

# ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

## Сравнительное исследование экспрессии циркулирующих микроРНК в крови у пациентов с атеросклерозом коронарных артерий и аневризмой грудной аорты

Нго Билонг Э. АВ.<sup>1</sup>, Васильев С. В.<sup>1,2</sup>, Рожков А. Н.<sup>1</sup>, Стоногина Д. А.<sup>1,3</sup>,  
Щекокихин Д. Ю.<sup>1,2\*</sup>, Филиппова Ю. И.<sup>1</sup>, Джаффарова Ч. В.<sup>1</sup>, Нурутдинов Н. П.<sup>1</sup>,  
Желанкин А. В.<sup>4</sup>, Генерозов Э. В.<sup>4</sup>, Аксельрод А. С.<sup>1</sup>, Копылов Ф. Ю.<sup>1</sup>, Сыркин А. Л.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Первый МГМУ им. И. М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва, Россия

<sup>2</sup>Городская клиническая больница № 1 им. Н. И. Пирогова Департамента здравоохранения города Москвы, Москва, Россия

<sup>3</sup>Городская клиническая больница им. С. С. Юдина Департамента здравоохранения города Москвы, Москва, Россия

<sup>4</sup>Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины им. акад. Ю. М. Лопухина, Москва, Россия

**Цель.** Сравнение относительных уровней экспрессии циркулирующих микроРНК, ассоциированных с сердечно-сосудистыми заболеваниями и отобранных по данным литературы, в плазме крови пациентов с двумя вариантами хронического поражения сосудистой стенки: атеросклерозом коронарных артерий (КА) и аневризмой грудной аорты (АГА).

**Материал и методы.** Включались пациенты, госпитализированные в Клинический центр Первого МГМУ им. И. М. Сеченова (Университетская клиническая больница №1) с КА (n=45), АГА (n=38), а также контрольная группа (n=17). Собирались стандартные клинико-демографические, лабораторные и инструментальные данные в соответствии с российскими клиническими рекомендациями. Дополнительно проводились взятие и подготовка образцов плазмы крови пациентов с дальнейшим количественным определением уровней циркулирующих микроРНК методом полимеразной цепной реакции в реальном времени с обратной транскрипцией. Проведён комплексный сравнительный анализ профилей циркулирующих микроРНК в плазме крови пациентов с КА и АГА, а также с группой контроля. Определялись уровни 12 циркулирующих микроРНК: miR-21-5p, -23a-3p, -29b-3p, -92a-3p, -126-3p, -126-5p, -143-3p, -145-5p, -146a-5p, -150-5p, -181b-5p, и -451a.

**Результаты.** Наибольшая разница с контролем у пациентов с КА и АГА отмечалась для miR-21-5p, -29b-3p и -126-3p. Большая часть исследуемых циркулирующих микроРНК была выше в группе с АГА по сравнению с КА и контролем, к ним относятся miR-21-5p, -23a-3p, -29b-3p, -92a-3p, -126-3p, -126-5p, -146a-5p, -150-5p, -181b-5p. Значимые различия между группами патологии отмечались для miR-126-3p и miR-205-5p. Часть микроРНК (miR-143-3p, -92a-3p, -195-5p) может использоваться для диагностики КА, другие микроРНК (miR-21-5p, -23a-3p, -126-3p, -126-5p, -451a) являются АГА-специфическими.

**Заключение.** Исследование продемонстрировало значительные различия уровней циркулирующих микроРНК у пациентов с атеросклеротическим и аневризматическим поражениями артерий в сравнении с группой контроля. Наиболее выраженная разница между нормой и патологией выявлена для miR-21-5p, -29b-5p и -126-3p. Уровни miR-126-3p и -205-5p могут использоваться для дифференцировки КА и АГА.

**Ключевые слова:** ишемическая болезнь сердца, аневризма грудного отдела аорты, микроРНК, miR-21-5p, miR-29b-5p, miR-126-3p, miR-205-5p.



**Для цитирования:** Нго Билонг Э. АВ., Васильев С. В., Рожков А. Н., Стоногина Д. А., Щекокихин Д. Ю., Филиппова Ю. И., Джаффарова Ч. В., Нурутдинов Н. П., Желанкин А. В., Генерозов Э. В., Аксельрод А. С., Копылов Ф. Ю., Сыркин А. Л. Сравнительное исследование экспрессии циркулирующих микроРНК в крови у пациентов с атеросклерозом коронарных артерий и аневризмой грудной аорты. *Рациональная Фармакотерапия в Кардиологии*. 2024;20(3):294-301. DOI: 10.20996/1819-6446-2024-3055. EDN MECTWH

### A comparative study of circulating microRNA expression in blood in patients with coronary artery atherosclerosis and thoracic aortic aneurysm

Ngo Bilong E. AV.<sup>1</sup>, Vasiliev S. V.<sup>1,2</sup>, Rozhkov A. N.<sup>1</sup>, Stonogina D. A.<sup>1,3</sup>, Shchekochikhin D. Yu.<sup>1,2\*</sup>, Filippova Y. I.<sup>1</sup>, Dzhafarova Ch. V.K.<sup>1</sup>, Nurutdinov N. P.<sup>1</sup>, Zhelankin A. V.<sup>4</sup>, Generozov E. V.<sup>4</sup>, Akselrod A. S.<sup>1</sup>, Kopylov Ph. Yu.<sup>1</sup>, Syrkin A. L.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>I. M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health of Russia (Sechenov University), Moscow, Russia

<sup>2</sup>N. I. Pirogov Clinical Hospital No. 1, Moscow, Russia

<sup>3</sup>S. S. Yudin City Clinical Hospital of the Moscow City Health Department, Moscow, Russia.

<sup>4</sup>Y. M. Lopukhin Federal Research and Clinical Center of Physical-Chemical Medicine, Moscow, Russia

**Aim.** To compare the relative expression levels of circulating microRNAs associated with cardiovascular diseases, selected according to the literature review, in the blood plasma samples of patients with two variants of chronic vascular wall injury: coronary artery atherosclerosis (CAA) and thoracic aortic aneurysm (TAA).

**Material and methods.** Patients admitted to the Clinical Center of the I. M. Sechenov First Moscow State Medical University (University Clinical Hospital No. 1) with CAA (n=45), TAA (n=38), as well as a control group (n=17) were included. Standard clinical and demographic, laboratory and instrumental data were collected in accordance with Russian clinical guidelines, and additional sampling and preparation of blood plasma of patients was carried out with further quantitative determination

of the circulating microRNAs level via real-time polymerase chain reaction with reverse transcription. A comprehensive comparative analysis of the profiles of circulating microRNAs in the blood plasma of patients with two different variants of arterial pathology: atherosclerosis and aneurysmal changes, as well as with the control group was carried out. The levels of 12 circulating microRNAs were studied: miR-21-5p, -23a-3p, -29b-3p, -92a-3p, -126-5p, -143-3p, -145-5p, -146a-5p, -150-5p, -181b-5p, 2-23-3p and -451a.

**Results.** The strongest difference with the control group in patients with CAA and TAA was observed for miR-21-5p, -29b-3p and -126-3p. Most of the circulating microRNAs studied were higher in the TAA group compared with CAA and controls these include miR-21-5p, -23a-3p, -29b-3p, -92a-3p, -126-3p, -126-5p, -146a-5p, -150-5p, -181b-5p. Significant differences between the pathology groups were noted for miR-126-3p and miR-205-5p. Some microRNAs (miR-143-3p, -92a-3p, -195-5p) can be used to diagnose coronary artery atherosclerosis, other microRNAs (miR-21-5p, -23a-3p, -126-3p, -126-5p, -451a) are TAA-specific.

**Conclusion.** The present study showed significant differences in the circulating microRNAs in patients with atherosclerotic and aneurysmal lesions of the arteries in comparison with the control group. The most significant difference between norm and pathology was found for miR-21-5p, -29b-5p and -126-3p. The levels of miR-126-3p and -205-5p can be used to differentiate CAA and TAA.

**Keywords:** coronary artery disease, thoracic aortic aneurysm, microRNA, miR-21-5p, miR-29b-5p, miR-126-3p, miR-205-5p.

**For citation:** Ngo Bilong E. AV., Vasiliev S. V., Rozhkov A. N., Stonogina D. A., Shchekochikhin D. Yu., Filippova Y. I., Dzhafarova Ch. V. K., Nurutdinov N. P., Zhelankin A. V., Generozov E. V., Akselrod A. S., Kopylov Ph. Yu., Syrkin A. L. A comparative study of circulating microRNA expression in blood in patients with coronary artery atherosclerosis and thoracic aortic aneurysm. *Rational Pharmacotherapy in Cardiology*. 2024;20(3):294-301. DOI: 10.20996/1819-6446-2024-3055. EDN MECTWH

\*Corresponding Author (Автор, ответственный за переписку): agishm@list.ru

Received/Поступила: 03.05.2024

Review received/Рецензия получена: 08.05.2024

Accepted/Принята в печать: 19.06.2024

## Введение

Регуляторные микроРНК являются универсальным эпигенетическим механизмом ген-генных взаимодействий. МикроРНК представляют собой короткие цепочки рибонуклеиновой кислоты (РНК, 12-20 нуклеотидов), синтезируемые эндогенно РНК-полимеразой 2 типа, которые влияют на трансляционную активность матричной РНК, таким образом изменяя синтез того или иного белка. В настоящий момент известно более 2300 микроРНК человека [1]. Актуально определение их экспрессии в качестве диагностических маркеров и потенциальных мишеней для терапии при многих патологиях, в том числе сердечно-сосудистых заболеваниях.

Цель исследования — сравнение относительных уровней экспрессии микроРНК, ассоциированных с сердечно-сосудистыми заболеваниями по данным литературы, в плазме крови пациентов с двумя вариантами хронического поражения сосудистой стенки: атеросклерозом коронарных артерий (КА) и аневризмой грудной аорты (АГА).

## Материал и методы

В исследование включались пациенты, госпитализированные в клинический центр Первого МГМУ им. И. М. Сеченова (Университетская клиническая больница №1). Группу пациентов с АГА составляли больные, госпитализированные в клинику аортальной и сердечно-сосудистой хирургии для хирургического лечения. Всем пациентам в данной группе проводилась коронароангиография в рамках предопера-

ционной подготовки. Диагноз АГА и показания для оперативного лечения соответствовали клиническим рекомендациям [2]. Группу КА составили амбулаторные пациенты с выявленным поражением коронарных артерий по данным мультиспиральной компьютерной томографии в рамках первичной диагностики ишемической болезни сердца. Контрольную группу составили амбулаторные пациенты с интактными коронарными артериями. Протокол обследования опубликован ранее [3].

Протокол исследования был одобрен этическим комитетом университета, протокол 119 от 14.07.2018 г.

*Критерии включения:*

1. Наличие письменного информированного согласия на участие в исследовании.

2. Возраст 18-80 лет;

*Критерии невключения:*

1. Беременность и период лактации;

2. Оперативные вмешательства в течение полугода до включения в исследование;

3. Скорость клубочковой фильтрации <45 мл/мин/1,73 м<sup>2</sup>;

4. Острый коронарный синдром, острое нарушение мозгового кровообращения в течение 6 месяцев до включения в исследование;

5. Хронические паренхиматозные заболевания печени и почек;

6. Известные аутоиммунные и аутовоспалительные заболевания, в том числе воспалительные аортиты;

7. Хроническая сердечная недостаточность II-IV функционального класса по классификации New York Heart Association;

Таблица 1. Характеристика пациентов

Показатель	Группа КА (n=45)	Группа АГА (n=60)	Группа контроля (n=17)	p
Возраст, годы	64,7±9,3	60,0±12,1	65,9±10,9	0,28
Женский пол, n (%)	32 (71,1)	19 (31,6)	13 (76,5)	0,0002
Курящие, n (%)	7 (15,6)	14 (36,8)	1 (5,9)	0,013
ИМТ, кг/м <sup>2</sup>	28,8±4,2	27,4±4,8	28,4±4,1	0,33
Креатинин, мкмоль/л	88,1±16,0	107,2±20,9	86,5±13,1	<0,0001
СКФ по СКД-EPI, мл/мин/1,73 м <sup>2</sup>	67,1±15,2	63,2±18,3	67,1±15,2	0,51
Общий холестерин, ммоль/л	5,6±1,2	4,7±1,2	5,7±1,5	0,0008
Триглицериды, ммоль/л	1,6±0,9	1,7±1,0	1,4±0,5	0,52
ХС ЛНП, ммоль/л	3,6±1,0	2,7±1,0	3,6±1,5	0,002
ХС ЛВП, ммоль/л	1,37±0,4	1,0±0,3	1,6±0,3	<0,0001
Артериальная гипертензия, n (%)	40 (88,9)	33 (86,8)	15 (88,2)	0,96
Прём статинов, n (%)	25 (55,6)	16 (42,1)	1 (5,9)	0,0015

АГА – аневризма грудного отдела аорты, КА – ишемическая болезнь сердца, ИМТ – индекс массы тела, СКФ – скорость клубочковой фильтрации, СКД-EPI – формула Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration, ХС ЛНП – холестерин липопротеинов низкой плотности, ХС ЛВП – холестерин липопротеинов высокой плотности

8. Острые и хронические инфекционные заболевания;

9. Злокачественные новообразования;

10. Неврологические заболевания и психические расстройства.

У всех участников исследования фиксировали антропометрические и клинические данные, данные стандартной электрокардиографии покоя и трансторакальной эхокардиографии.

Проводили сбор анамнеза и физикальный осмотр пациентов. Регистрацию электрокардиограммы выполняли стандартным неавтоматизированным 12-канальным электрокардиографом Schiller. Трансторакальную эхокардиографию проводили штатные специалисты клиники на ультразвуковых аппаратах экспертного уровня по стандартным протоколам с измерением всех основных показателей.

Лабораторный контроль показателей общего и биохимического анализов крови выполнен межклинической лабораторией Сеченовского Университета.

После подписания информированного согласия у участников исследования были взяты образцы венозной крови в стандартную вакуумную пробирку с раствором этилендиаминтетрауксусной кислоты объемом 6 мл. Детальное описание подготовки образцов плазмы крови и проводимой лабораторной диагностики описаны в предыдущей публикации [3].

Выбор исследуемых микроРНК основывался на результатах анализа научных данных об ассоциациях конкретных микроРНК или генов, связанных с микроРНК, с процессами сосудистого воспаления и атерогенеза<sup>1</sup>.

Критериями микроРНК для анализа служили следующие параметры:

1) микроРНК является специфичной для мРНК генов, вовлеченных в метаболические пути патогенеза сердечно-сосудистых заболеваний;

2) уровень экспрессии микроРНК в плазме ассоциирован с сердечно-сосудистыми заболеваниями по данным литературы;

3) микроРНК детектируется в плазме с помощью выбранной ПЦР-методики со средними величинами Ct не более 35 циклов.

Итого, определялись уровни 12 циркулирующих микроРНК: miR-21-5p, -23a-3p, -29b-3p, -92a-3p, -126-5p, -143-3p, -145-5p, -146a-5p, -150-5p, -181b-5p, 2-23-3p и -451a.

Количественное определение микроРНК проводилось с использованием полимеразной цепной реакции в реальном времени. Данные представлены как после нормализации на уровень микроРНК 16-5p.

Анализ ассоциаций уровней микроРНК проводился в группах пациентов с АГА, КА и контрольной. Различия в уровнях микроРНК рассматривались как имеющие практическое значение при их кратности в 2 раза в более.

#### Статистический анализ

Статистический анализ проводили с использованием программы Prism 9 (GraphPad, США). Нормальность распределения была определена с использованием теста Андерсона – Дарлинга. В случае нормального распределения, использовался метод ANOVA для сравнения между группами. В качестве непараметрических методов при отсутствии нормального распределения использовались U-критерий Манна-Уитни для попарного сравнения и критерий Краскела-Уоллиса для нескольких групп с ненормальным распределением. Для сравнения качественных переменных использовался критерий хи-квадрат. Значение p<0,05 считали значимым для всех тестов.

## Результаты

Характеристика исследуемой выборки пациентов представлена в табл. 1.

<sup>1</sup> <https://mirdb.org/>

Таблица 2. Уровни циркулирующих микроРНК у пациентов с КА, АГА и в группе контроля

Показатель	Общая группа КА+АГА (n=105)	Группа контроля (n=17)	p
<b>miR-21-5p*</b>	0,135±0,147	0,042±0,012	0,026
miR-23a-3p	0,008±0,008	0,005±0,002	0,461
<b>miR-29b-3p*</b>	0,005±0,004	0,002±0,001	0,019
miR-92a-3p	0,601±0,471	0,368±0,178	0,119
<b>miR-126-3p*</b>	1,083±1,431	0,107±0,129	0,003
miR-126-5p	0,035±0,038	0,018±0,009	0,071
miR-143-3p	0,004±0,003	0,002±0,002	0,103
miR-145-5p	0,027±0,025	0,020±0,013	0,670
miR-146a-5p	0,022±0,022	0,009±0,004	0,103
miR-150-5p	0,065±0,091	0,027±0,011	0,106
miR-181b-5p	0,002±0,003	0,001±0,001	0,058
miR-195-5p	0,005±0,002	0,005±0,003	0,757
miR-205-5p	0,001±0,001	0,001±0,001	0,262
miR-223-3p	0,129±0,185	0,063±0,034	0,221
miR-451a	7,058±3,126	5,679±1,351	0,213

\* – отмечены различия кратностью в 2 раза и более  
 АГА – аневризма грудного отдела аорты, КА – атеросклероз коронарных артерий

Таблица 3. Уровни циркулирующих микроРНК у пациентов с АГА и в группе контроля

Показатель	Группа АГА (n=60)	Группа контроля (n=17)	P
miR-21-5p*	0,233±0,163	0,042±0,012	<0,001
miR-23a-3p*	0,012±0,009	0,005±0,002	0,026
miR-29b-3p*	0,007±0,005	0,003±0,001	<0,001
miR-92a-3p*	0,874±0,555	0,368±0,178	<0,001
miR-126-3p*	1,984±1,628	0,107±0,129	<0,001
miR-126-5p*	0,055±0,050	0,018±0,009	<0,001
miR-143-3p	0,004±0,003	0,002±0,002	0,329
miR-145-5p	0,037±0,029	0,020±0,013	0,098
miR-146a-5p*	0,033±0,026	0,009±0,004	<0,001
miR-150-5p*	0,101±0,128	0,027±0,011	0,043
miR-181b-5p*	0,004±0,005	0,001±0,001	<0,001
miR-195-5p	0,004±0,002	0,004±0,003	0,512
miR-205-5p	0,001±0,001	0,001±0,001	0,003
miR-223-3p	0,208±0,258	0,063±0,034	0,056
miR-451a	8,680±3,750	5,679±1,351	<0,001

\* – отмечены различия кратностью в 2 раза и более  
 АГА – аневризма грудного отдела аорты

Разделение пациентов на группы осуществлялось в соответствии с типом поражения сосудистой стенки. Аналогичный анализ был проведен и при делении пациентов по типу атеросклеротических бляшек (вне зависимости от классификации пациентов по различным шкалам).

Результаты сравнительного анализа относительных уровней циркулирующих микроРНК в объединенной группе КА и АГА против группы контроля представлены в табл. 2. Уровни miR-21-5p, -29b-3p и -126-3p показали более чем двукратную значимую разницу экспрессии.

Далее был проведен сравнительный анализ отдельных групп КА и АГА против контрольной. В группе КА значимые различия с контрольной группой проде-

монстрированы лишь для miR-143-3p (p=0,04), однако абсолютная разница средних уровней была менее чем двукратной. В то же время, у пациентов с АГА 11 из 15 микроРНК показали значимые различия экспрессии по сравнению с контролем (табл. 3), а 9 из них обладали более чем двукратным значимым приростом.

Поскольку у части пациентов АГА сопутствовала КА (n=22, 36,7%), повторно проведено сравнение с контрольной группой без их учёта. Двукратного изменения относительных уровней в плазме не отмечалось для miR-23a-3p, -92a-3p и -150-5p, однако оно выявлено для miR-205-5p и -223-3p. В связи с различиями профилей исследуемых микроРНК у пациентов с "чистой" АГА и сочетанной с КА был проведен

Таблица 4. Уровни циркулирующих микроРНК у пациентов с КА против группы с АГА (без пациентов с сопутствующим КА)

Показатель	Группа КА (n=45)	Группа с АГА без КА (n=38)	P
miR-21-5p	0,114±0,136	0,221±0,165	0,007
miR-23a-3p	0,007±0,006	0,013±0,013	0,119
miR-29b-3p	0,004±0,004	0,007±0,004	0,009
miR-92a-3p	0,577±0,481	0,703±0,419	0,191
miR-126-3p*	0,807±1,273	2,242±1,516	<0,001
miR-126-5p	0,032±0,032	0,049±0,059	0,119
miR-143-3p	0,004±0,003	0,004±0,003	0,850
miR-145-5p	0,026±0,025	0,032±0,025	0,559
miR-146a-5p	0,019±0,019	0,029±0,027	0,141
miR-150-5p	0,058±0,075	0,098±0,145	0,733
miR-181b-5p	0,002±0,003	0,003±0,005	0,098
miR-195-5p	0,005±0,003	0,004±0,001	0,207
miR-205-5p*	0,0002±0,0003	0,0000003±0,0000009	0,043
miR-223-3p	0,117±0,174	0,189±0,228	0,136
miR-451a	6,484±2,414	9,245±4,444	0,035

\* – отмечены различия кратностью в 2 раза и более  
 АГА – аневризма грудного отдела аорты, КА – коронарный атеросклероз

сравнительный анализ, однако значимых различий не было выявлено.

Особый интерес представляет сравнительный анализ особенностей профилей циркулирующих микроРНК у пациентов с атеросклеротическим и аневризматическим сосудистым повреждением. Для определения специфических для КА циркулирующих микроРНК было проведено сравнение групп с КА против группы с АГА без КА. Значимое повышение экспрессии в группе КА отмечалось для 5 микроРНК (табл. 4), а для miR-126-3p и -205-5p значимая кратность изменений была более чем в два раза.

В то же время сравнительный анализ "чистых" групп с КА и АГА показал картину, аналогичную сравнению АГА и контрольной группы, за исключением повышения уровня miR-23a-3p.

## Обсуждение

В настоящем исследовании впервые проведён сравнительный анализ профилей циркулирующих микроРНК в плазме крови пациентов с двумя различными вариантами артериальной патологии: КА и АГА, а также с группой контроля.

При сравнении с контрольной группой наиболее выраженную разницу экспрессии у всех пациентов с артериальным повреждением продемонстрировали miR-21-5p, -29b-5p и -126-3p, что сопоставимо с результатами нашего предыдущего исследования [3].

Схожие результаты в отношении miR-21-5p описаны в исследовании Y.E. Torres-Paz и соавт., где у пациентов с повышенным уровнем данной микроРНК был выше риск развития КА [4]. МикроРНК miR-21

рассматривается в большей степени как тканевая, находящаяся в стенке сосуда и по-разному экспрессирующаяся при повышении напряжения сдвига или механическом воздействии на сосуд [4]. Нами был продемонстрирован значительно повышенный уровень указанной микроРНК именно в группе АГА, в то время как между группой КА и контролем значимой разницы не выявлено. Возможным объяснением является значительно большая площадь поражения артерий при АГА. В качестве одного из основных путей регуляторного действия miR-21-5p рассматривается воздействие на ген-супрессор опухолей *PTEN*, в результате которого изменяется экспрессия рецептора, активируемого пероксисомным пролифератором альфа (PPARα) и, в свою очередь, экспрессия провоспалительных факторов: молекулы адгезии эндотелия сосудов-1 (VCAM-1) и моноцитарного хемотаксического протеина-1 (MCP-1) [5]. Кроме того, *PTEN* – ингибитор сигнального пути PI3K/AKT, стимулирующего патологическую пролиферацию и апоптоз клеток [6], а также гена эндотелиальной синтазы оксида азота-3 [7]. При этом роль miR-21-5p рассматривается скорее как защитная, а сверхэкспрессия её у пациентов с АГА может служить диагностическим маркером, а также потенциальным терапевтическим агентом [8]. В отношении атеросклероза описана двойственная (атерогенная и атеропротективная) роль указанной микроРНК [9].

Изменения экспрессии miR-29b-5p у пациентов с аневризматическим или атеросклеротическим поражением артерий отмечались ещё в ранних работах. Так, исследование D.R. Merk и соавт. продемонстрировало повышенные уровни miR-29b при раннем развитии аневризматических поражений у пациентов с синдромом Марфана [10], а также

у пациентов с ранним началом атеросклероза [11]. Основными целями для данной микроРНК служат различные гены фибробластов, регулирующие процессы фиброза в экстрацеллюлярном матриксе. В отличие от miR-21-5p, сверхэкспрессия этой микроРНК рассматривается как патологический фактор как для атеросклероза, так и для АГА, и может служить целью для лекарственной терапии, что было показано в экспериментах *in vivo* [8, 10, 12, 13].

Данные о повышенных уровнях miR-126-3p у пациентов с АГА и КА в нашем исследовании сопоставимы с результатами других авторов. Так, было показано, что уровни miR-126-3p/-5p повышаются у пациентов с синдромом Тернера и аневризмой аорты [14]. В исследовании S. Gasiulė и соавт. в группе пациентов с АГА экспрессия указанной микроРНК была выше в 1,88 раза ( $p < 0,05$ ) по сравнению с группой контроля, при этом в нашем исследовании разница была в 18 раз [15]. Вероятно, эти различия обусловлены как размером выборки, так и спецификой исследуемой популяции. У пациентов с атеросклеротическим поражением артерий также отмечаются повышенные уровни miR-126-3p [16, 17].

Стоит отметить, что семейство miR-126-3p/-5p обладает определенной спецификой экспрессии. Так, в исследовании S. Gasiulė и соавт. демонстрируется разница в экспрессии miR-126-3p у пациентов с аневризмами грудного и брюшного отделов аорты, что указывает на ассоциацию преимущественно с АГА [15]. Кроме того, отмечаются различия в биологической роли при атеросклерозе для -3p и -5p вариантов данной микроРНК [18]. Вероятно, такие особенности экспрессии miR-126-3p обусловлены механизмами, через которые реализуется её регулирующая функция. В качестве основных целевых путей для данной микроРНК рассматриваются протеинкиназы, активируемые митогенами (путь MAPK/ERK) [17, 19].

Помимо выявления глобальной разницы уровней циркулирующих микроРНК у пациентов с АГА, КА и группой контроля, важной задачей нашего исследования было определение молекул, которые помогут дифференцировать между собой патологические состояния. Полученные нами результаты говорят о том, что к таким молекулам относятся miR-205-5p, miR-195-5p, miR-143-3p.

Интересные данные получены для miR-205-5p. Уровни данной микроРНК у пациентов с КА были выше, чем у здоровых лиц. В то же время в группе пациентов с АГА уровни данной микроРНК значительно ниже, чем в группе контроля и, соответственно, чем в группе ИБС. Известно, что miR-205-5p отрицательно регулирует экспрессию белка 1, связанного с рецепторами липопротеинов низкой плотности (LRP1), что может привести к накоплению холестерина в стенках крупных артерий из-за нарушения регуляции пути LRP1/ABCA1, определяющего уровень холестерина [20]. Указанная микроРНК регулирует активность гена *ERBB4*, кодирующего белки семейства

эпидермального фактора роста, а также усиливает негативное воздействие окисленных липопротеинов низкой плотности (oxLDL) [21]. Не исключено, что именно связь с oxLDL и miR-205-5p является одним из факторов дестабилизации атеросклеротической бляшки [22]. Если для атеросклероза повышение miR-205-5p в нашем исследовании сопоставимо с результатами других работ, описанных выше, то в отношении АГА мы получили противоречащие данные. Так, сверхэкспрессия miR-205-5p в исследованиях *in vivo* является одним из факторов, стимулирующих развитие аневризмы брюшного отдела аорты [8, 23]. Биологическая роль miR-205-5p в развитии аневризматического повреждения заключается в стимуляции активности матричных металлопротеиназ, которые способствуют воспалению сосудов, ингибируя тканевую ингибитор металлопротеиназы 3 (TIMP3) и богатый цистеином белок, индуцирующий реверсию с мотивами *kazal* (RECK) [8]. Белок TIMP3 также несёт и атеропротективную функцию [24], что объясняет повышение уровней miR-205-5p в обеих группах. Также описано ингибирующее влияние miR-205-5p на белок "Матери против декапентапептического гомолога 4" (SMAD4), являющегося одним из центральных звеньев сигнального пути фактора некроза опухолей  $\beta$  [25], что приводит к стимуляции апоптоза эндотелиоцитов. Обращает на себя внимание тот факт, что основные исследования роли miR-205-5p в развитии аневризмы аорты относились именно к её брюшному отделу. Сравнительных данных по экспрессии циркулирующих miR-205-5p у пациентов с аневризмами аорты различной локализации на сегодняшний день нет.

Повышение уровней miR-143-3p и 195-5p в нашем исследовании — характерная черта для атеросклеротического поражения. Схожие данные были получены в нашей прошлой работе, где отдельно отмечалась роль miR-143-3p в качестве потенциального маркера уязвимости атеросклеротической бляшки [16].

Необходимы дальнейшие проспективные исследования, направленные на определение роли уровней miR-143-3p, -92a-3p, в качестве селективных маркеров атеросклеротического процесса, а также использования оценки уровней miR-205-5p и -195-5p в качестве маркеров дифференцировки КА и АГА. Проспективный характер исследования позволит использовать уровни указанных микроРНК не только как маркеров наличия и/или степени выраженности патологических изменений, но и выяснить их прогностическую значимость, тем самым усовершенствовав персонализированный подход к диагностике и лечению.

Стоит отметить, что другой сферой использования определения уровней циркулирующих микроРНК является мониторинг и оценка эффективности лекарственной терапии. Так, в исследовании Э. И. Рыткина и соавт. было показано, что miR-29, -34, -126, -142 и -223 отражают активность системы цитохрома

P-450, тем самым предоставляя возможность дифференцировать подход к терапии ингибиторами P2Y<sub>12</sub>-рецепторов [26].

### Ограничения исследования

Основное ограничение – небольшой размер выборки и анализ лишь отобранных микроРНК, которые соответствовали теоретическим предпосылкам и доступной методологии на момент обследования. Исследование требует валидации на крупной выборке. В данном анализе не учитывался вклад терапии. Антитромботические, антигипертензивные препараты и статины могут влиять на экспрессию микроРНК в крови.

### Заключение

Настоящее исследование продемонстрировало значительные различия уровней циркулирующих микроРНК у пациентов с атеросклеротическим и аневризматическим поражениями артерий в сравнении с группой контроля. Наиболее значимая разница выявлена для miR-21-5p, -29b-5p и -126-3p. Нами была показана потенциальная возможность исполь-

зования трех циркулирующих микроРНК в дифференциальной диагностике КА и АГА. Результаты опубликованных исследований указывают на потенциальную возможность использования miR-205-5p в качестве маркера локализации аневризматического поражения аорты, однако данная гипотеза требует дальнейшего изучения.

### Отношения и Деятельность. Нет. Relationships and Activities. None.

**Финансирование.** Данная работа была профинансирована Министерством науки и высшего образования Российской Федерации в рамках государственной поддержки создания и развития исследовательских центров мирового уровня "Цифровой биодизайн и персонализированное здравоохранение" № 075-15-2022-304.

**Funding.** This work was financed by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation within the framework of state support for the creation and development of World-Class Research Centers "Digital biodesign and personalized healthcare" №075-15-2022-304.

### References / Литература

- Alles J, Fehlmann T, Fischer U, et al. An estimate of the total number of true human miRNAs. *Nucleic Acids Res.* 2019;47(7):3353-64. DOI:10.1093/nar/gkz097.
- Clinical Guidelines. Guidelines for the Diagnosis and Treatment of Aortic Diseases (2017). *Russian Journal of Cardiology and Cardiovascular Surgery.* 2018;11(1):7-67 (In Russ) [Клинические рекомендации. Рекомендации по диагностике и лечению заболеваний аорты (2017). *Кардиология и сердечно-сосудистая хирургия.* 2018;11(1):7-67].
- Ekeci AVNB, Rozhkov AN, Shchekochikhin DY, et al. Evaluation of microRNA Expression Features in Patients with Various Types of Arterial Damage: Thoracic Aortic Aneurysm and Coronary Atherosclerosis. *J Pers Med.* 2023;13(7):1161. DOI:10.3390/jpm13071161.
- Torres-Paz YE, Gamboa R, Fuentes-Alvarez G, et al. Overexpression of microRNA-21-5p and microRNA-221-5p in Monocytes Increases the Risk of Developing Coronary Artery Disease. *Int J Mol Sci.* 2023;24(10):8641. DOI:10.3390/ijms24108641.
- He X-M, Zheng Y-Q, Liu S-Z, et al. Altered Plasma MicroRNAs as Novel Biomarkers for Arteriosclerosis Obliterans. *J Atheroscler Thromb.* 2016;23(2):196-206. DOI:10.5551/jat.30775.
- Perevalova AM, Kobelev VS, Sisakyan VG, et al. The role of the tumor suppressor PTEN and its regulation during malignant transformation of the endometrium. *Biochemistry.* 2022;87(11):1584-603 (In Russ) [Перевалова А.М., Кобелев В.С., Сисакян В.Г., и др. Роль онкосупрессора PTEN и его регуляция при злокачественной трансформации эндометрия. *Биохимия.* 2022;87(11):1584-603]. DOI:10.1134/S0006297922110104.
- Licholai S, Blaž M, Kapelak B, Sanak M. Unbiased Profile of MicroRNA Expression in Ascending Aortic Aneurysm Tissue Appoints Molecular Pathways Contributing to the Pathology. *Ann Thorac Surg.* 2016;102(4):1245-52. DOI:10.1016/j.athoracsur.2016.03.061.
- Fu X, Zhou Y, Cheng Z, et al. MicroRNAs: Novel Players in Aortic Aneurysm. *Biomed Res Int.* 2015;2015:831641. DOI:10.1155/2015/831641.
- Vartak T, Kumaresan S, Brennan E. Decoding microRNA drivers in atherosclerosis. *Biosci Rep.* 2022;42(7):BSR20212355. DOI:10.1042/bsr20212355.
- Merk DR, Chin JT, Dake BA, et al. miR-29b participates in early aneurysm development in Marfan syndrome. *Circ Res.* 2012;110(2):312-24. DOI:10.1161/CIRCRESAHA.111.253740.
- Wang R, Dong LD, Meng XB, et al. Unique MicroRNA signatures associated with early coronary atherosclerotic plaques. *Biochem Biophys Res Commun.* 2015;464(2):574-79. DOI:10.1016/j.bbrc.2015.07.010.
- Ulrich V, Rotllan N, Araldi E, et al. Chronic miR-29 antagonism promotes favorable plaque remodeling in atherosclerotic mice. *EMBO Mol Med.* 2016;8(6):643-53. DOI:10.15252/emmm.201506031.
- Liu MN, Luo G, Gao WJ, et al. miR-29 family: A potential therapeutic target for cardiovascular disease. *Pharmacol Res.* 2021;166:105510. DOI:10.1016/j.phrs.2021.105510.
- Abu-Halima M, Oberhoffer FS, Wagner V, et al. MicroRNA-126-3p/5p and Aortic Stiffness in Patients with Turner Syndrome. *Children (Basel).* 2022;9(8):1109. DOI:10.3390/children9081109.
- Gasiulė S, Stankevičius V, Patamsytė V, et al. Tissue-Specific miRNAs Regulate the Development of Thoracic Aortic Aneurysm: The Emerging Role of KLF4 Network. *J Clin Med.* 2019;8(10):1609. DOI:10.3390/jcm8101609.
- Rozhkov AN, Shchekochikhin DY, Ashikhmin YI, et al. The Profile of Circulating Blood microRNAs in Outpatients with Vulnerable and Stable Atherosclerotic Plaques: Associations with Cardiovascular Risks. *Noncoding RNA.* 2022;8(4):47. DOI:10.3390/ncrna8040047.
- Martinez-Arroyo O, Ortega A, Flores-Chova A, et al. High miR-126-3p levels associated with cardiovascular events in a general population. *Eur J Intern Med.* 2023;113:49-56. DOI:10.1016/j.ejim.2023.04.013.
- Jiang Q, Li Y, Wu Q, et al. Pathogenic role of microRNAs in atherosclerotic ischemic stroke: Implications for diagnosis and therapy. *Genes Dis.* 2022;9(3):682-96. DOI:10.1016/j.gendis.2021.01.001.
- Liu M, Li L, Zhu J, et al. Rapamycin attenuates a murine model of thoracic aortic aneurysm by downregulating the miR-126-3p mediated activation of MAPK/ERK signalling pathway. *Biochem Biophys Res Commun.* 2019;512(3):498-504. DOI:10.1016/j.bbrc.2019.03.083.
- Moris D, Mantonakis E, Avgerinos E, et al. Novel biomarkers of abdominal aortic aneurysm disease: identifying gaps and dispelling misperceptions. *Biomed Res Int.* 2014;2014:925840. DOI:10.1155/2014/925840.
- Huang P, Zhang Y, Wang F, et al. MiRNA-205-5p regulates the ERBB4/AKT signaling pathway to inhibit the proliferation and migration of HAVSMCs induced by ox-LDL. *Pathol Res Pract.* 2022;233:153858. DOI:10.1016/j.prp.2022.153858.
- Meng X, Yin J, Yu X, Guo Y. MicroRNA-205-5p Promotes Unstable Atherosclerotic Plaque Formation In Vivo. *Cardiovasc Drugs Ther.* 2020;34(1):25-39. DOI:10.1007/s10557-020-06935-9.
- Kim CW, Kumar S, Son DJ, et al. Prevention of abdominal aortic aneurysm by anti-microRNA-712 or anti-microRNA-205 in angiotensin II-infused mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2014;34(7):1412-21. DOI:10.1161/ATVBAHA.113.303134.
- Chen H, Chen S, Ye H, et al. Protective Effects of Circulating TIMP3 on Coronary Artery Disease and Myocardial Infarction: A Mendelian Randomization Study. *J Cardiovasc Dev Dis.* 2022;9(8):277. DOI:10.3390/jcdd9080277.
- Nie H, Zhao W, Wang S, Zhou W. Based on bioinformatics analysis Incrna SNHG5 modulates the function of vascular smooth muscle cells through

- mir-205-5p/SMAD4 in abdominal aortic aneurysm. Immun Inflamm Dis. 2021;9(4):1306-20. DOI:10.1002/iid3.478.
26. Rytkin EI, Mirzaev KB, Bure IV, Sychev DA. Micro-RNA as a new biomarker of activity of the cytochrome system P-450: significance for predicting the antiplatelet action of P2Y12 receptor inhibitors. Ter Arkh. 2019;91(8): 115-7 (In Russ.) [Рыткин Э.И., Мирзаев К.Б., Буре И.В., Сычев Д.А. Микро-РНК как новый биомаркер активности системы цитохрома P-450: значение для прогнозирования антиагрегантного действия ингибиторов P2Y12-рецепторов. Терапевтический архив. 2019;91(8):115-7]. DOI:10.26442/00403660.2019.08.000389.

Сведения об Авторах/About the Authors

**Нго Билонг Экеди Анге Вероник** [Ange Veronik E. Ngo Bilong]

ORCID 0000-0003-0019-2762

**Васильев Сергей Владимирович** [Sergey V. Vasiliev]

eLibrary SPIN 7215-4851, ORCID 0000-0003-4845-5402

**Рожков Андрей Николаевич** [Andrey N. Rozhkov]

ORCID 0000-0002-2735-076X

**Стоногина Дарья Алексеевна** [Daria A. Stonogina]

eLibrary SPIN 1958-7048, ORCID 0000-0002-1508-4257

**Щекочихин Дмитрий Юрьевич** [Dmitry Yu. Shchekochikhin]

ORCID 0000-0002-8209-2791

**Филиппова Юлия Ивановна** [Yulia I. Filippova]

ORCID 0009-0004-1834-3164

**Джафарова Чимназ Вагиф Кызы** [Chimnaz VK. Dzhafarova]

ORCID 0009-0002-5566-7753

**Нурутдинов Нурудин Пахнудинович** [Nurudin P. Nurutdinov]

ORCID 0009-0008-9451-4104

**Желанкин Андрей Викторович** [Andrey V. Zhelankin]

eLibrary SPIN 7216-1306, ORCID 0000-0002-3014-2005

**Генерозов Эдуард Викторович** [Edward V. Generozov]

eLibrary SPIN 9986-7842, ORCID 0000-0002-6314-4883

**Аксельрод Анна Сергеевна** [Anna S. Akselrod]

eLibrary SPIN 4566-7759, ORCID 0000-0002-3604-4975

**Копылов Филипп Юрьевич** [Philippe Yu. Kopylov]

eLibrary SPIN 8287-6897, ORCID 0000-0001-5124-6383

**Сыркин Абрам Львович** [Abram L. Syrkin]

eLibrary SPIN 8884-8014, ORCID 0000-0002-6452-1222