lazzarini R., Santini G. et al. Diagnostic potential of circulating miR-499-5p in elderly patients with acute non ST-elevation myocardial infarction. *Int.J. Cardiol*. 2013;167: 531-6.
21. Li C., Fang Z., Jiang T., Zhang Q., Liu C., Zhang C. et al. Serum microRNAs profile from genome-wide serves as a fingerprint for diagnosis of acute myocardial infarction and angina pectoris. *BMC Med. Genomics*. 2013; 6:16.
22. Marfella R., Di Filippo C., Potenza N., Sardu C., Rizzo M.R., Siniscalchi M. et al. Circulating microRNA changes in heart failure patients treated with cardiac resynchronization therapy: responders vs. non-responders. *Eur. J. Heart Fail*. 2013;15: 1277-88.
23. Cakmak H.A., Coskunpinar E., Ikitimur B., Barman H.A., Karadag B., Tiryakioglu N.O. et al. The prognostic value of circulating microRNAs in heart failure: preliminary results from a genome-wide expression study. *J. Cardiovasc. Med. (Hagerstown)* 2015;16:431-7.
24. Liu Z., Zhou C., Liu Y., Wang S., Ye P, Miao X. et al. The expression levels of plasma microRNAs in atrial fibrillation patients. *PLoS One* 2012;7:e44906.
25. Kessler T., Erdmann J., Vilne B., Bruse P., Kurowski V., Diemert P. et al. Serum microRNA-1233 is a specific biomarker for diagnosing acute pulmonary embolism. *J. Transl. Med*. 2016; 14: 120.
26. Zampetaki A., Mayr M. MicroRNAs in vascular and metabolic disease. *Circ. Res*. 2012; 110: 508-22.
27. Menghini R., Stohr R., Federici M. MicroRNAs in vascular aging and atherosclerosis. *Ageing Res. Rev*. 2014;17c: 68-78.
28. Anand S. A brief primer on microRNAs and their roles in angiogenesis. *Vasc. Cell* 2013; 5: 2.
29. Leistner D.M., Boeckel J.N., Reis S.M., Thome C.E., De Rosa R., Keller T. et al. Transcoronary gradients of vascular miRNAs and coronary atherosclerotic plaque characteristics. *Eur. Heart J*. 2016; 37: 1738-49.
30. Gidlof O., Smith J.G., Miyazu K., Gilje P., Spencer A., Blomquist S. et al. Circulating cardio-enriched microRNAs are associated with long-term prognosis following myocardial infarction. *BMC Cardiovasc. Disord*. 2013; 13: 12.
31. Jaeger C., Wildi K., Twerenbold R., Reichlin T., Rubini Gimenez M., Neuhaus J.D., et al. One-hour rule-in and rule-out of acute myocardial infarction using high-sensitivity cardiac troponin I. *Am. Heart J*. 2016; 171:92-102.e1-5.
32. Oerlemans M.I., Mosterd A., Dekker M.S., de Vrey E.A., van Mil A., Pasterkamp G., et al. Early assessment of acute coronary syndromes in the emergency department: the potential diagnostic value of circulating microRNAs. *EMBO Mol. Med*. 2012;4: 1176-85.
33. Kuwabara Y., Ono K., Horie T., Nishi H., Nagao K., Kinoshita M. et al. Increased microRNA-1 and microRNA-133a levels in serum of patients with cardiovascular disease indicate myocardial damage. *Circ. Cardiovasc. Genet*. 2011; 4: 446-54.
34. Widera C., Gupta S.K., Lorenzen J.M., Bang C., Bauersachs J., Bethmann K. et al. Diagnostic and prognostic impact of six circulating microRNAs in acute coronary syndrome. *J. Mol. Cell Cardiol*. 2011; 51: 872-5.
35. Shevchenko O.P., Aksyonova A.V., Ulybyшева A.A., Mozheiko N.P., Nikitina E.A., Orlov V.I., Stakhanova E.A., Shevchenko A.O. Comparative analysis of diagnostic significance of biomarkers' panels in cardiac recipients in the long term period after transplantation. *Vestnik transplantologii i iskustvennykh organov*. 2017;19(2):27-33. (in Russian)
36. Meder B., Keller A., Vogel B., Haas J., Sedaghat-Hamedani F., Kayvanpour E. et al. MicroRNA signatures in total peripheral blood as novel biomarkers for acute myocardial infarction. *Basic Res. Cardiol*. 2011;106: 13-23.
37. Bye A., Rosjo H., Nauman J., Silva G.J., Follstad T., Omland T. et al. Circulating microRNAs predict future fatal myocardial infarction in healthy individuals – the HUNT study. *J. Mol. Cell Cardiol*. 2016; 97:162-8.

REFERENCES

1. Moran A.E., Forouzanfar M.H., Roth G.A. et al. Temporal trends in ischemic heart disease mortality in 21 world regions, 1980 to 2010: the Global Burden of Disease 2010 study. *Circulation*. 2014; 129:1483-92.
2. Shherbo S.N., Shherbo D.S., Kralin M.Ju. Biomarkers of personalized medicine part 5. Non-coding RNA and MicroRNA. *Meditsinskiy alfavit*. 2015; 3(11): 5-11. (in Russian)
3. Dolgov V.V., Shevchenko O.P., Shevchenko A.O. *Biomarkers in laboratory diagnostics [Biomarkery v laboratornoy diagnostike]*. Moscow - Tver': ООО «Izdatel'stvo «Triada», 2014. (in Russian)
4. Lee R.C., Feinbaum R.L., Ambros V. The C. elegans heterochronic gene lin-4 encodes small RNAs with antisense complementarity to lin-14. *Cell*.1993; 75: 843-854.
5. Berezikov E. Evolution of microRNA diversity and regulation in animals. *Nat. Rev. Genet*. 2011; 12: 846-60.
6. Chekulaeva M., Filipowicz W. Mechanisms of miRNA-mediated post-transcriptional regulation in animal cells. *Curr Opin Cell Biol*. 2009; Jun;21(3): 452-60.
7. Bartel D.P. MicroRNAs: target recognition and regulatory functions. *Cell*. 2009; Jan 23;136(2):215-33.
8. Adams B.D., Kasinski A.L., Slack F.J. Aberrant regulation and function of microRNAs in cancer. *Curr Biol*. 2014; Aug 18; 24(16):762-76.
9. Guay C., Regazzi R. Circulating microRNAs as novel biomarkers for diabetes mellitus. *Nat. Rev. Endocrinol*. 2013; Sep; 9(9): 513-21.
10. Zhang J., Li S., Li L., Li M, Guo C., Yao J., Mi S. Exosome and exosomal microRNA: trafficking, sorting, and function. *Genomics Proteomics Bioinformatics*. 2015 Feb;13(1):17-24.
11. Hantusch M., Tolios A., Beutner F., Nagel D., Thiery J., Teupser D. et al. Comparison of whole blood RNA preservation tubes and novel generation RNA extraction kits for analysis of mRNA and miRNA profiles. *PLoS One* 2014;9:e113298.
12. Hunter M.P., Ismail N., Zhang X., Aguda B.D., Lee E.J., Yu L. et al. Detection of microRNA expression in human peripheral blood microvesicles. *PLoS One* 2008;3:e3694.
13. Wang K., Yuan Y., Cho J.H., McClarty S., Baxter D., Galas D.J. Comparing the MicroRNA spectrum between serum and plasma. *PLoS One* 2012;7:e41561.
14. Varallyay E., Burgyan J., Havelda Z. Detection of microRNAs by Northern blot analyses using LNA probes. *Methods*. 2007;43: 140-5.
15. Zhou W.J., Chen Y., Corn R.M. Ultrasensitive microarray detection of short RNA sequences with enzymatically modified nanoparticles and surface plasmon resonance imaging measurements. *Anal. Chem*. 2011; 83: 3897-902.
16. Mestdagh P., Hartmann N., Baeriswyl L., Andreasen D., Bernard N., Chen C. et al. Evaluation of quantitative miRNA expression platforms in the microRNA quality control (miRQC) study. *Nat. Methods*. 2014; 11: 809-15.
17. Hardikar A.A., Farr R.J., Joglekar M.V. Circulating microRNAs: understanding the limits for quantitative measurement by realtime PCR. *J. Am. Heart Assoc*. 2014; 3: e000792.

38. Karakas M., Schulte C., Appelbaum S., Ojeda F., Lackner K.J., Munzel T. et al. Circulating microRNAs strongly predict cardiovascular death in patients with coronary artery disease—results from the large AtheroGene study. *Eur. Heart J.* 2017; Feb 14;38(7): 516–23.
39. Zampetaki A., Willeit P., Tilling L., Drozdov I., Prokopi M., Renard J.M. et al. Prospective study on circulating MicroRNAs and risk of myocardial infarction. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2012; 60: 290–9.
40. Schulte C., Molz S., Appelbaum S., Karakas M., Ojeda F., Lau D.M. et al. miRNA-197 and miRNA-223 predict cardiovascular death in a cohort of patients with symptomatic coronary artery disease. *PLoS One.* 2015;10: e0145930.
41. Niculescu L.S., Simionescu N., Sanda G.M., Carnuta M.G., Stancu C.S., Popescu A.C. et al. MiR-486 and miR-92a identified in circulating HDL discriminate between stable and vulnerable coronary artery disease patients. *PLoS One.* 2015;10: e0140958.
42. Hoekstra M., van der Lans C.A., Halvorsen B., Gullestad L., Kuiper J., Aukrust P. et al. The peripheral blood mononuclear cell microRNA signature of coronary artery disease. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2010; 394: 792–7.
43. Zeller T., Keller T., Ojeda F., Reichlin T., Twerenbold R., Tzikas S. et al. Assessment of microRNAs in patients with unstable angina pectoris. *Eur. Heart J.* 2014; 35: 2106–14.
44. Zile M.R., Mehurg S.M., Arroyo J.E., Stroud R.E., DeSantis S.M., Spinale F.G. Relationship between the temporal profile of plasma microRNA and left ventricular remodeling in patients after myocardial infarction. *Circ. Cardiovasc. Genet.* 2011; 4: 614–9.
45. Corsten M.F., Dennert R., Jochems S., Kuznetsova T., Devaux Y., Hofstra L. et al. Circulating MicroRNA-208b and MicroRNA-499 reflect myocardial damage in cardiovascular disease. *Circ. Cardiovasc. Genet.* 2010;3: 499–506.
46. Schulte C., Westermann D., Blankenberg S., Zeller T. Diagnostic and prognostic value of circulating microRNAs in heart failure with preserved and reduced ejection fraction. *World J. Cardiol.* 2015; 7: 843–60.
47. Zhironov I.V., Kochetov A.G., Zaseeva A.V., Liang O.V., Skvortsov A.A., Abramov A.A., Gimadiev R.R., Masenko V.P., Tereshchenko S.N. MicroRNA in the diagnosis of chronic heart failure: state of the problem and the results of a pilot study. *Sistemnye gipertenzii.* 2016; 13(1): 39–46. (in Russian)
48. McMurray J.J., Adamopoulos S., Anker S.D., Auricchio A., Bohm M., Dickstein K. et al. ESC guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure 2012: The Task Force for the Diagnosis and Treatment of Acute and Chronic Heart Failure 2012 of the European Society of Cardiology. Developed in collaboration with the Heart Failure Association (HFA) of the ESC. *Eur. J. Heart Fail.* 2012; 14: 803–69.
49. Shevchenko O.P., Ulybysheva A.A., Velikiy D.A., Shevchenko A.O. ST2 in rejection of the transplanted heart. *Vestnik transplantologii i iskusstvennykh organov.* 2015;17(4):90–4. (in Russian)
50. Goren Y., Kushnir M., Zafrir B., Tabak S., Lewis B.S., Amir O. Serum levels of microRNAs in patients with heart failure. *Eur. J. Heart Fail.* 2012; 14: 147–54.
51. Ellis K.L., Cameron V.A., Troughton R.W., Frampton C.M., Ellmers L.J., Richards A.M. Circulating microRNAs as candidate markers to distinguish heart failure in breathless patients. *Eur. J. Heart Fail.* 2013;15: 1138–47.
52. Vogel B., Keller A., Frese K.S., Leidinger P., Sedaghat-Hamedani F., Kayvanpour E. et al. Multivariate miRNA signatures as biomarkers for non-ischaemic systolic heart failure. *Eur. Heart J.* 2013; 34: 2812–22.
53. Dong S., Ma W., Hao B., Hu F., Yan L., Yan X. et al. MicroRNA-21 promotes cardiac fibrosis and development of heart failure with preserved left ventricular ejection fraction by up-regulating Bcl-2. *Int. J. Clin. Exp. Pathol.* 2014;7: 565–74.
54. Wong L.L., Armugam A., Sepramaniam S., Karolina D.S., Lim K.Y., Lim J.Y. et al. Circulating microRNAs in heart failure with reduced and preserved left ventricular ejection fraction. *Eur. J. Heart Fail.* 2015;17: 393–404.
55. Watson C.J., Gupta S.K., O’Connell E., Thum S., Glezeva N., Fendrich J. et al. MicroRNA signatures differentiate preserved from reduced ejection fraction heart failure. *Eur. J. Heart Fail.* 2015; 17: 405–15.
56. Satoh M., Minami Y., Takahashi Y., Tabuchi T., Nakamura M. Expression of microRNA-208 is associated with adverse clinical outcomes in human dilated cardiomyopathy. *J. Card. Fail.* 2010; 16: 404–10.
57. Bruno N., terMaaten J.M., Ovchinnikova E.S., Vegter E.L., Valente M.A., van der Meer P. et al. MicroRNAs relate to early worsening of renal function in patients with acute heart failure. *Int. J. Cardiol.* 2016; 203: 564–9.
58. Sukma Dewi I., Hollander Z., Lam K.K., McManus J.W., Tebbutt S.J., Ng R.T. et al. Association of serum MiR-142-3p and MiR-101-3p levels with acute cellular rejection after heart transplantation. *PLoS One.* 2017; 12(1): e0170842.
59. Duong Van Huyen J.P., Tible M., Gay A., Guillemain R., Aubert O., Varnous S. et al. MicroRNAs as non-invasive biomarkers of heart transplant rejection. *Eur. Heart J.* 2014; 35(45): 3194–202.
60. Singh N., Heggermont W., Fieuws S., Vanhaecke J. et al. Endothelium-enriched microRNAs as diagnostic biomarkers for cardiac allograft vasculopathy. *J. Heart Lung. Transplant.* 2015; 34: 1376–84.

Поступила 28.03.18

Принята к печати 03.04.18