

**А.Н. Пархоменко¹, В.Е. Досенко², А.А. Сопко¹, С.В. Гончаров²,
В.Л. Гурьянова², Г.В. Портниченко², Я.М. Лутай¹, А.А. Мойбенко²**

¹Национальный научный центр «Институт кардиологии имени академика Н.Д. Стражеско»
НАМН Украины, Киев

²Институт физиологии имени А.А. Богомольца НАН Украины, Киев

Содержание некодирующих микроРНК в плазме крови, тромбоцитах и моноцитах больных острым инфарктом миокарда

В работе представлены сведения о содержании ряда некодирующих микроРНК (-1, -155, -208a, -210, -499), вовлеченных в регуляцию экспрессии генов у больных в ранний период острого инфаркта миокарда. В ходе изучения их содержания в плазме крови, в тромбоцитах и моноцитах крови у 20 больных с острым коронарным синдромом (ОКС) с подъемом сегмента ST в сравнении с лицами без коронарной патологии выявлены неоднозначные сдвиги исследуемых микроРНК. В частности, содержание в плазме крови известных «маркеров повреждения миокарда» miRNA-1 и -499 в первые 4 ч развития ОКС не возрастало, а их концентрация в клетках крови достоверно повышалась (наиболее значимо — в моноцитах периферической крови). В ранние сроки заболевания содержание других микроРНК, участвующих в регуляции процессов апоптоза клеток, ангиогенеза (-208a, -210), было снижено относительно группы сравнения как в плазме крови, так и в клетках крови. Исключение составила провоспалительная микроРНК-155, которая была достоверно экспрессирована в моноцитах. Результаты работы свидетельствуют о возможной диагностической значимости микроРНК-155, определяемой в моноцитах больных в ранние сроки ОКС, в качестве маркера развития повреждения миокарда. Прогностическое значение исследуемых микроРНК может быть в дальнейшем определено при оценке их динамики в стадии рубцевания инфаркта миокарда.

Ключевые слова: микроРНК, острый коронарный синдром, тромбоциты, моноциты.

Введение

В последние годы внимание исследователей привлекает изучение процессов, связанных с изменениями уровней некодирующих короткоцепочечных рибонуклеиновых кислот — микроРНК в различных биологических средах организма в качестве диагностического и прогностического маркера острого инфаркта миокарда (ОИМ) (Salic K., De Windt L.J., 2012; Deddens J.C. et al., 2013). В ряде публикаций установлена диагностическая ценность изменений в плазме крови следующих микроРНК: miR-1, miR-133, miR-208a, miR-499p (Wang G.K. et al., 2010; Salic K., De Windt L.J., 2012; Deddens J.C. et al., 2013). При подкупающей однозначности выводов исследователей отметим, что ни в одной из этих работ не подтверждены данные других ученых. Каждая исследовательская группа настаивает на диагностической значимости определенной микроРНК, фактически опровергая результаты друг друга (Li C. et al., 2013; Nabitšek E. et al., 2013). Это вызывает особенное удивление, поскольку во всех указанных работах применяли аналогичные методологические подходы — на первом этапе проводили «microarray assay» — микрозабор материала РНК — для скрининга микроРНК на ограниченном количестве пациентов или на пуле образцов плазмы крови от нескольких участников (больных и лиц контрольной группы). На следующем этапе проводили верификацию полученных данных путем оценки уровня нескольких микроРНК у множества пациентов с ОИМ

с помощью методики «realtime PCR» — полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном времени — (miRNA TaqMan-assay), а на последнем этапе проводили верификацию данных генетического исследования в сравнении с традиционными лабораторными методами диагностики ОИМ (тропонин-Т, тропонин-И, МВ-КФК). Помимо противоречий относительно диагностического и клинического значения микроРНК, возникает целый ряд вопросов фундаментального характера. Имеет ли биологический смысл изменение уровня микроРНК в крови при ОИМ? Свидетельствует ли повышение уровня микроРНК лишь о выходе мышечно-специфических микроРНК из некротизированных кардиомиоцитов или имеет место секреция определенных микроРНК клетками сердца и эндотелия сосудов в ответ на ишемию миокарда, направленная на передачу сигнала от поврежденного миокарда к другим органам? Проникают ли микроРНК из плазмы крови в клетки и ткани других органов, влияют ли они на экспрессию таргетных генов? Большинство современных исследователей склонны трактовать повышение уровня определенных микроРНК в крови по аналогии с интерпретацией данных классических маркеров повреждения миокарда, указанных выше (Long G. et al., 2012). Однако такой логический ряд неизбежно приводит к невозможности объяснить малую информативность повышения микроРНК-1 в плазме крови больных ОИМ, которая составляет более 40% всех микроРНК в кардиомиоцитах. Как

ни странно, уровень микроРНК-1 в плазме крови находится у больных ОИМ на крайне низком уровне в сравнении с другими подтипами (например микроРНК-499, который в кардиомиоцитах, наоборот, значительно уступает уровню экспрессии микроРНК-1) (Corsten M.F. et al., 2010).

С учетом противоречивых и неоднозначных данных цель настоящего исследования — определение у больных с острым коронарным синдромом (ОКС) с подъемом сегмента ST уровня ряда кардиоспецифических микроРНК (-1, -208a, -499), а также микроРНК, участвующих в патогенезе прогрессирования атеросклеротического процесса (-155 и -210) в плазме крови, изолированных моноцитах и тромбоцитах.

Объект и методы исследования

В исследование включили 20 больных в возрасте 38–74 лет (средний возраст — 54,85±2,2 года) с диагнозом «острый коронарный синдром (ОКС) с подъемом сегмента ST» (из них — 80% мужчин), госпитализированных в ННЦ «Институт кардиологии имени академика Н.Д. Стражеско» НАМН Украины были исследованы. Информированное согласие на участие в исследовании получено у всех пациентов. Диагноз ОКС основывался на оценке Рекомендаций Европейского общества кардиологов и Американской коллегии кардиологов (Task Force on the management of ST-segment elevation acute myocardial infarction of the European Society of Cardiology (ESC)

et al., 2012; Jleidi H. et al., 2012). Основные характеристики пациентов, включенных в исследование, представлены в табл. 1.

Отбор крови и выделение клеток

Сначала выделяли плазму крови, затем клетки. С целью выделения тромбоцитов венозную кровь набирали в стерильных условиях в моноветы в объеме 2,7 мл с кальциевой солью этилендиаминтетрауксусной кислоты (11,7 мМ) в качестве антикоагулянта («Sarstedt», Германия), с целью предупреждения адгезии и агрегации тромбоцитов использовали апиразу (1 ЕД/мл). Выделение тромбоцитов проводили в три этапа:

- центрифугирование (100 г) цельной крови в течение 5 мин (супернатант содержал тромбоциты и моноциты);
- центрифугирование (400 г) в течение 2 мин;
- центрифугирование (900 г) в течение 6 мин с развитием ресуспензирования тромбоцитов в буфере Тироде — (137 ммоль хлорида натрия (NaCl), 12 ммоль гидрокарбоната натрия (NaHCO₃), 2 ммоль хлорида калия (KCl), 0,34 ммоль гидрофосфата натрия (Na₂HPO₄), 1 ммоль хлорида магния (MgCl₂), 5,5 ммоль глюкозы, 5 мМоль HEPES (N-2-гидроксиэтилпиперазин-N'-2-этансульфоновая кислота), pH 7,3), содержащем 0,35% альбумина в сыворотке крови. Подсчет количества тромбоцитов проводили в камере Горяева.

Выделение РНК, обратная транскрипция и ПЦР в режиме реального времени

Изоляцию микроРНК осуществляли при поступлении больного в стационар. Общее число РНК получено с использованием набора «miRvana PARIS kit» (Ambion, США), концентрации РНК определяли по данным спектрофотометрии («NanoDrop ND1000», NanoDrop Technologies Inc., США). Обратную транскрипцию осуществляли с помощью коммерчески доступных наборов («High Capacity cDNA Reverse Transcription Kit», Applied Biosystems, США), специфических петлевых праймеров для каждой микроРНК, малых ядерных U6 РНК (эндогенный контроль) и 10 нг РНК в качестве внутреннего контроля. Количественная ПЦР в режиме реального времени (Quantitative realtime polymerase chain reaction — PCR) применена с использованием «PCR thermal cycler» («7500 Fast Real-time PCR System», Applied Biosystems, USA) и «TaqMan MicroRNA assays» (Applied Biosystems, USA). «Hsa-miR-1» (assay ID 002222), «Hsa-miR-155» (assay ID 002623), «Hsa-miR-208a» (assay ID 000511), «Hsa-miR-208b» (assay ID 002290), «Hsa-miR-210» (assay ID 000512), «Hsa-miR-499» (assay ID 001352), «U6 sn-RNA» (assay ID 001973). Полученные результаты исследованы с помощью программного обеспечения «7500 Fast Real-time PCR software» («Applied Biosystems», США).

Статистический анализ

Все данные представлены в виде арифметических данных (средние значения ± SEM). Результаты анализа во всех

группах тестированы относительно оценки нормальности статистического распределения показателей с использованием теста Колмогорова — Смирнова и вариационности данных по тесту ANOVA. Коэффициент корреляции Пирсона использован для оценки изменений уровней микроРНК. Статистический анализ произведен с использованием программы Excel 2007 («Microsoft Corporation», USA) and SPSS Statistics version 17.0 («IBM Corporation», USA).

Результаты и их обсуждение

Анализ полученных данных свидетельствует о том, что при развитии острого некротического повреждения сердца (ОИМ) в первые 4 ч отмечают неоднозначные изменения микроРНК.

В плазме крови пациентов с ОИМ микроРНК-208a и -210 определяли значительно низкие уровни, у части больных — ниже уровня детекции. В плазме крови больных в первые часы ОИМ проведен анализ только следующих микроРНК: -1, -155, -499. Результаты исследований представлены в табл. 2.

Уровни микроРНК-1 и микроРНК-499 в плазме крови больных ОИМ не отличались от концентраций в плазме крови у пациентов контрольной группы и соответственно

составили 1,00±0,42 против 0,80±0,31 (p=0,78), для микроРНК-1 и 37,44±16,92 против 36,08±21,7 (p=0,84) — для микроРНК-499. Уровень микроРНК-155 был выше в группе контроля в сравнении с группой ОИМ и составил соответственно 12,82±2,72 против 2,70±0,78 (p<0,05).

В изолированных тромбоцитах уровень микроРНК-1 был в 4,2 раза ниже в контрольной группе в сравнении с группой больных ОИМ (24,75±10,44 против 105,07±28,46 соответственно; p<0,05).

Уровень микроРНК-155, -208a, -210, -499 в тромбоцитах был выше в группе больных ОИМ, но достоверных различий не выявлено (табл. 3).

В моноцитах крови больных в первые часы ОИМ отмечали более высокие значения микроРНК в сравнении с контрольной группой (табл. 4). Содержание микроРНК-1 в контрольной группе было в 32,2 раза ниже в сравнении с группой ОИМ (0,07±0,05 против 2,26±0,91; p=0,11). Наиболее значимые различия отмечали при измерении уровня микроРНК-155 (2,20±0,78 против 37,18±11,49 в группе больных ОИМ; p<0,01).

Уровень микроРНК-208a соответствовал крайне низким значениям и практически был сопоставим в обеих группах (0,013±0,004 против 0,015±0,004; p=0,73).

Таблица 1 Основные характеристики участников исследования

Характеристики участников исследования	Больные (n=20)	Контроль (n=10)
Основные параметры		
Пол, муж./жен.	16/4	8/2
Возраст, лет (медиана±SEM)	54,85±2,25	58,5±2,25
ИМТ (кг/м ² ±SEM)	29,49±1,15	30,19±1,2
Соотношение ОИМ по локализации (передней/задней стенки)	13/7	—
Общий ХС (ммоль/л±SEM)	5,71±0,33	5,3±0,29
ХС ЛПНП (ммоль/л±SEM)	3,44±0,32	2,8±0,23
Креатинин в сыворотке крови (мкмоль/л±SEM)	93,15±4,39	85,3±3,91
Глюкоза (ммоль/л±SEM)	7,88±0,42	5,1±0,35
Время от начала развития симптомов (ч)	3,8±0,48	—
Сопутствующие состояния (доля от общего количества, %)		
Артериальная гипертензия	65	100
Ишемическая болезнь сердца до ОИМ	15	—
Сахарный диабет	10	10
Курьльщики — с зависимостью от табакокурения	55	40

SEM (standard error of the mean) — стандартная ошибка среднего; ИМТ — индекс массы тела; ХС — холестерин; ХС ЛПНП — холестерин липопротеидов низкой плотности.
В табл. 1–4: *p<0,05.

Таблица 2 Уровень экспрессии микроРНК в плазме крови

микроРНК	Уровень микроРНК (усл. ед.)		
	Контроль	ОИМ	Сдвиг
miR-1, относительный уровень miR-1/U6	1,00±0,42	0,80±0,31	↓1,25
miR-155, относительный уровень miR-155/U6	12,82±2,72	2,70±0,78*	↓4,74
miR-499, относительный уровень miR-499/U6	37,44±16,92	36,08±21,7	↓1,03

Таблица 3 Уровень экспрессии микроРНК в тромбоцитах крови

микроРНК	Уровень микроРНК (усл. ед.)		
	Контроль	ОИМ	Сдвиг
miR-1, относительный уровень miR-1/U6	24,75±10,44	105,07±28,46*	↑4,24
miR-155, относительный уровень miR-155/U6	110,36±29,41	226,4±60,05	↑2,05
miR-208a, относительный уровень miR-208a/U6	0,03±0,01	0,11±0,06	↑3,66
miR-210, относительный уровень miR-210/U6	58,10±17,73	128,46±47,38	↑2,21
miR-499, miR-499/U6	27,50±10,91	44,21±4,70	↑1,6

Таблица 4 Уровень экспрессии микроРНК в моноцитах крови

микроРНК	Уровень микроРНК (усл. ед.)		
	Контроль	ОИМ	Сдвиг
miR-1, относительный уровень miR-1/U6	0,07±0,05	2,26±0,91	↑32,28
miR-155, относительный уровень miR-155/U6	2,20±0,78	37,18±11,49*	↑16,9
miR-208a, относительный уровень miR-208a/U6	0,013±0,004	0,015±0,004	↑1,15
miR-210, относительный уровень miR-210/U6	1,86±0,90	17,23±7,70	↑9,26
miR-499, относительный уровень miR-499/U6	7,59±2,21	43,77±17,39	↑5,76

Уровень микроРНК-210 в контрольной группе был в 9 раз ниже в сравнении с группой больных ОИМ ($1,86 \pm 0,90$ против $17,23 \pm 7,70$ соответственно; $p=0,17$).

При определении уровня микроРНК-499 выявлены более низкие значения в группе контроля в сравнении с группой больных ОИМ ($7,59 \pm 2,21$ против $43,77 \pm 17,39$ соответственно; $p=0,08$).

Анализ полученных данных не продемонстрировал ожидаемого повышения «кардиоспецифической» микроРНК-1 в плазме крови, при этом концентрации микроРНК-208а были ниже уровня детекции, равно как и уровень микроРНК-210. Вместе с тем вследствие значительного разброса значений достоверных изменений в сравнении с группой контроля уровня микроРНК-499 не отмечали. Следует отметить, что уровень микроРНК-155 в первые часы ОИМ в плазме крови (см. табл. 2) был достоверно ниже, чем в контрольной группе (в 4,74 раза; $p=0,0001$). Таким образом, наиболее показательными являются данные относительно колебаний уровня микроРНК-155 в плазме крови, что не согласуется с результатами, полученными S. Matsumoto и соавторами (2012) при оценке уровня микроРНК не в плазме, а в сыворотке крови. Согласно данным японских ученых, уровень микроРНК-155 повышался при ОИМ и ассоциировался с увеличением риска сердечно-сосудистой смерти в течение 1 года после ОИМ. При этом отмечено, что большинство пациентов в исследовании были госпитализированы в течение 12 ч от начала проявления симптомов ОИМ (в среднем — через 3,8 ч).

МикроРНК-155 относят к регуляторам неспецифического иммунного ответа (in-pate immunity), острая воспалительная реакция, как известно, является одним из патогенетических звеньев ОКС и ОИМ. Согласно данным словенских ученых, которые определяли уровень микроРНК указанного типа в аутопсическом материале миокарда больных ОИМ, ее уровень значительно повышается при ОИМ, причем в наибольшей степени у больных без разрыва миокарда (Zidar N. et al., 2011). Таким образом, можно предположить, что снижение уровня микроРНК-155 в первые часы ОКС в плазме крови может свидетельствовать об активации иммунного ответа, острой воспалительной реакции вследствие повышения экспрессии генов, контролируемых данной микроРНК.

При исследовании изменений уровня микроРНК в изолированных тромбоцитах мы обратили внимание на значительно более высокий уровень микроРНК в изолированных клетках в сравнении с плазмой крови. В целом это позволяет предположить, что определение уровня микроРНК при ОИМ целесообразней проводить в изолированных клетках крови, что повышает надежность и чувствительность анализа. Достоверные изменения в изолированных тромбоцитах наблюдали лишь относительно уровня микроРНК-1, который повышался при развитии ОКС в 4,5 раза в сравнении с контролем, и в 100 раз превышал содержание данной

микроРНК в плазме крови больных в первые часы ОКС.

Как известно, микроРНК-1 является доминирующей среди кардиоспецифических микроРНК (уровень экспрессии превышает 40% всех микроРНК клеток сердца), что позволяет предполагать, что некроз кардиомиоцитов при ишемии будет способствовать выходу микроРНК-1 в циркулирующую кровь. Однако, по нашим данным, ее содержание в плазме крови в 100 раз ниже, чем в тромбоцитах. При этом следует сделать поправку на значительное количество изолированных клеток, использованных для выделения РНК (10^6 – $140 \cdot 10^6$ /мл). Косвенно этот факт может свидетельствовать о поступлении микроРНК из плазмы крови в тромбоциты и истощении ее запасов в плазме крови.

Биологический смысл этого явления остается неясным, может ли влиять микроРНК-1 на экспрессию генов в тромбоцитах также неизвестно, однако диагностическое преимущество определения уровня этой микроРНК в тромбоцитах при ОИМ представляется несомненным. Кроме того, низкий уровень исследуемых микроРНК в плазме крови может быть обусловлен применением гепарина и его производных (низкомолекулярного гепарина, пентасакхарида фондапаринукса) в ранние сроки ОКС — на догоспитальном или раннем госпитальном этапе (Kaudewitz D. et al., 2013). В подобной ситуации наиболее устойчивым и, соответственно, диагностически значимым может быть внутриклеточный пул микроРНК. Но и тогда остается открытым вопрос о природе повышения содержания внутриклеточной микроРНК-1. Аналогичное увеличение содержания в тромбоцитах в сравнении с таковым в плазме крови получено для микроРНК-155 ($2,70$ — в плазме и $226,5$ — в тромбоцитах). При этом имела место обратная картина, когда «кардиоспецифическая» микроРНК-499, лишь незначительно представленная в плазме крови больных в первые часы ОИМ ($36,08 \pm 21,7$ против $37,4 \pm 16,9$ в контроле; $p=0,84$), в тромбоцитах содержалась еще в меньшем количестве ($p=0,08$). Это может служить опровержением концепции, что выделившиеся из миокарда при его повреждении «кардиоспецифические» микроРНК напрямую мигрируют в клетки крови. Хотя подобный механизм не исключен для других микроРНК. Следует отметить, что такие микроРНК, как -208 и -210, практически не идентифицированы в нашем исследовании в плазме крови больных ОИМ, в тромбоцитах выявляли, но в минимальных содержаниях, достоверно не отличавшихся от контрольных значений (см. табл. 3).

Заслуживают внимания, по нашему мнению, данные, полученные при определении уровня микроРНК в моноцитах крови. Прежде всего, следует указать на гораздо более высокий уровень практически всех исследованных микроРНК в этих клетках, что отчасти объясняется выделением (изоляция) значительного количества моноцитов из периферической крови ($0,42$ – $9,0 \cdot 10^6$ /мл).

Наиболее выраженные, но недостоверные вследствие значительного разброса показателей, повышения уровней микроРНК в моноцитах крови больных в ранние сроки ОИМ в сравнении с группой контроля наблюдали для микроРНК-1 ($2,27 \pm 0,9$ против $0,08 \pm 0,05$ в контроле; $p=0,1$), микроРНК-210 ($128,5 \pm 47,4$ против $58,1 \pm 17,7$ в контроле; $p=0,29$), микроРНК-499 ($44,2 \pm 17,3$ против $27,5 \pm 10,9$ в контроле; $p=0,43$).

Для микроРНК-208а отмечены самые низкие значения как в моноцитах ($0,015 \pm 0,0049$), так и в тромбоцитах ($0,12 \pm 0,06$). Это не позволяет рассматривать указанные микроРНК в качестве диагностически значимых маркеров повреждения миокарда на ранних стадиях развития ОИМ. Единственной из исследуемых микроРНК, содержание которой было достоверно повышено в сравнении с контролем в изолированных моноцитах, была микроРНК-155 ($37,2 \pm 11,4$ против $2,21 \pm 0,78$ в контроле; $p=0,048$). При этом отмечали обратную зависимость — ее низкое содержание в плазме крови (достоверное снижение по сравнению с контролем) в первые часы развития ОИМ сочеталось с повышенным содержанием данной микроРНК в тромбоцитах и моноцитах крови. Данный факт нуждается в уточнении — является ли повышение этой микроРНК в клетках результатом ее внутриклеточного образования и созревания или этапом захвата из плазмы крови для дальнейшего метаболизма. По нашему мнению, высказанное предположение можно в будущем верифицировать по факту выявления в клетках-предшественниках из костного мозга «незрелых» форм микроРНК, что позволит определить возможные механизмы транспорта некодирующих РНК в плазме крови, изолированных тромбоцитах и моноцитах, а также исследовать дополнительную роль клеток крови в качестве регулятора биологических процессов при повреждении тканей. Снижение уровня микроРНК-155 в плазме крови больных ОИМ также наблюдали в исследовании R. Yao и соавторов (2011), при этом уровень микроРНК в плазме крови тесно коррелировал с уровнем этой же микроРНК в мононуклеарах периферической крови (включающих моноциты), что не нашло подтверждения в нашем исследовании. Известно, что микроРНК-155 принимает участие в патогенезе атеросклероза, препятствует синтезу белка, подавляющего воспалительную реакцию и, таким образом, при низких его концентрациях способствует прогрессированию процесса. Однако, согласно данным, полученным в эксперименте, сама по себе микроРНК-155 не может служить инициатором воспаления, ее индуцирует другая микроРНК-342–5р, которая постоянно продуцируется макрофагами, с возрастанием уровня экспрессии при воспалении. Результаты немецких ученых ставят под сомнение прямую связь между активацией воспалительного процесса и уровнем микроРНК-155 (Wei Y. et al., 2013).

В другом экспериментальном исследовании продемонстрирована связь низ-

кой концентрації мікроРНК-155 с прогрессивним атеросклерозом, а також дестабілізацією атеросклеротическої бляшки (Doppers M.M. et al., 2012). Проведений аналіз дозволяє зробити висновок, що змінення рівня мікроРНК-155 в клітках крові являється новим перспективним маркером пошкодження міокарда при розвитку ОКС, характеризуючим відповідь імунної системи. Для в'яснення прогностичного значення визначення мікроРНК-155 цілеспрямована оцінка її вмісту в динаміці патофізіологічних стадій течія ОІМ, включаючи період активації процесів репарації, що співпадають по часу з клінічеської стадією підострої фази захворювання (2–3-я тиждень ОІМ).

Висновки

Визначення рівня мікроРНК являється новим перспективним методом оцінки активності патофізіологічних процесів, в тому числі при кардіоваскулярній патології.

Частота виявлення змін експресії некодируючих мікроРНК при ОКС обумовлена субстратом дослідження (плазма крові или клітки периферическої крові) — морфологічний матеріал в даному дослідженні не оцінювали.

Результати дослідження відображають потенціальну клінічеську значимість визначення підвищеного рівня моноцитарної мікроРНК-155 в ранній діагностиці ураження міокарда при ОКС при відсутності змінених ранніх маркерів ураження міокарда.

Отримані дані о статистическіх достовірних відмінностях вмісту мікроРНК в плазмі крові и її клітинних елементах (тромбоцитах, моноцитах) свідчать про необхідність розробки нових методів діагностики и прогнозування після успішних інтервенційних втручань при ОКС.

Список использованной литературы

- Corsten M.F., Dennert R., Jochems S. et al. (2010) Circulating MicroRNA-208b and MicroRNA-499 reflect myocardial damage in cardiovascular disease. *Circ. Cardiovasc. Genet.*, 3(6): 499–506.
- Deddens J.C., Colijn J.M., Oerlemans M.I. (2013) Circulating MicroRNAs as Novel Biomarkers for the Early Diagnosis of Acute Coronary Syndrome. *J. Cardiovasc. Transl. Res.*, 6(6): 884–898.
- Donners M.M., Wolfs I.M., Stöger L.J. et al. (2012) Hematopoietic miR155 deficiency enhances atherosclerosis and decreases plaque stability in hyperlipidemic mice. *PLoS One*, 7(4): e35877.
- Jneid H., Anderson J.L., Wright R.S. et al. (2012) 2012 ACCF/AHA focused update of the guideline for the management of patients with unstable angina/non-ST-elevation myocardial infarction (updating the 2007 guideline and replacing the 2011 focused update): a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *Am. Coll. Cardiol.*, 60(7): 645–681.
- Kaudewitz D., Lee R., Willeit P. et al. (2013) Impact of intravenous heparin on quantification of circulating microRNAs in patients with coronary artery disease. *Thromb. Haemost.*, 110(3): 609–615.

Li C., Fang Z., Jiang T. et al. (2013) Serum microRNAs profile from genome-wide serves as a fingerprint for diagnosis of acute myocardial infarction and angina pectoris. *BMC Med. Genomics*, 6:16.

Long G., Wang F., Duan Q. et al. (2012) Human circulating microRNA-1 and microRNA-126 as potential novel indicators for acute myocardial infarction. *Int. J. Biol. Sci.*, 8(6): 811–818.

Matsumoto S., Sakata Y., Nakatani D. et al. (2012) A subset of circulating microRNAs are predictive for cardiac death after discharge for acute myocardial infarction. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 427(2): 280–284.

Nabiatek E., Warha W., Kula D. et al. (2013) Circulating microRNAs (miR-423-5p, miR-208a and miR-1) in acute myocardial infarction and stable coronary heart disease. *Minerva Cardioangi.*, 61(6): 627–637.

Salic K., De Windt L.J. (2012) MicroRNAs as biomarkers for myocardial infarction. *Curr. Atheroscler. Rep.*, 14(3): 193–200.

Task Force on the management of ST-segment elevation acute myocardial infarction of the European Society of Cardiology (ESC), Steg P.G., James S.K. et al. (2012) ESC Guidelines for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation. *Eur. Heart J.*, 33(20): 569–619.

Wang G.K., Zhu J.Q., Zhang J.T. et al. (2010) Circulating microRNA: a novel potential biomarker for early diagnosis of acute myocardial infarction in humans. *Eur. Heart J.*, 31(6): 659–666.

Wei Y., Nazari-Jahantigh M., Chan L. et al. (2013) The microRNA-342-5p fosters inflammatory macrophage activation through an Akt1- and microRNA-155-dependent pathway during atherosclerosis. *Circulation*, 127(15): 1609–1619.

Yao R., Ma Y., Du Y. et al. (2011) The altered expression of inflammation-related microRNAs with microRNA-155 expression correlates with Th17 differentiation in patients with acute coronary syndrome. *Cell Mol. Immunol.*, 8(6): 486–495.

Zidar N., Boštjančič E., Glavač D., Stajer D. (2011) MicroRNAs, innate immunity and ventricular rupture in human myocardial infarction. *Dis. Markers*, 31(5): 259–265.

Вміст некодируючих мікроРНК у плазмі крові, тромбоцитах та моноцитах у хворих на гострий інфаркт міокарда

О.М. Пархоменко, В.Е. Досенко, О.О. Сопко, С.В. Гончаров, В.Л. Гур'янова, Г.В. Портніченко, Я.М. Лутай, О.О. Мойбенко

Резюме. У публікації наведено дані про вміст у плазмі крові, тромбоцитах та моноцитах крові деяких некодируючих мікроРНК (-1, -155, -208a, -210, -499), що беруть участь у регуляції експресії генів у хворих у ранній період гострого інфаркту міокарда. У ході вивчення їх вмісту у плазмі крові, у тромбоцитах та моноцитах крові у 20 хворих на гострий коронарний синдром (ГКС) із підйомом сегмента ST порівняно з особами без коронарної патології виявлено неоднозначні зсуви досліджуваних мікроРНК. Зокрема, вміст у плазмі крові відомих «маркерів пошкодження міокарда» {мікроРНК-1 та -499} у перші 4 год розвитку ГКС не підвищувався, а їх концентрація у клітинах крові достовірно підвищувалася (найбільш значимо — у моноцитах периферичної крові). У ранні терміни захворювання вміст

інших мікроРНК, що беруть участь у регуляції процесів апоптозу клітин, ангіогенезу (-208a, -210), був знижений стосовно групи порівняння (як у плазмі, так і у клітинах крові). Винятком була прозапальна мікроРНК-155, що мала достовірну експресію в моноцитах крові. Результати дослідження свідчать про можливу діагностичну значущість мікроРНК-155 у моноцитах крові в ранні терміни ГКС як маркера розвитку пошкодження міокарда. Прогностичне значення мікроРНК може бути надалі визначено при оцінюванні їх динаміки в період рубцювання інфаркту міокарда.

Ключові слова: мікроРНК, гострий коронарний синдром, тромбоцити, моноцити.

Noncoding microRNA contents in blood plasma, platelets and monocytes in patients with acute myocardial infarction

A.N. Parkhomenko, V.E. Dosenko, A.A. Sopko, S.V. Goncharov, V.L. Gurjanova, G.V. Portnichenko, Ya.M. Lutay, A.A. Moibenko

Summary. There have been presented data concerning plasma, thrombocyte and monocyte content of non-coding microRNA (-1, -155, -208a, -210, -499), involved in gene expression regulations in patients with acute myocardial infarction. In the study during investigation their plasma, thrombocyte and monocyte levels in patients with acute coronary syndromes (ACS) with elevation of ST segment (20 patients) comparing to those with no coronary heart disease signs (10 patients) there have been detected increased monocytes level of «proinflammatory» microRNA-155 and not significant levels changes of the other studied microRNA. Plasma levels of well-known myocardial injury markers (microRNA-1 and -499) during the first hours of ACS development were not increased while their blood cells content was significantly increased (mostly — in peripheral blood monocytes). «Proapoptotic and proangiogenic» microRNA (-208a, -210) levels were decreased both in plasma and in blood cells, except microRNA-155, significantly expressed in peripheral blood monocytes. It indicates its possible diagnostic value for the early period of myocardial injury. Prognostic impact of microRNA could be evaluated during studying their variability in post-myocardial infarction patients during follow-up period.

Key words: microRNA, acute coronary syndrome, thrombocytes, monocytes.

Адрес для переписки:

Пархоменко Александр Николаевич
03151, Киев, ул. Народного ополчения, 5
Национальный научный центр
«Институт кардиологии имени академика
Н.Д. Стражешко» НАМН Украины,
отдел реанимации и интенсивной терапии
E-mail: aparkhomenko@yahoo.com

Получено 05.01.2015