

МИКРОРНК-27 И -339 ПРИ ФИБРОЗЕ МИОКАРДА ТРАНСПЛАНТИРОВАННОГО СЕРДЦА: АНАЛИЗ ДИАГНОСТИЧЕСКОЙ ЗНАЧИМОСТИ

О.П. Шевченко^{1, 2}, Д.А. Великий¹, С.О. Шарапченко¹, О.Е. Гичкун^{1, 2}, А.В. Марченко¹,
А.А. Улыбышева^{1, 3}, В.С. Павлов¹, Н.П. Можейко¹, Н.Н. Колоскова¹, А.О. Шевченко¹⁻³

¹ ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Минздрава России, Москва, Российская Федерация

² ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет), Москва, Российская Федерация

³ ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва, Российская Федерация

Фиброз миокарда играет ключевую роль в патогенезе сердечной недостаточности. В качестве перспективных профиброгенных биомаркеров, способных сигнализировать о возможном риске негативных событий после трансплантации сердца, выделяют семейство малых некодирующих сигнальных молекул микроРНК.

Цель: выявить и оценить диагностическую значимость микроРНК, а также комплексных тестов на их основе у реципиентов сердца с фиброзом миокарда трансплантата. **Материалы и методы.** В исследование включены 83 реципиента сердца в возрасте от 16 до 64 ($48,4 \pm 13,1$) лет. В плазме венозной крови измеряли уровень экспрессии пяти микроРНК (miR-27, -101, -142, -339, -424) методом количественной полимеразной цепной реакции; концентрацию галектина-3 определяли иммуноферментным методом.

Результаты. Морфологические признаки фиброза миокарда трансплантата верифицированы у 48 реципиентов. У реципиентов сердца с фиброзом миокарда уровни экспрессии miR-27 и miR-339 значимо выше, чем при отсутствии такового ($p = 0,018$ и $p = 0,043$ соответственно). Определены диагностически значимые пороговые величины miR-27 и miR-339 в отношении выявления фиброза миокарда трансплантированного сердца ($-4,33$ и $-5,24$ отн. ед. соответственно). Относительный риск выявления фиброза миокарда трансплантата у реципиентов с величиной экспрессии miR-27 выше порогового уровня составил $1,5 \pm 0,157$ [95% ДИ 1,104–2,039], $p = 0,009$; для miR-339 – $1,31 \pm 0,130$ [95% ДИ 1,018–1,692], $p = 0,036$. При одновременном уровне экспрессии miR-27 и концентрации галектина-3 выше их рассчитанных пороговых значений риск развития фиброза миокарда трансплантированного сердца возрастает до $2,7 \pm 0,456$ [95% ДИ 1,090–6,524], $p = 0,032$; при одновременном превышении пороговых значений miR-339 и галектина-3 риск составляет $2,0 \pm 0,316$ [95% ДИ 1,076–3,717], $p = 0,028$. **Заключение.** Экспрессия miR-27 и miR-339 связана с наличием фибротических изменений в миокарде трансплантата. Сочетание молекулярно-генетических и протеомных биомаркеров в одном тесте позволяет повысить его диагностические характеристики в отношении посттрансплантационных осложнений у реципиентов сердца.

Ключевые слова: трансплантация сердца, фиброз миокарда, микроРНК-27, микроРНК-339, галектин-3.

Для корреспонденции: Шарапченко Софья Олеговна. Адрес: 123182, Москва, ул. Щукинская, д. 1.
Тел. (499) 193-87-62. E-mail: Nyashka1512@yandex.ru

Corresponding author: Sofya Sharapchenko. Address: 1, Shchukinskaya str., Moscow, 123182, Russian Federation.
Phone: (499) 193-87-62. E-mail: Nyashka1512@yandex.ru

DIAGNOSTIC VALUE OF MICRORNA-27 AND -339 IN HEART TRANSPLANT RECIPIENTS WITH MYOCARDIAL FIBROSIS

O.P. Shevchenko^{1, 2}, D.A. Velikiy¹, S.O. Sharapchenko¹, O.E. Gichkun^{1, 2}, A.V. Marchenko¹, A.A. Ulybysheva^{1, 3}, V.S. Pavlov¹, N.P. Mozheiko¹, N.N. Koloskova¹, A.O. Shevchenko¹⁻³

¹ Shumakov National Medical Research Center of Transplantology and Artificial Organs, Moscow, Russian Federation

² Sechenov University, Moscow, Russian Federation

³ Pirogov Medical University, Moscow, Russian Federation

Myocardial fibrosis plays a key role in the pathogenesis of heart failure. A family of small non-coding signaling molecules, microRNAs (miRNAs), has been identified as promising profibrogenic biomarkers capable of signaling a possible risk of adverse events after heart transplantation. **Objective:** to identify and evaluate the diagnostic significance of miRNAs, as well as comprehensive miRNA-based tests in heart recipients with graft myocardial fibrosis. **Materials and Methods.** The study included 83 heart recipients aged 16 to 64 (48.4 ± 13.1) years. The expression levels of five microRNAs (miR-27, -101, -142, -339, -424) in venous blood plasma were measured by quantitative real-time polymerase chain reaction; galectin-3 serum levels were determined by enzyme immunoassay. **Results.** Morphological signs of graft myocardial fibrosis were verified in 48 recipients. The miR-27 and miR-339 expression levels were significantly higher in heart recipients with myocardial fibrosis than in those without myocardial fibrosis ($p = 0.018$ and $p = 0.043$, respectively). Diagnostically significant threshold levels of miR-27 and miR-339 for detection of myocardial fibrosis in heart transplant recipients were determined (-4.33 and -5.24 units, respectively). The relative risk of detecting graft myocardial fibrosis in recipients with miR-27 expression value above the threshold level was $RR = 1.5 \pm 0.157$ [95% CI 1.104-2.039], $p = 0.009$; for miR-339, $RR = 1.31 \pm 0.130$ [95% CI 1.018-1.692], $p = 0.036$. When miR-27 expression levels and galectin-3 serum levels simultaneously exceeded their estimated thresholds, the risk of transplanted heart myocardial fibrosis increased to $RR = 2.7 \pm 0.456$ [95% CI 1.090-6.524], $p = 0.032$; when miR-339 and galectin-3 simultaneously exceeded threshold values, the risk was $RR = 2.0 \pm 0.316$ [95% CI 1.076-3.717], $p = 0.028$. **Conclusion.** The miR-27 and miR-339 expression levels are associated with the presence of fibrotic changes in the graft myocardium. The combination of molecular-genetic and proteomic biomarkers in one test improves the diagnostic characteristics of these expressions with respect to post-transplant complications in heart recipients.

Keywords: heart transplantation, myocardial fibrosis, microRNA-27, microRNA-339, galectin-3.

ВВЕДЕНИЕ

Несмотря на существенные достижения в области трансплантации сердца (ТС), у реципиентов после ТС существует риск развития субклинической хронической сердечной недостаточности вследствие фиброза трансплантата, вызванного аккумулярованием фибриллярного коллагена в миокарде. Исследование эндомикардиальных биоптатов позволяет выявлять патологию трансплантата, однако существенно ограничивается инвазивностью данного вмешательства.

В последние годы ведется активная разработка малоинвазивных методов диагностики посттрансплантационных осложнений, которые позволяют выявлять наличие острого отторжения, а также другие формы патологии сердечного трансплантата [1, 2].

Перспективными кандидатами на роль таких биомаркеров выступают микроРНК – семейство малых эндогенных некодирующих одноцепочечных РНК, выступающих в качестве посттранскрипционных регуляторов, играющих ключевую роль во множестве биологических процессов [3].

На сегодняшний день идентифицировано более 2000 микроРНК и подтверждено их участие в функции здоровых и поврежденных клеток. МикроРНК в основном тканеспецифичны и регулируют экспрессию более 30% генов. Показан диагностический потенциал оценки уровня экспрессии ряда микроРНК в образцах крови пациентов в отношении развития и течения ХСН [4]. Исследования последних лет показали, что измерение уровня экспрессии отдельных видов микроРНК у реципиентов солидных органов может применяться для совершенствования диагностики посттрансплантационных осложнений, в том числе фиброза трансплантата сердца, почек, печени, легкого [5, 6].

Цель настоящей работы – выявить и оценить диагностическую значимость микроРНК, а также комплексных тестов на их основе у реципиентов сердца с фиброзом миокарда трансплантата.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование вошли 83 пациента от 16 до 64 лет ($48,4 \pm 13,1$), отобранных случайным образом, которым в период с 2013-го по 2018 год в ФГБУ «НМИЦ

ТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России была выполнена ТС, среди них мужчин – 64 (77,1%).

В соответствии с протоколом ведения пациентов в НИИЦ ТИО и Национальными клиническими рекомендациями Российского трансплантологического общества все реципиенты после ТС проходили плановые обследования, включавшие клиническую оценку состояния, общий и биохимический анализы крови с определением концентрации такролимуса, повторные биопсии миокарда.

Экспрессия пяти микроРНК (miR-27, -101, -142, -339 и -424), предположительно играющих роль в развитии патологии сердечного трансплантата, исследовалась в плазме венозной крови (от 1 до 3 образцов от каждого реципиента, в среднем 1,2). Образцы крови собирали в одноразовые пробирки с антикоагулянтом, центрифугировали и полученную плазму замораживали при -20 °С. Из 100 мкл плазмы крови с использованием наборов Serum Plasma (Qiagen, США) выделяли общую РНК с предварительным добавлением $1,6 \times 10^8$ копий синтетической микроРНК cel-miR-39 (Qiagen) после инкубации плазмы с фенольной смесью Qiazol. В качестве внутреннего контроля эффективности выделения РНК, синтеза комплементарной ДНК (кДНК) и количественной полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени использовали cel-miR-39. Интенсивность экспрессии рассчитывали по $2^{-\Delta Ct}$ методу [7] и выражали в относительных единицах, эквивалентных $\log_2(2^{-\Delta Ct})$, где ΔCt – рабочие значения изменения цикла получения продукта относительно внутреннего контроля экспрессии микроРНК cel-miR-39.

Концентрацию галектина-3 измеряли иммуноферментным методом с помощью наборов реагентов Human Galectin-3 Platinum ELISA (Bender MedSystems GmbH, Austria) в соответствии с прилагаемой к ним инструкцией.

Определение признаков фибротических изменений миокарда трансплантата осуществляли путем гистологического исследования биопсийного материала. Выполнение эндомикардиальной биопсии (ЭМБ) у реципиентов проводили при плановом

обследовании или по показаниям в соответствии с протоколом.

Величина экспрессии оценивались с применением корреляции Спирмена и U-критерия Манна–Уитни для сравнения независимых переменных. Различия в сравниваемых группах принимались значимыми на уровне $p < 0,05$. Определение чувствительности и специфичности проводили при помощи ROC-анализа. Сравнение у реципиентов логранговым методом (log-rank) кривых выживаемости без нежелательных событий – Каплан–Майер. Для оценки диагностической значимости использовали показатель относительного риска (RR). Для определения порогового уровня экспрессии микроРНК рассчитывался индекс Юдена [8]. Оценены чувствительность, специфичность, а также положительные и отрицательные прогностические значения тестов (PPV и NPV соответственно). Статистическая обработка данных производилась с использованием статистического пакета «Statistica» v.13.0, StatSoft Inc. (США).

РЕЗУЛЬТАТЫ

В результате серии исследований образцов эндомикардиальных биоптатов у 48 реципиентов сердца был выявлен фиброз миокарда трансплантата.

В табл. 1 представлен сравнительный анализ уровня экспрессии исследуемых микроРНК у реципиентов сердца с фиброзом миокарда и без такового.

При исследовании пяти микроРНК уровень экспрессии miR-27 и miR-339 был выше у пациентов с фиброзом миокарда в сравнении с реципиентами без фиброза ($p = 0,018$ и $p = 0,043$ соответственно).

Диагностическая значимость miR-27 и -339 оценивалась путем расчета площади под их ROC-кривыми (AUC). На рис. 1 отражены ROC-кривые экспрессии miR-27 и -339 у реципиентов сердца с фиброзом миокарда трансплантата.

Площадь под ROC-кривой для miR-27 составила $0,69 \pm 0,072$ [95% ДИ 0,545–0,828] и достоверно отличалась от величины 0,5 ($p = 0,010$); для miR-339 она также достоверно отличалась от 0,5 и составила $0,67 \pm 0,072$ [95% ДИ 0,528–0,812] ($p = 0,019$).

По оптимальному сочетанию значений чувствительности и специфичности, соответствующему

Таблица 1

**Величина экспрессии микроРНК у реципиентов сердца с фиброзом миокарда и без такового
MicroRNA expression levels in heart transplant recipients with and without myocardial fibrosis**

МикроРНК	Реципиенты с фиброзом	Реципиенты без фиброза	p -уровень
miR-27	-5,414 [-6,430; -4,330]	-3,742 [-5,738; -1,576]	0,018
miR-101	-7,629 [-8,732; -5,913]	-5,844 [-7,452; -4,467]	0,105
miR-142	-6,925 [-8,297; -5,863]	-6,226 [-8,036; -5,152]	0,409
miR-339	-9,907 [-11,603; -7,784]	-7,925 [-10,132; -3,543]	0,043
miR-424	-6,532 [-7,779; -5,288]	-7,006 [-7,883; -5,617]	0,579

наибольшему показателю индекса Юдена, определены диагностически значимые пороговые величины miR-27 и miR-339 в отношении выявления фиброза миокарда трансплантированного сердца (-4,33 и -5,24 отн. ед. соответственно).

Логранговым методом оценена выживаемость без нежелательных событий у реципиентов с фиброзом миокарда и уровнем экспрессии miR-27 и miR-339 выше и ниже рассчитанных пороговых значений. В качестве нежелательных событий принимали летальный исход, ретрансплантацию сердца или проведение баллонной ангиопластики.

Показано, что у реципиентов с величиной экспрессии miR-27 ниже порогового уровня выживаемость без нежелательных событий достоверно выше, нежели у пациентов с уровнем экспрессии выше такового (log-rank p = 0,04, рис. 2).

Значимых различий выживаемости у реципиентов сердца с величиной экспрессии miR-339 выше и ниже порогового уровня не установлено (log-rank p = 0,34).

Относительный риск выявления фиброза миокарда трансплантированного сердца у реципиентов с величиной экспрессии miR-27 выше порогового уровня составил $1,5 \pm 0,157$ [95% ДИ 1,104–2,039], p = 0,009; для реципиентов с уровнем экспрессии miR-339 выше порогового значения риск фиброза миокарда составил $1,31 \pm 0,130$ [95% ДИ 1,018–1,692], p = 0,036.

При одновременно высоких (выше пороговых значений) уровнях экспрессии miR-27 и miR-339 риск развития фиброза миокарда трансплантированного сердца возрастает в 1,93 раза (RR = $1,93 \pm 0,245$ [95% ДИ 1,191–3,111], p = 0,007).

Полученные результаты указывают на наличие связи экспрессии miR-27 и miR-339 с развитием

фиброза миокарда трансплантированного сердца, однако практическое значение тестов ограничено их недостаточной чувствительностью (не более 60%). В связи с этим предпринято исследование сочетания микроРНК и протеомного биомаркера с доказанной эффективностью при фиброзе миокарда, галектин-3.

Концентрация галектина-3 в плазме крови реципиентов с фиброзом миокарда была значимо выше, чем у реципиентов без фиброза (p = 0,009, рис. 3).

Оценена диагностическая значимость галектина-3 в отношении выявления пациентов с фиброзом. На рис. 4 изображена ROC-кривая концентрации галектина-3 у реципиентов сердца с фиброзом миокарда трансплантата.

Площадь под ROC-кривой для галектина-3 составила $0,73 \pm 0,077$ [95% ДИ от 0,574–0,879] и достоверно отличалась от величины 0,5 (p = 0,004).

По наибольшему показателю индекса Юдена определена диагностически значимая пороговая концентрация галектина-3 в отношении выявления фиброза миокарда трансплантированного сердца, которая составила 21,66 нг/мл; относительный риск выявления фиброза миокарда трансплантированного сердца у реципиентов с концентрацией галектина-3 выше порогового уровня составил $1,46 \pm 0,157$ [95% ДИ 1,071–1,978] (p = 0,016) при чувствительности и специфичности теста 60,9% и 78,6% соответственно.

Сравнительный анализ выживаемости реципиентов сердца с концентрацией галектина-3 выше и ниже рассчитанных пороговых значений показал наличие достоверных различий (рис. 5).

В группе пациентов с уровнем галектина-3 ниже 21,66 нг/мл выживаемость без нежелательных событий значимо выше, чем у реципиентов с уров-

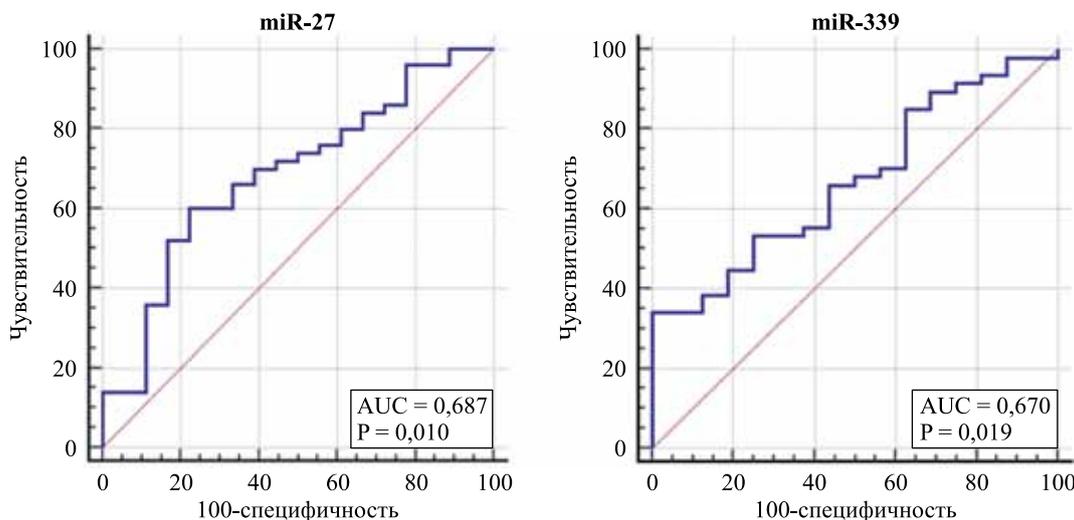


Рис. 1. ROC-кривые экспрессии miR-27 и miR-339 в плазме крови реципиентов сердца с фиброзом миокарда трансплантата

Fig. 1. ROC curves of miR-27 and miR-339 in heart transplant recipients with graft myocardial fibrosis

нем галектина-3, превышающим таковой (log-rank $p = 0,003$).

Оценка диагностических характеристик тестов, предусматривающих совместное измерение экспрессии микроРНК с концентрацией галектина-3, показала следующие результаты: при одновременном уровне экспрессии miR-27 и концентрации галектина-3 выше рассчитанных пороговых значений риск развития фиброза миокарда трансплантированного сердца возрастает до 2,7 раза ($RR = 2,67 \pm 0,456$ [95% ДИ 1,090–6,524], $p = 0,032$ (рис. 6).

При одновременном превышении пороговых значений miR-339 и галектина-3 риск развития фиброза

миокарда возрастает до 2 раз ($RR = 2,00 \pm 0,316$ [95% ДИ 1,076–3,717], $p = 0,028$) по сравнению с отдельными тестами.

В табл. 2 представлены основные диагностические характеристики тестов miR-27, miR-339, галектина-3 и их комбинаций в отношении развития фиброза миокарда трансплантированного сердца.

Совместное определение уровня экспрессии miR-27 и концентрации галектина-3 в плазме крови реципиентов сердца обладает наилучшими диагностическими характеристиками в отношении выявления фиброза миокарда трансплантированного сердца.

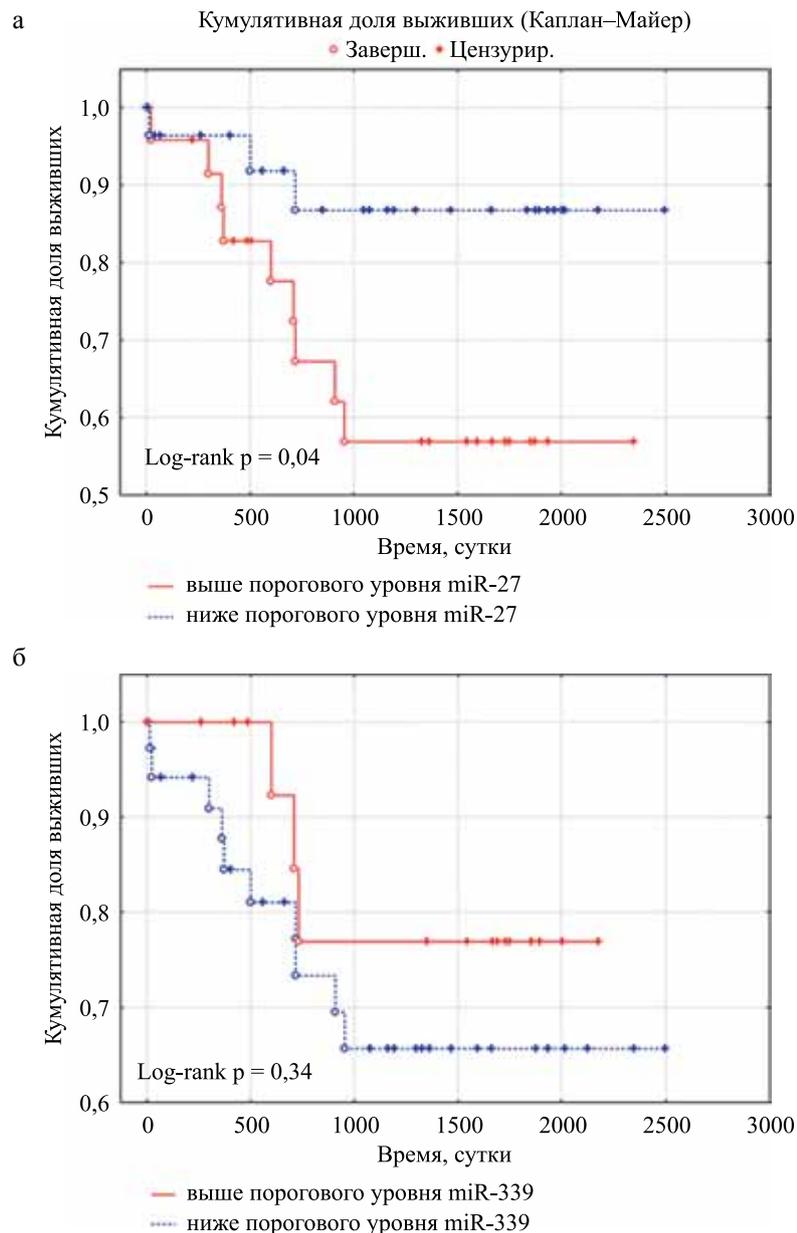


Рис. 2. Кривые выживаемости без нежелательных событий у реципиентов сердца в зависимости от уровня экспрессии miR-27 (а) и miR-339 (б)

Fig. 2. Survival curves without adverse events in heart transplant recipients as a function of miR-27 (a) and miR-339 (б) expression levels

ОБСУЖДЕНИЕ

Фиброз миокарда играет важную роль в развитии субклинической посттрансплантационной сердечной недостаточности. Формирование фиброзной ткани в межклеточном пространстве способствует структурному и функциональному ремоделированию трансплантата. К развитию фиброза миокарда трансплантированного сердца приводят такие патологические

факторы, как артериальная гипертензия, острое отторжение и васкулопатия трансплантата [9, 10].

Верификация фиброза миокарда осуществляется с помощью морфологического анализа ткани миокарда, полученной при ЭМБ, а его количественная характеристика – с определением показателя коллагенообразования – объемной фракции коллагена (ОФК). ОФК позволяет оценить содержание и соотношение коллагена I и III типа в миокарде,

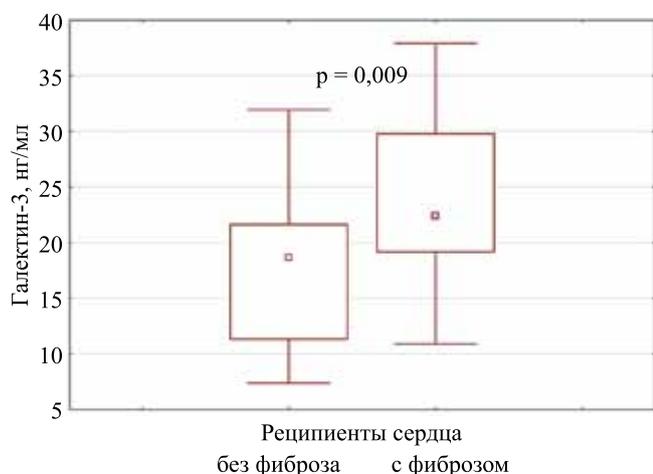


Рис. 3. Концентрация галектина-3 в плазме крови реципиентов сердца с фиброзом миокарда и без такового

Fig. 3. Galectin-3 plasma concentrations in heart transplant recipients with and without myocardial fibrosis

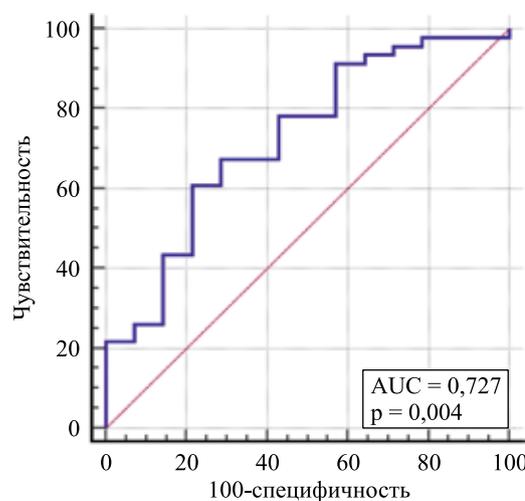


Рис. 4. ROC-кривая концентрации галектина-3 у реципиентов сердца с фиброзом миокарда

Fig. 4. ROC curve of galectin-3 plasma concentrations in heart transplant recipients with myocardial fibrosis

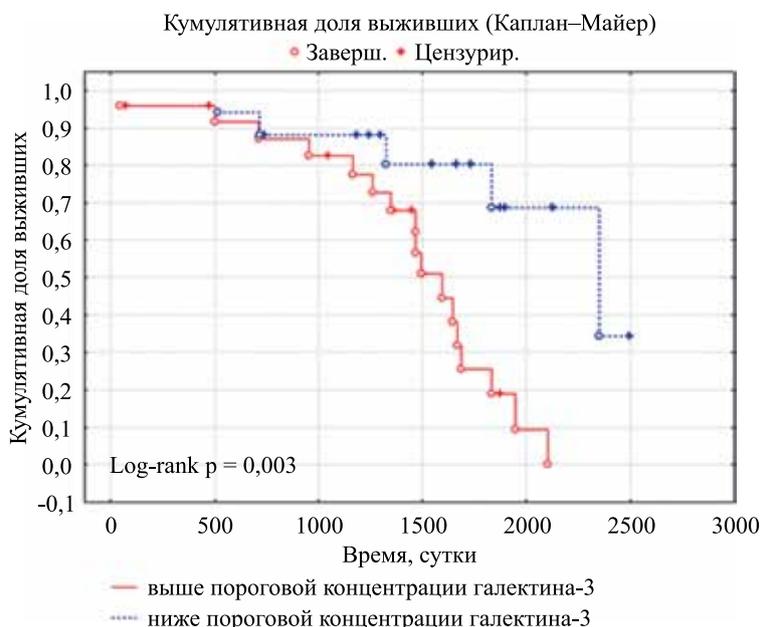


Рис. 5. Кривые выживаемости без нежелательных событий у реципиентов сердца с концентрацией галектина-3 выше и ниже пороговых уровней

Fig. 5. Survival curves without adverse events in heart transplant recipients with galectin-3 plasma concentrations above and below threshold levels

однако диагностическая ценность данного анализа может быть существенно ограничена возможными ошибками при заборе исследуемого биопсийного материала ввиду неравномерного распределения коллагена в тканях [11].

За последнее десятилетие существенно расширены представления о механизмах развития фиброза. Фибробласты играют ключевую роль в поддержании внеклеточного матрикса, они же регулируют синтез и деградацию коллагена. Трансформирующий фактор роста TGF-β1 и ангиотензин II – наиболее известные профиброгенные факторы. Ответной реакцией на действие ангиотензина является экспрессия галектина-3, активного стимулятора пролиферации фибробластов. Подобная стимуляция фибробластов наблюдается при активации иммунной системы в

результате оксидативного стресса или вследствие механического повреждения предсердий [12].

Циркулирующие микроРНК играют важную роль в ремоделировании сердца и других важных биологических процессах. У.М. Huang et al. оценили диагностический потенциал ряда микроРНК в отношении развития и течения сердечной недостаточности у пациентов с ишемической болезнью сердца и дилатационной кардиомиопатией [4].

Функция молекул микроРНК связана с регуляцией экспрессии генов, а именно ингибирующим действием на РНК на уровне процессов транскрипции. Показана регуляторная роль miR-30 и -133a в механизмах фиброобразования миокарда за счет ингибирования фактора роста соединительной ткани [13]. В экспериментах на мышах удалось установить, что повышенная экспрессия miR-133 приво-

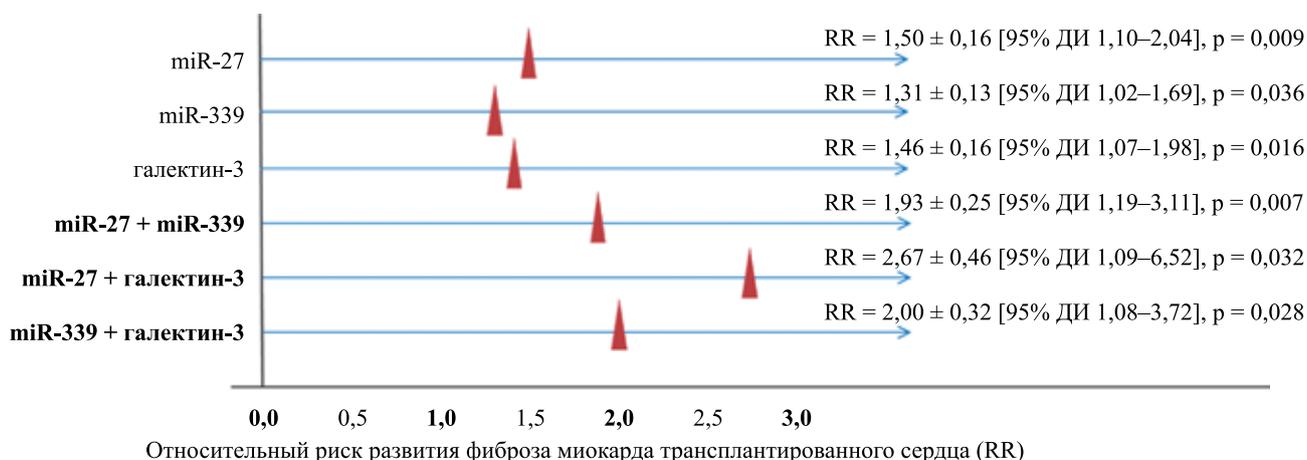


Рис. 6. Показатели относительного риска выявления фиброза миокарда трансплантированного сердца при уровне экспрессии miR-27, miR-339 и концентрации галектина-3 выше пороговых значений, а также при их совместном определении

Fig. 6. Relative risks of myocardial fibrosis in heart transplant recipients with miR-27, miR-339 expression levels and galectin-3 plasma concentrations above threshold levels, and when they are determined together

Таблица 2

Диагностические характеристики miR-27, miR-339 и галектина-3 в отношении выявления фиброза миокарда трансплантированного сердца при уровне выше пороговых значений

Diagnostic characteristics of miR-27, miR-339, and galectin-3 in relation to detection of myocardial fibrosis in heart recipients at levels above thresholds

Тесты	Чувствительность	Специфичность	PPV	NPV
miR-27	60,0%	77,8%	88,2%	41,2%
miR-339	36,2%	87,5%	89,5%	31,8%
галектин-3	60,9%	78,6%	90,3%	37,9%
miR-27 + miR-339	52,4%	91,7%	91,7%	52,4%
miR-27 + галектин-3	66,7%	100,0%	100,0%	62,5%
miR-339 + галектин-3	54,5%	100,0%	100,0%	50,0%

Примечание. PPV – положительное прогностическое значение теста; NPV – отрицательное прогностическое значение теста.

Note. PPV – positive predictive value of the test; NPV – negative predictive value of the test.

дит к снижению синтеза коллагена, соответственно, и фиброза миокарда, тогда как отсутствие miR-133 было связано с высокой предрасположенностью к сердечной недостаточности (СН) и фиброзу. Помимо этого miR-21 вовлечен в регуляцию по одному из профибротических путей и оказывает защитный эффект в отношении оксидативного стресса. И наконец, микроРНК-29 связана с отложением коллагена I и III типов. Повышение содержания miR-29 приводит к снижению синтеза этих белков и наоборот.

Результаты нашего исследования о связи miR-27 и miR-339 с процессом фиброза согласуются с работами зарубежных авторов. Имеются данные об ингибирующем влиянии miR-27 и miR-101 на развитие процессов фиброобразования в сердце и других органах [14–16]. В ряде работ отмечается участие микроРНК-27 в качестве ингибитора воспалительных реакций миокарда [17], а miR-27b, как член семейства микроРНК-27, может играть антифибротическую роль в левом предсердии и расцениваться в качестве новой терапевтической мишени в отношении сердечной недостаточности. Механизм противофибротического действия miR-27 связывают с ингибирующим влиянием на TGF- β [18]. Вместе с этим имеются немногочисленные данные и о профибротическом действии miR-27 через подавление синтеза транскрипционного белка FBW7 [19]. Установлено, что miR-27 имеет значение при развитии атеросклероза: за счет подавления индуцированного липопротеин-липазой накопления липидов и воспалительного ответа miR-27 снижает прогрессирование атеросклероза [20]. В работе L.O. Cruz et al. приведены сведения о том, что miR-27 могут нарушать дифференцировку Treg-клеток, тем самым снижая Treg-опосредованную иммунологическую толерантность [21]. Вместе с этим в недавних исследованиях показано участие miR-339 в качестве ингибитора пролиферации клеток [22, 23]. При ишемической болезни сердца miR-339 способна увеличивать оксидативный стресс за счет подавления Nrf2/FOXO3 сигнального пути через специфический белок Sirt2 [24]. В исследовании J. Chen et al. показано, что miR-339 подавляет пролиферацию гладкомышечных клеток легочной артерии через ингибирование FGF сигнального пути [25]. Результаты нашего исследования демонстрируют наличие значимо более высоких уровней экспрессии miR-27 и -339 у реципиентов сердца с развитием фибротических процессов в миокарде.

Еще одним новым биомаркером развития тяжелой СН является галектин-3, относящийся к семейству лектинов. Он играет важную роль в регуляции процессов воспаления, иммунного ответа и дегенерации нервной ткани, а также идентифицирован в качестве профиброгенного фактора. Галектин-3 секретируется во внеклеточное пространство в участке повреждения и активизирует прежде покаящиеся

фибробласты [26]. Coromilas et al. установили, что повышение концентрации галектина-3 ассоциировано с развитием СН, тогда как более низкие показатели галектина-3 отмечались при снижении тяжести заболевания [27]. Таким образом, продемонстрирована прогностическая значимость галектина-3 в риске развития нежелательных событий у пациентов с СН.

Ранее нами был показан диагностический потенциал галектина-3 в отношении развития фиброза миокарда трансплантированного сердца [28, 29]. В настоящей работе оценены варианты тестов его комбинации с микроРНК miR-27 и miR-339, потенциально значимых при развитии СН [29].

Установлено, что наилучшими диагностическими характеристиками в отношении выявления фиброза миокарда трансплантированного сердца обладает совместный тест на определение в плазме крови реципиентов сердца уровня экспрессии miR-27 и концентрации галектина-3.

Исследование профинансировано грантом Президента Российской Федерации НШ-2598.2020.7 для государственной поддержки ведущих научных школ РФ.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflict of interest.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Crespo-Leiro MG, Barge-Caballero G, Couto-Mallon D. Noninvasive monitoring of acute and chronic rejection in heart transplantation. *Curr Opin Cardiol.* 2017; 32 (3): 308–315.
2. Шевченко АО, Никитина ЕА, Колоскова НН, Шевченко ОП, Готье СВ. Контролируемая артериальная гипертензия и выживаемость без нежелательных событий у реципиентов сердца. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика.* 2018; 17 (4): 4–11. *Shevchenko AO, Nikitina EA, Koloskova NN, Shevchenko OP, Gautier SV. Kontroliruemaja arterial'naja gipertenzija i vyzhivaemost' bez nezhelateln'nyh sobytij u recipien-tov serdca. Kardiovaskuljarnaja terapija i profilaktika.* 2018; 17 (4): 4–11. [In Russ, English abstract].
3. Shah P, Bristow MR, Port JD. MicroRNAs in Heart Failure, Cardiac Transplantation, and Myocardial Recovery: Biomarkers with Therapeutic Potential. *Curr Heart Fail Rep.* 2017; 14 (6): 454–464.
4. Huang YM, Li WW, Wu J, Han M, Li BH. The diagnostic value of circulating microRNAs in heart failure. *Exp Ther Med.* 2019; 17 (3): 1985–2003.
5. Duong Van Huyen JP, Tible M, Gay A. MicroRNAs as non-invasive biomarkers of heart transplant rejection. *European Heart Journal.* 2014; 35 (45): 3194–3202.
6. Farid WRR, Pan Q, Van der Meer AJP. Hepatocyte-derived microRNAs as serum biomarkers of hepatic injury and rejection after liver transplantation. *Liver Transplantation.* 2012; 18 (3): 290–297.

7. Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method. *Methods*. 2001; 25 (4): 402–408.
8. Hughes G. Youden's Index and the Weight of Evidence Revisited. *Methods Inf Med*. 2015; 54 (6): 576–577.
9. Дранкина ОМ, Дранкина ЮС. Фиброз и активность ренин-ангиотензин-альдостероновой системы. Реалии и перспективы. *Артериальная гипертензия*. 2012; 18 (5): 449–458. Дранкина ОМ, Дранкина ЮС. Fibrosis and renin-angiotensin-aldosterone system activity. Reality and future prospects. *Arterial Hypertension*. 2012; 18 (5): 449–458.
10. Khush K, Zarafshar S. Molecular Diagnostic Testing in Cardiac Transplantation. *Curr Cardiol Rep*. 2017; 19 (11): 118.
11. Stehlik J, Starling RC, Movsesian MA et al. Utility of long-term surveillance endomyocardial biopsy: a multi-institutional analysis. *J Heart Lung Transplant*. 2006; 25 (12): 1402–1409.
12. Миклишанская СВ, Мазур НА, Шестакова НВ. Механизмы формирования миокардиального фиброза в норме и при некоторых сердечно-сосудистых заболеваниях. методы его диагностики. *Медицинский совет*. 2017; 12: 75–81. Miklishanskaya SV, Mazur NA, Shestakova NV. Mekhanizmy formirovaniya miokardial'nogo fibroza v norme i pri nekotoryh serdechno-sosudistykh zabolovaniyah. metody ego diagnostiki. *Medicinskij sovet*. 2017; 12: 75–81.
13. Dzeshka MS, Lip GY, Snezhitskiy V, Shantsila E. Cardiac Fibrosis in Patients With Atrial Fibrillation. *JACC*. 2015; 66 (8): 943–959.
14. Li X, Zhang S, Wa M et al. MicroRNA-101 Protects Against Cardiac Remodeling Following Myocardial Infarction via Downregulation of Runt-Related Transcription Factor 1. *J Am Heart Assoc*. 2019; 8 (23): e013112.
15. Huang C, Xiao X, Yang Y et al. MicroRNA-101 attenuates pulmonary fibrosis by inhibiting fibroblast proliferation and activation. *J Biol Chem*. 2017; 292 (40): 16420–16439.
16. Meroni M, Longo M, Erconi V et al. Mir-101-3p Downregulation Promotes Fibrogenesis by Facilitating Hepatic Stellate Cell Transdifferentiation During Insulin Resistance. *Nutrients*. 2019; 11 (11): 2597.
17. Zhang XL, An BF, Zhang GC. MiR-27 alleviates myocardial cell damage induced by hypoxia/reoxygenation via targeting TGFBR1 and inhibiting NF-κB pathway. *Kaohsiung J Med Sci*. 2019; 35 (10): 607–614.
18. Wang Y, Cai H, Li H, Gao Z, Song K. Atrial overexpression of microRNA-27b attenuates angiotensin II-induced atrial fibrosis and fibrillation by targeting ALK5. *Hum Cell*. 2018; 31 (3): 251–260.
19. Fu Q, Lu Z, Fu X et al. MicroRNA 27b promotes cardiac fibrosis by targeting the FBW7/Snail pathway. *Aging (Albany NY)*. 2019; 11 (24): 11865–11879.
20. Xie W, Li L, Zhang M et al. MicroRNA-27 Prevents Atherosclerosis by Suppressing Lipoprotein Lipase-Induced Lipid Accumulation and Inflammatory Response in Apolipoprotein E Knockout Mice. *PLoS One*. 2016; 11 (6): e0157085.
21. Cruz LO, Hashemifar SS, Wu CJ et al. Excessive expression of miR-27 impairs Treg-mediated immunological tolerance. *J Clin Invest*. 2017; 127 (2): 530–542.
22. Zeng H, Zheng J, Wen S et al. MicroRNA-339 inhibits human hepatocellular carcinoma proliferation and invasion via targeting ZNF689. *Drug Des Devel Ther*. 2019; 13: 435–445.
23. Derda AA, Pfanne A, Bär C et al. Blood-based microRNA profiling in patients with cardiac amyloidosis. *PLoS One*. 2018; 3 (10): e0204235.
24. Shi L, Zhang Y, Zhang J et al. MiR-339 is a potential biomarker of coronary heart disease to aggravate oxidative stress through Nrf2/FOXO3 targeting Sirt2. *Ann Palliat Med*. 2021; 10 (3): 2596–2609
25. Chen J, Cui X, Li L et al. MiR-339 inhibits proliferation of pulmonary artery smooth muscle cell by targeting FGF signaling. *Physiol Rep*. 2017; 5 (18): e13441.
26. Grupper A, Nativi-Nativi J, Maleszewski JJ et al. Circulating galectin-3 levels are persistently elevated after heart transplantation and are associated with renal dysfunction. *JACC: Heart Failure*. 2016; 4: 847–856.
27. Coromilas E, Que-Xu E, Moore D et al. Dynamics and prognostic role of galectin-3 in patients with advanced heart failure, during left ventricular assist device support and following heart transplantation. *BMC Cardiovasc Disord*. 2016; 16: 138–148.
28. Шевченко ОП, Улыбышева АА, Гичкун ОЕ и др. Галектин-3 при отторжении и фиброзе трансплантированного сердца. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2019; 21 (3): 62–68. Shevchenko OP, Ulybysheva AA, Gichkun OE et al. Galectin-3 in rejection and fibrosis of the transplanted heart. *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs*. 2019; 21 (3): 62–68. [In Russ, English abstract]. doi: 10.15825/1995-1191-2019-3-62-68.
29. Великий ДА, Гичкун ОЕ, Шевченко АО. МикроРНК: роль в развитии сердечно-сосудистых заболеваний, перспективы клинического применения. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2018; 63 (7): 403–409. Velikij D.A., Gichkun O.E., Shevchenko A.O. MikroRNK: rol' v razvitii serdechno-sosudistykh zabolovaniy, perspektivy klinicheskogo primeneniya. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2018; 63 (7): 403–409.

Статья поступила в редакцию 30.06.2021 г.
The article was submitted to the journal on 30.06.2021