ISSN 2311-4495
ISSN 2410-5155 (Online)
УДК 577.218:616.13.002.2-004.6

РОЛЬ МАЛЫХ НЕКОДИРУЮЩИХ РНК В ПАТОГЕНЕЗЕ АТЕРОСКЛЕРОЗА КОРОНАРНЫХ АРТЕРИЙ

Полякова Е.А.[1,2], Зарайский М.И.[1], Беркович О.А.[1], Баранова Е.И[1,2]., Шляхто Е.В.[1,2]

[1] Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия
[2] Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр им. В. А. Алмазова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

Контактная информация
Полякова Екатерина Анатольевна
ФГБОУ ВО «ПСПбГМУ им. акад. И.П.Павлова» Минздрава России
ул. Льва Толстого, д. 6/8, Санкт-Петербург, Россия, 197022
E-mail: polyakova_ea@yahoo.com

Статья поступила в редакцию 23.07.2018 и принята к печати 06.08. 2018.

Резюме

Актуальность. Сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ), в том числе ишемическая болезнь сердца (ИБС), остаются ведущими причинами смертности. Результаты исследований указывают на участие микроРНК в патогенезе коронарного атеросклероза при ИБС.

Цель. Определить экспрессию микроРНК-27а, микроРНК-133а и микроРНК-203 в кардиомиоцитах и в сыворотке крови больных ишемической болезнью сердца с различной степенью поражения коронарных артерий.

Материалы и методы. В исследование было включено 100 человек, составивших 3 группы: 40 больных ИБС со стенозом 1-2^{x} коронарных артерий; 40 больных ИБС со стенозом 3^{x} и более коронарных артерий и 20 обследованных из группы сравнения без ИБС. Уровни экспрессии микроРНК-27а, микроРНК-133а и микроРНК-203 в кардиомиоцитах и в сыворотке крови оценивали с помощью полимеразной цепной реакции в реальном времени.

Результаты. Экспрессия микроРНК-27а и микроРНК-133а в кардиомиоцитах выше, чем в сыворотке крови, а экспрессия микроРНК-203 в сыворотке крови выше, чем в кардиомиоцитах. У больных ИБС экспрессия всех изучаемых микроРНК в крови и в кардиомиоцитах была значимо выше, чем у обследованных без стенозирующего атеросклероза коронарных артерий. Уровни экспрессии микроРНК-27а, -133а и -203 в сыворотке крови и в кардиомиоцитах левого предсердия больных ИБС с поражением 3^{x} и более коронарных артерий были значимо выше, чем у больных с поражением 1-2^{x} сосудов. Наиболее значимые различия между группами установлены при исследовании уровня микроРНК-203 в сыворотке крови.

Заключение. У больных ИБС экспрессия микроРНК-27а, — 133а и — 203 в кардиомиоцитах и в сыворотке крови выше, чем в группе сравнения. Кардиомиоцитами преимущественно экспрессировались микроРНК-27а и микроРНК-133а, а в сыворотке крови преобладала экспрессия микроРНК-203. При многососудистом поражении коронарных артерий экспрессия микроРНК-27а, — 133а и -203 в кардиомиоцитах и в сыворотке крови выше, чем при атеросклерозе одной и 2-х коронарных артерий. Высокий уровень экспрессии микроРНК-203 у больных ИБС может стать новым маркером прогноза степени поражения коронарных артерий.

Ключевые слова: микроРНК, кардиомиоциты, ИБС, атеросклероз, факторы риска сердечно-сосудистых заболеваний.

Для цитирования:Полякова Е.А., Зарайский М.И., Беркович О.А., Баранова Е.И., Шляхто Е.В. Роль малых некодирующих рнк в патогенезе атеросклероза коронарных артерий. Трансляционная медицина. 2018; 5 (3): 5–14.

THE ROLE OF SMALL NONCODING RNAS IN THE PATHOGENESIS OF CORONARY ARTERIES ATHEROSCLEROSIS

Polyakova E.A.[1,2], Zaraiskii M.I.[1], Berkovich O.A.[1], Baranova E.I.[1,2], Shlyakhto E.V.[1,2]

[1] Academician I. P. Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, Saint Petersburg, Russia
[2] Almazov National Medical Research Centre, Saint Petersburg, Russia

Corresponding author:
Ekaterina A. Polyakova
Pavlov First Saint Petersburg State Medical University
L'va Tolstogo str. 6/8 Saint Petersburg, Russia, 197022
E-mail: polyakova_ea@yahoo.com

Received 23 July 2018; accepted 06 August 2018.

Abstract

Background. Cardiovascular disease, including coronary artery disease (CAD), remains a leading cause of mortality. The results of recent studies demonstrate that microRNA engages in pathogenesis of different pathological states, including coronary atherosclerosis and its clinical manifestation — CAD.

Objective. To evaluate microRNA-27a, microRNA-133a and microRNA-203 expression in cardiomyocytes and blood serum of CAD patients with different degrees of coronary artery lesion.

Design and methods. 100 patients were included in the study, they formed 3 groups: 40 patients with CAD and significant atherosclerosis of 1-2 coronary arteries; 40 patients with multi arterial coronary disease and 20 persons without CAD and significant comorbidity. The microRNA-27a, microRNA-133a and microRNA-203 expression was determined in cardiomyocytes and blood serum of these patients by real-time polymerase chain reaction.

Results. Level of microRNA-27a, microRNA-133a and microRNA-203 expression in left atrium cardiomyocytes of CAD patients with significant stenosis of 3 or more coronary arteries was higher, then their expression in the patients with 1-2-vessel and in group without coronary atherosclerosis. Examination of the microRNA expression level in blood serum and in left atrium cardiomyocytes revealed a significant difference. The expression of microRNA-27a and microRNA-133a in cardiomyocytes is above than in blood serum, while the expression of microRNA-203 in the myocardium is lower, than in the blood serum. Level of microRNA-27a, microRNA-133a and microRNA-203 expression in blood serum in CAD patients with significant stenosis of 3 or more coronary arteries was significantly higher, than in patients with 1-2 stenosis of coronary arteries. Furthermore, classification tree method established that risk of atherosclerotic heart disease increases five-fold if microRNA-203 expression in blood serum is more than 100 REU.

Conclusion. MicroRNA-27a and microRNA-133a expression in cardiomyocytes of left atrium is higher than in blood serum in CAD patients. MicroRNA-203 expression level in blood serum may be a new predictive marker of coronary artery degree atherosclerotic stenosis in CAD patients.

Key words: microRNA, cardiomyocytes, coronary artery disease, atherosclerosis, cardiovascular risk factors.

For citation:

Polyakova E.A., Zaraiskii M.I., Berkovich O.A., Baranova E.I., Shlyakhto E.V. The role of small noncoding rnas in the pathogenesis of coronary arteries atherosclerosis. Translyatsionnaya meditsina= Translational Medicine. 2018; 5 (3): 5-14 pages. (In Russ.)

Список сокращений:
ССЗ — сердечно-сосудистые заболевания
ИБС — ишемическая болезнь сердца
ДНК — дезоксирибонуклеиновая кислота
микроРНК — микрорибонуклеиновая кислота
КШ — коронарное шунтирование
УЕЭ — условная единица экспрессии

Введение

Сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ), в том числе ишемическая болезнь сердца (ИБС), остаются ведущими причинами смертности во всем мире. Традиционные факторы риска могут объяснить лишь 70% случаев ИБС, а в 30% случаев связи заболевания с известными факторами риска ИБС — нет. Кроме того, не всегда можно объяснить, почему одни пациенты при равных условиях имеют однососудистое поражение, в то время как у других выявляются стенозы двух и более коронарных артерий [1]. Направленность на персонифицированный подход в современной медицине диктует необходимость поиска новых, высокочувствительных и специфичных факторов риска и неблагоприятного течения ИБС.

Известно, что ИБС — многофакторное заболевание, которое является следствием взаимодействия факторов среды с генетическими и эпигенетическими факторами. Изменение профиля экспрессии тканеспецифичных генов, цитокинов, факторов роста, генов, конститутивно и индуцибельно экспрессирующихся в макрофагах, эндотелиальных клетках, кардиомиоцитах, репрессия и активация транскрипционных факторов и клеточных рецепторов играют определяющую роль в атерогенезе и прогрессировании ИБС [2].

Известен ряд кандидатных генов, вовлеченных в этиопатогенез атеросклероза, но, вместе с тем, большое значение в возникновении и развитии ИБС имеет влияние эпигенетических факторов, регулирующих экспрессию генов, среди которых — метилирование ДНК, модификация гистонов и РНК-интерференция (регуляция экспрессии генов на транскрипционном или посттранскрипционном уровнях при участии малых регуляторных некодирующих молекул РНК, называемых — микрорибонуклеиновые кислоты). Микрорибонуклеиновые кислоты (микроРНК) являются внутриклеточными тканеспецифичными молекулами, которые не подвержены разрушению ферментами РНКазами [3]. Ряд молекул микроРНК был обнаружен в составе апоптозных телец, микровезкул, экзосом и липопротеинов, которые выполняют транспортную функцию, обеспечивая обмен генетической информацией между клетками [4].

Установлено, что микроРНК высвобождаются в цикруляторное русло различными путями, включая активную секрецию, апоптоз или некроз. Так как ряд нуклеотидных последовательностей поступает из клеток в жидкие среды организма, в том числе и в кровь, то уровень их экспрессии легко доступен оценке [6]. В частности, повышение уровня экспрессии микроРНК-1, микроРНК-133а и микроРНК-499 выявлено в крови больных острым коронарным синдромом. В настоящее время многие авторы рассматривают данные молекулы в качестве потенциальных чувствительных диагностических маркеров ИБС [5, 6, 14].

Установлено, что микроРНК принимают участие в патогенезе атеросклероза на всех его этапах, включая эндотелиальную дисфункцию (микроРНК-23, микроРНК-27а, микроРНК-130а, микроРНК-133а и др.), клеточную адгезию (микроРНК-27а/b, микроРНК-221 и др.), формирование и разрыв атеросклеротической бляшки (микроРНК-130а, микроРНК-221, микроРНК-144 и др.), хроническое воспаление, миграцию и активацию моноцитов в стенке сосудов (микроРНК-27а, микроРНК-203 и др.), образование липопротеинов (микроРНК-122, микроРНК-133аа/b и др.), активность тромбоцитов (микроРНК-27а, микроРНК-633 и др.), функцию гладкомышечных клеток (микроРНК-26, микроРНК-195 и др.), также принимают участие в электрическом ремоделировании миокарда (микроРНК-1, микроРНК-133а) [3, 5, 6, 7].

Тяжесть течения и неблагоприятный прогноз при ИБС в значительной степени обусловлены распространенностью поражения коронарных артерий. В последние годы появились работы, посвящённые роли микроРНК в прогрессировании коронарного атеросклероза. Сведения о значении микроРНК в патогенезе атеросклероза коронарных артерий различной тяжести и распространенности противоречивы [1, 5, 7, 13].

Исходя из этого, целью данного исследования явилось изучение экспрессии молекул микроРНК, ассоциированных с развитием ИБС, в сыворотке крови и кардиомиоцитах пациентов, перенесших коронарное шунтирование, с различной тяжестью поражения коронарных артерий и у обследованных без коронарного атеросклероза для определения эпигенетических предпосылок неблагоприятного течения ишемической болезни сердца.

Материалы и методы

Работа одобрена локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО «ПСПбГМУ им. И.П. Павлова» МЗ РФ, все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании. Обсле-

довано 100 человек, которые составили 3 группы: 40 пациентов с ИБС и гемодинамически значимым атеросклерозом 1-2-х коронарных артерий; 40 пациентов с многососудистым поражением коронарных артерий (3 и более сосудов) и 20 обследованных без ИБС. Средний возраст мужчин и женщин с ИБС не различался (61,3±1,1 года и 62,2±2,3 года, соответственно; p>0,05), соотношение больных по полу составило 2,5:1 (57 мужчин и 23 женщины). В группе сравнения соотношение мужчин и женщин было 1:1, а средний возраст составил 53,3±1,3 и 50,2±1,3 года, соответственно (p>0,05).

Критерии не включения: вторичный характер ожирения и артериальной гипертензии; инсульт в анамнезе, сахарный диабет, хроническая обструктивная болезнь легких, злокачественное новообразование в анамнезе, почечная недостаточность, тяжелая патология печени, системное заболевание соединительной ткани, острая ревматическая лихорадка, инфекционный эндокардит, гипо/гипертиреоз, органические заболевания головного мозга, алкоголизм, наркомания.

Все пациенты с ИБС регулярно получали терапию антиагрегантами, бета-адреноблокаторами, ингибиторами АПФ/сартанами и ингибиторами ГМГ-КоА-редуктазы в соответствии с отечественными и зарубежными рекомендациями [10, 11].

Кардиохирургическое лечение с возможностью выполнения биопсии миокарда левого предсердия проведено 100 пациентам: 80 пациентам с ИБС выполнялось коронарное шунтирование (КШ) и 20 пациентам, оперированным по поводу клапанных пороков сердца, без атеросклеротического поражения коронарных артерий (по данным ангиографии) и без клинических признаков ИБС.

Всем пациентам проводили стандартное биохимическое исследование сыворотки крови с определением показателей липидного спектра. Уровень лептина сыворотки крови исследовали иммуноферментным методом. Всем больным выполнена коронароангиография и проанализированы ее результаты.

Анализ литературных данных позволил сделать выбор в пользу ряда микроРНК, ассоциированных с патогенезом ИБС, поэтому нами были изучены молекулы микроРНК-27а, микроРНК-133а, микроРНК-203, уровень экспрессии которых оценивали в кардиомиоцитах левого предсердия и в сыворотке крови.

Для выделения микроРНК использовали гомогенат миокарда левого предсердия и сыворотку крови. МикроРНК выделяли с использованием набора miRNeasy Mini Kit (QIAGEN, США), согласно предложенной производителем инструкции. Концентрацию водного раствора микроРНК определяли на спектрофотометре Nanodrop 1000 (Thermo Scientific, США). Обратная транскрипция проводилась с использованием набора реагентов для обратной транскрипции микроРНК TaqMan. Полимеразную цепную реакцию в реальном времени проводили с использованием наборов Applied Biosystems (США) TaqMan® Gene Expression Assays для определения экспрессии всех исследуемых микроРНК в соответствии с инструкцией изготовителя.

Статистическую обработку данных проводили с использованием методов параметрической и непараметрической статистики. Методы дескриптивной статистики включали в себя оценку среднего арифметического (M) и среднеквадратического отклонения (σ), частот встречаемости признаков. Сравнение количественных параметров в исследуемых группах осуществляли с использованием критерия Манна–Уитни, модуля ANOVA. При сравнении частотных величин пользовались c2–критерием Пирсона, а также точным методом Фишера. Также использовали метод построения классификационных деревьев, методы однофакторного дисперсионного анализа и линейного корреляционного анализа — критерии Пирсона и Спирмена. Проводили логистический регрессионный анализ. Статистическая обработка материала выполнена с использованием программы SPSS 17.0 для Windows. Различия результатов принимали за статистически значимые при p<0,05.

Результаты

При изучении уровней экспрессии микроРНК были выявлены общие закономерности. Экспрессия микроРНК-27а и микроРНК-133а в кардиомиоцитах была значимо выше, чем в сыворотке крови. Экспрессия микроРНК-203 в кардиомиоцитах выражена слабо и преимущественно представлена в сыворотке крови (таблица 1).

У больных ИБС экспрессия всех изучаемых микроРНК в кардиомиоцитах и в сыворотке крови была значительно выше, чем значения соответствующих показателей у обследованных без коронарного атеросклероза (таблица 1).

Уровни экспрессии микроРНК-27а, -133а и -203 в кардиомиоцитах левого предсердия и в сыворотке крови у больных ИБС с поражением 3^x и более коронарных артерий были значимо выше, чем у больных с поражением $1\text{-}2^x$ сосудов (таблицы 2 и 3).

В сыворотке крови экспрессия всех исследуемых микроРНК при 3-х сосудистом поражении выше, чем у пациентов с атеросклерозом 1-2-х артерий и значительно выше, чем в группе контроля (таблица 3). Следует отметить, что уровень микроРНК-203 у больных с многососудистым поражением коронарного русла в десятки раз выше,

Таблица 1. Экспрессия микроРНК в миокарде предсердий и в сыворотке крови у больных ИБС и в группе сравнения

микроРНК, УЕЭ	Исследуемый материал	1	2	p_{1-2}
		Группа сравнения	Больные ИБС	
27a	Кардиомиоциты	152,16±16,41	234,62±21,29	<0,0001
	Кровь	3,05±0,89	4,98±0,73	<0,05
	p, (кардиомиоциты, кровь)	<0,001	<0,001	
133a	Кардиомиоциты	98,28±9,53	119,54±12,72	<0,05
	Кровь	1,66±0,57	6,49±2,53	<0,05
	p, (кардиомиоциты, кровь)	<0,0001	<0,0001	
203	Кардиомиоциты	1,91±0,15	4,98±0,75	<0,05
	Кровь	4,11±0,85	94,71±14,17	<0,0001
	p, (кардиомиоциты, кровь)	<0,05	<0,0001	

Примечание: УЕЭ — условные единицы экспрессии

Таблица 2. Экспрессия микроРНК в кардиомиоцитах левого предсердия у больных ИБС с различным числом коронарных артерий, пораженных атеросклерозом, и в группе сравнения

микроРНК, УЕЭ	1	2	3	P
	Без поражения коронарных артерий	Поражение 1-2^{х} коронарных артерии	Поражение 3^{х} и более коронарных артерии	
27a	152,16±16,41	182,39±19,62	234,62±29,51	1-2<0,05 1-3<0,01 2-3<0,01
133a	98,28±9,53	111,35±12,31	127,53±13,41	1-2<0,05 1-3<0,01 2-3<0,01
203	1,91±0,15	4,71±0,67	5,25±0,96	1-2<0,01 1-3<0,01 2-3<0,05

Таблица 3. Экспрессия микроРНК в сыворотке крови у больных ИБС с различным числом коронарных артерий, пораженных атеросклерозом, и в группе сравнения

микроРНК, УЕЭ	1	2	3	p
	Без поражения коронарных артерий	Поражение 1-2^{х} коронарных артерии	Поражение 3^{х} и более коронарных артерии	
27a	3,05±0,89	4,82±1,82	11,41±3,85	1-2<0,05 1-3<0,001 2-3<0,01
133a	1,66±0,57	4,35±1,23	8,42±2,43	1-2<0,05 1-3<0,01 2-3<0,01
203	4,11±0,85	43,70±9,67	145,71±15,73	1-2<0,01 1-3<0,0001 2-3<0,01

Таблица 4. Показатели липидного спектра и уровень лептина сыворотки крови у больных ИБС и в группе сравнения

		Группа сравнения	Больные ИБС	Достоверность различий в группах
ОХС, ммоль/л		5,58±1,13	4,71±1,11	p<0,05
ХС ЛПНП, ммоль/л		3,30±0,11	2,62±0,91	p<0,05
ХС ЛПОНП, ммоль/л		0,60±0,10	0,79±0,04	p<0,05
ХС ЛПВП, ммоль/л		1,25±0,05	1,30±0,02	НД
Триглицериды, ммоль/л		1,93±0,13	1,68±0,08	НД
Лептин, нг/мл	Мужчины	14,1±2,8	22,8±3,2	p<0,01
	Женщины	26,5±3,6	41,1±4,2	p< 0,001
	p (мужчины, женщины)	p< 0,001	p< 0,001	

Примечание: ОХС — общий холестерин, ЛПНП — липопротеины низкой плотности, ЛПОНП — липопротеины очень низкой плотности, ЛПВП– липопротеины высокой плотности, НД — недостоверно.

чем у обследованных без атеросклероза коронарных артерий.

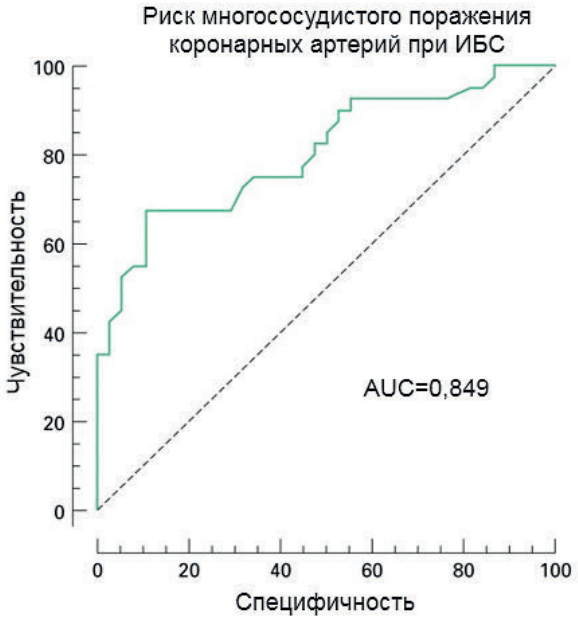
Методом построения классификационных деревьев установлено, что при уровне экспрессии микроРНК-203 в сыворотке крови более 100 УЕЭ риск атеросклеротического поражения коронарных артерий возрастал в 5 раз. Для других изучаемых микроРНК подобных закономерностей выявлено не было.

При анализе показателей липидного спектра установлено, что у больных ИБС, которые получали лечение статинами, концентрация в крови общего холестерина (ОХС), холестерина липопротеинов низкой (ХС ЛПНП) и очень низкой плотности (ХС ЛПОНП) ниже, чем у обследованных из группы сравнения. Концентрация холестерина липопротеинов высокой плотности (ХС ЛПВП) и триглицеридов в крови больных ИБС и в группе сравнения не различались (таблица 4). Концентрация лептина в сыворотке крови у больных ИБС выше, чем у обследованных из группы сравнения (таблица 4).

При проведении корреляционного анализа у больных ИБС выявлен ряд взаимосвязей между уровнями экспрессии изучаемых микроРНК в сыворотке крови и различными показателями, определяющими сердечно-сосудистый риск. В частности, была выявлена положительная корреляция между уровнем экспрессии микроРНК-27а в крови и показателями липидного спектра крови — концентрацией холестерина ЛПОНП, триглицеридов (r=0,405; p=0,012 и r=0,347; p=0,017). У обследованных без ИБС экспрессия микроРНК-27а ассоциировалась с более высоким уровнем ХС ЛПНП в сыворотке крови.

По данным логистического регрессионного анализа у больных ИБС с атеросклеротическим поражением 3^{х} и более коронарных артерий факторами, в наибольшей степени определяющими риск многососудистого поражения, были повышенный уровень экспрессии микроРНК-203 в сыворотке крови, высокий уровень лептина сыворотки крови и низкий уровень холестерина ЛПВП, чувствительность и специфичность указанной модели составили 80% и 96%, соответственно, при пороге классификации 0,53 в соответствии с данными ROC-анализа (AUC=0,849 при 95% доверительном интервале от 0,741 до 0,957; p<0,001, рисунок № 1).

Рисунок 1. Результаты ROC-анализа чувствительности и специфичности модели, определяющей риск многососудистого атеросклеротического поражения коронарных артерий у больных ИБС



Обсуждение

Патологические процессы, происходящие в кардиомиоцитах при ИБС характеризуются апоптозом, интерстициальным фиброзом и ангиогенезом, которые на посттранскрипционном уровне регулируются путем изменения экспрессии и функций генов, каждый из которых служит мишенью для специфических микроРНК [8, 21].

Два подтипа микроРНК-133 широко представлены в скелетной мускулатуре (микроРНК-133b) и в сердечной мышечной ткани (микроРНК-133a). A. Zampetaki с соавторами (2013), при изучении функций микроРНК-133a, установили, что эта молекула непосредственно подавляет уровень фактора транскрипции человека, кодируемого геном Sp1 (specificity protein 1) на 12-й хромосоме. Поскольку повышение экспрессии Sp1 ассоциируется с прогрессированием апоптоза миоцитов, полагают, что подавление экспрессии Sp1 микроРНК-133a сопровождается снижением апоптоза кардиомиоцитов [12]. Более того, было доказано, что у больных ИБС микроРНК-133a оказывает антиапоптотическое действие, специфично связываясь с 3'-нетранслируемой областью гена каспазы-9, подавляя его экспрессию на уровне матричной РНК. Снижение каспазы-9 влечет за собой подавление апоптоза кардиомиоцитов в тех зонах миокарда, которые подвержены ишемии [23]. Исходя из этого, эффекты микроРНК-133a можно считать адаптивными в условиях ишемического повреждения.

F. Cipollone с соавторами (2011) сопоставили уровень микроРНК-133a у пациентов с разной степенью стабильности атеросклеротических бляшек у больных с дислипидемией и выявили значительно более высокую экспрессию этой молекулы в бляшках с признаками нестабильности [13].

В нашем исследовании экспрессия тканеспецифичной микроРНК-133a у больных с многососудистым атеросклеротическим поражением коронарных артерий была существенно выше, чем при поражении 1-2 коронарных артерий и у обследованных без коронарного атеросклероза.

Нами также получены данные о преобладании экспрессии микроРНК-133a в кардиомиоцитах, по сравнению с экспрессией этого показателя в сыворотке крови, которые согласуются с данными литературы [23].

Следует отметить, что в последние годы обсуждается возможность использования циркулирующих микроРНК в качестве чувствительных биомаркеров ИБС. Находящиеся в крови микроРНК высоко стабильны при кипячении и устойчивы к высоким и низким значениям pH среды, к длительной инкубации при комнатной температуре и к повторному замораживанию [5].

Описаны молекулы, в частности, микроРНК 1, 133a, 134, 208a, 451, 499, которые, являясь кардиоспецифичными, рассматриваются в качестве маркеров повреждения при таком жизнеугрожающем проявлении ИБС, как инфаркт миокарда [14]. Вместе с тем, молекулы микроРНК-1, 133a и 499 в небольшом количестве экспрессируются и миоцитами скелетной мускулатуры, а микроРНК-133a также и эндотелиальными клетками [14]. Известно, что уровень экспрессируемых эндотелиоцитами молекул микроРНК-126, микроРНК-92a, микроРНК-17, микроРНК-145, микроРНК-155, микроРНК-208 и микроРНК-133a в крови у больных ИБС ниже, чем у обследованных без ИБС. Авторы объясняют эту особенность процессом обратного захвата микроРНК из кровотока клетками, образующими поверхность атеросклеротической бляшки [15]. В какой-то степени низкие значения экспрессии ряда циркулирующих в крови молекул микроРНК, в том числе — микроРНК-133a, можно объяснить обратным захватом этих молекул эндотелиоцитами артерий, пораженных атеросклерозом [16]. По данным нашего исследования экспрессия микроРНК-27a и -133a в кардиомиоцитах выше, чем в сыворотке крови.

МикроРНК могут оказывать как протективное, так и повреждающее действие [7, 8]. Исследования функции микроРНК-27a in vivo и in vitro выявили ее ключевую роль в ангиогенезе, адипогенезе, воспалении, липидном метаболизме, окислительном стрессе, инсулинорезистентности, т.е. практически во всех процессах, способствующих развитию и прогрессированию атеросклероза [9].

В литературе появляется все больше данных, свидетельствующих о том, что микроРНК участвуют в регуляции процессов фиброза. Фиброз при ИБС характеризуется нарушением соотношения компонентов межклеточного матрикса, причиной которого является дисбаланс работы многокомпонентного метаболического каскада, вовлеченного в регенерацию тканей и процесс воспаления [21]. Среди молекул, участвующих в процессе формирования фиброза — микроРНК-27a. Одним из многочисленных эффектов микроРНК-27a является включение поляризации макрофагов M1 путем блокирования PPARγ. Также микроРНК-27a участвует в активации апоптоза кардиомиоцитов через сигнальные пути GATA-4, Smad7 и интерлейкин 10 (IL-10). Доказано, что ремоделирование сердца в значительной степени связано с повышенным уровнем экспрессии микроРНК-27a в сыворотке крови и эта молекула может выступать в качестве

потенциального маркера фиброза миокарда [3, 20]. В нашем исследовании была выявлена положительная взаимосвязь между ХС ЛПОНП, триглицеридами и уровнем экспрессии микроРНК-27а в сыворотке крови.

По данным литературы микроРНК-27а участвует в регуляции синтеза рецептора липопротеинов низкой плотности. Повышение экспрессии этой молекулы ассоциировалось с высоким уровнем ХС ЛПНП в крови, а блокада экспрессии микроРНК-27а в эксперименте приводила к снижению циркулирующих ХС ЛПНП более чем на 70% [17]. Исходя из этого, можно предположить, что микроРНК-27а может быть кандидатом для разработок таргетной терапии атеросклероза. В нашей работе у обследованных без ИБС выявлена корреляционная связь между экспрессией микроРНК-27а и концентрацией ХС ЛПНП в сыворотке крови. Вместе с тем, у больных ИБС ассоциации между экспрессией микроРНК-27а и концентрацией ХС ЛПНП в крови получено не было, что, возможно, связано с терапией статинами.

По нашим данным у больных ИБС уровень экспрессии микроРНК-27а как в крови, так и в кардиомиоцитах был выше у пациентов с множественным поражением коронарных артерий, и уровень экспрессии микроРНК-27а преобладал в кардиомиоцитах, по сравнению с этим показателем в сыворотке крови.

В то время как роль микроРНК-27а в развитии атеросклероза достаточно исследована, существуют малоизученные молекулы, к которым, в частности, относится микроРНК-203. Опубликована единственная работа Q. He с соавторами (2017), в которой на культуре кардиомиоцитов мыши (in vitro) было показано, что избыточная экспрессия микроРНК-203 приводила к уменьшению уровней экспрессии трансформирующего фактора роста-β1 (TGF-β1), фактора роста соединительной ткани (CTGF) и фибронектина, принимающих участие в регуляции активности фибробластов миокарда в условиях хронической ишемии. Напротив, ингибирование экспрессии микроРНК-203 сопровождалось повышением уровней TGF-β1, CTGF и фибронектина, потенцируя развитие фиброза [18]. Также, опубликованы данные исследования по изучению роли микроРНК-203 в развитии фиброза печени: избыточная экспрессия микроРНК-203 подавляет фиброз в печеночных дольках [19].

По нашим данным экспрессия микроРНК-203 была значимо выше у пациентов с многососудистым поражением коронарных артерий, при этом, уровень ее экспрессии в сыворотке крови значимо преобладал по сравнению с показателем в кардиомиоцитах.

Заключение

Таким образом, по данным проведенного исследования экспрессия всех изучаемых микроРНК у больных ишемической болезнью сердца была значимо выше, чем у обследованных без коронарного атеросклероза как в крови, так и в кардиомиоцитах.

Экспрессия микроРНК-27а, микроРНК-133а и микроРНК-203 в сыворотке крови и кардиомиоцитах левого предсердия больных ишемической болезнью сердца с поражением 3^x и более коронарных артерий была значимо выше, чем у больных с поражением $1\text{-}2^x$ артерий.

В сыворотке крови у больных ишемической болезнью сердца выявлен высокий уровень экспрессии микроРНК-203, что может стать новым маркером прогноза степени поражения коронарных артерий.

По результатам работы экспрессия микроРНК-27а в сыворотке крови у больных ишемической болезнью сердца коррелировала с атерогенной дислипидемией.

Выявленный в нашей работе высокий уровень экспрессии микроРНК-203 в сыворотке крови оказывал влияние на риск многососудистого коронарного атеросклероза у больных ишемической болезнью сердца. На основании данных логистического регрессионного анализа, установлено, что в этот процесс также вовлечены высокий уровень лептина сыворотки крови и низкие показатели холестерина ЛПВП.

Данное исследование расширяет представления о молекулярных основах патогенеза ишемической болезни сердца путем количественной оценки экспрессии микроРНК-27а, микроРНК-133а и микроРНК-203 как в кардиомиоцитах левого предсердия, так и в доступном для исследования материале — сыворотке крови.

Конфликт интересов / Conflict of interest

Авторы заявили об отсутствии потенциального конфликта интересов. / The authors declare no conflict of interest.

Благодарности / Acknowledgments

Авторы выражают признательность за оказанную помощь в осуществлении работы сотрудникам ФГБОУ ВО «ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова», в числе которых Алексеева Галина Васильевна (к.м.н., научный сотрудник лаборатории ИБС НИИ Сердечно-сосудистых заболеваний Научно-клинического исследовательского центра), Немков Александр Сергеевич, (д.м.н., профессор кафедры факультетской хирургии), Маслевцов Дмитрий Вадимович (к.м.н., заведующий кардиохирургиче-

ским отделением №1 клиники госпитальной хирургии №2), Гавриленков Владимир Иванович (д.м.н., профессор кафедры госпитальной хирургии №2), Галкина Ольга Владимировна (к.м.н., доцент кафедры клинической лабораторной диагностики).

Список литературы / References

1. Ding X-Q, Ge P-C, Liu Z, et al. Interaction between microRNA expression and classical risk factors in the risk of coronary heart disease. Scientific Reports. 2015; 5:14925.
2. McPherson R, Tybjaerg-Hansen A. Genetics of Coronary Artery Disease. Circ Res. 2016; 118(4):564-578.
3. Chao C, Murugavel P, Cuiyun L, et al. MicroRNA as a Therapeutic Target in Cardiac Remodeling. BioMed Research International. 2017; 2017:1278436.
4. Kim YS, Ahn JS, Kim S, et al. The potential theragnostic (diagnostic+therapeutic) application of exosomes in diverse biomedical fields. Korean J Physiol Pharmacol. 2018; 22(2):113-125.
5. Sayed AS, Xia K, Yang TL, et al. Circulating microRNAs: a potential role in diagnosis and prognosis of acute myocardial infarction. Dis Markers. 2013; 35:561-566.
6. Nishiguchi T, Imanishi T, Akasaka T. MicroRNAs and Cardiovascular Diseases. BioMed Research International. 2015; 2015:1-14.
7. Papageorgiou N, Tousoulis D, Charakida M, et al., Prognostic role of miRNAs in coronary artery disease. Curr. Top. Med. Chem. 2013; 13:1540-1547.
8. Hamed M, Gordon AF, Amir A, et al. Cytokines and MicroRNA in Coronary Artery Disease. Advances in Clinical Chemistry. 2017; 82:47-70.
9. Tian C, Gao L, Zimmerman MC, et al. Myocardial infarction-induced microRNA-enriched exosomes contribute to cardiac Nrf2 dysregulation in chronic heart failure. Am J Physiol Heart Circ Physiol. 2018; May 1; 314(5):H928-H939.
10. Bokeriya LA, Aronov DM. Russian clinical guidelines. Coronary artery bypass grafting in patients with ischemic heart disease: rehabilitation and secondary prevention. CardioSomatika. 2016; 7(3-4) :5-71. In Russian. [Бокерия Л.А., Аронов Д.М. Российские клинические рекомендации. Коронарное шунтирование больных ишемической болезнью сердца: реабилитация и вторичная профилактика. Кардио Соматика. 2016; 7(3-4):5-71].
11. 2013 ESC Guidelines on the management of stable coronary artery disease. European Heart Journal. 2013; 34:2949-3003.
12. Zampetaki A, Katarzyna D, Mayr M. Oxidative stress in atherosclerosis: The role of microRNAs in arterial remodeling. Free Radical Biology and Medicine. 2013; 64:69–77.
13. Cipollone F, Felicioni L, Sarzani R, et al. A unique microRNA signature associated with plaque instability in humans. Stroke. 2011; 42:2556–2563.
14. Fedorov AV, Kostareva AA, Galagudza MM, et al. MicroRNA as biomarkers of myocardial ischemic injury: a perspective. Microcirculation. 2012; 11(3) :69-75. In Russian. [Федоров А.В., Костарева А.А., Галагудза М.М. и др. Перспективы использования микроРНК в качестве биомаркера ишемического повреждения миокарда. Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2012; 11(3):69-75].
15. Syed SA, Chandra K, Mohd A, et al. Pathological microRNAs in acute cardiovascular diseases and microRNA therapeutics. Journal of Acute Disease. 2016; 5(1):9-15.
16. Jamaluddin MS, Weakley SM, Zhang L, et al. MiRNAs: roles and clinical applications in vascular disease. Expert Rev Mol Diagn. 2011; 11(1):79-89.
17. Alvarez ML, Khosroheidari M, Eddy E, et al. MicroRNA-27a decreases the level and efficiency of the LDL receptor and contributes to the dysregulation of cholesterol homeostasis. Atherosclerosis. 2015; 242(2):595-604.
18. He Q, Wang C, Qin J, et al. Effect of miR-203 expression on myocardial fibrosis. European Review for Medical and Pharmacological Sciences. 2017; 21:837-842.
19. Zheng I, Jian X, Guo F, et al. miR-203 inhibits arecoline-induced epithelial-mesenchymal transition by regulating secreted frizzled-related protein 4 and transmembrane-4 L six family member 1 in oral submucous fibrosis. Oncol Rep. 2015; 33:2753-2760.
20. Wu-Jun C, Kai Y, Guo-Jun Z, et al. The magic and mystery of MicroRNA-27 in atherosclerosis. Atherosclerosis. 2012; 222:314– 323.
21. Navickas R, Gal D Laucevicˇius A, Taparauskaitė A, et al. Identifying circulating microRNAs as biomarkers of cardiovascular disease: a systematic review. Cardiovascular Research. 2016; 111:322–337.
22. Sattar N, Wannamethee G, Sarwar N, et al. Leptin and coronary heart disease: prospective study and systematic review. J Am Coll Cardiol. 2009; Jan 13; 53(2):167-175.
23. Abdellatif M. Differential Expression of MicroRNAs in Different Disease States. Circ Res. 2012; 110:638-650.

Информация об авторах:

Полякова Екатерина Анатольевна, к.м.н., ассистент кафедры факультетской терапии с курсом эндокринологии, кардиологии и функциональной диагностики, научный сотрудник лаборатории артериальной гипертензии НИИ сердечно-сосудистых заболеваний Научно-клинического исследовательского центра ФГБОУ ВО «ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова» МЗ РФ, старший научный сотрудник НИЛ метаболического синдрома ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» МЗ РФ;

Зарайский Михаил Игоревич, д.м.н., профессор кафедры клинической лабораторной диагностики с курсом молекулярной медицины ФГБОУ ВО «ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова» МЗ РФ;

Беркович Ольга Александровна, д.м.н., профессор кафедры терапии факультетской с курсом эндокринологии, кардиологии и функциональной диагностики, заведующая лабораторией ИБС НИИ сердечно-сосудистых заболеваний Научно-клинического исследовательского центра ФГБОУ ВО «ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова» МЗ РФ;

Баранова Елена Ивановна, д.м.н., профессор кафедры терапии факультетской с курсом эндокринологии, кардиологии и функциональной диагностики, директор Научно-исследовательского института сердечно-сосудистых заболеваний ФГБОУ ВО «ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова» МЗ РФ; заведующая НИЛ метаболического синдрома ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» МЗ РФ;

Шляхто Евгений Владимирович, академик РАН, заведующий кафедрой терапии факультетской с курсом эндокринологии, кардиологии и функциональной диагностики ФГБОУ ВО «ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова» МЗ РФ; генеральный директор ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» МЗ РФ;

Author information:

Ekaterina A. Polyakova, PhD, MD, researcher, department of arterial hypertension, academician I. P. Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, researcher, laboratory of metabolic syndrome, Almazov National Medical Research Centre;

Mikhail I. Zaraiskii, Dr. Sci., prof., Department of Clinical Laboratory Diagnostics, Academician I. P. Pavlov First Saint Petersburg State Medical University;

Olga A. Berkovich, MD, prof., head of the laboratory of Cardiac ischemia, Academician I. P. Pavlov First Saint Petersburg State Medical University;

Elena I. Baranova, MD, Dr. Sci., the head of the laboratory of metabolic syndrome, Academician I. P. Pavlov First Saint Petersburg State Medical University;

Evgeniy V. Shlyakhto, acad., the head of Almazov National Medical Research Centre.