

К ВОПРОСУ О РОЛИ БИОМАРКЕРА МИКРО-РНК В РАННЕЙ ДИАГНОСТИКЕ ИНФАРКТА МИОКАРДА

Гордиенко А.В., Яковлев В.В., Сотников А.В., Сахин В.Т.

ФГК ВОО ВПО Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова МО РФ
Кафедра госпитальной терапии

УДК: 616.127-005.8-07

TO THE QUESTION ABOUT THE ROLE OF THE BIOMARKER MICRO-RNAS IN THE EARLY DIAGNOSIS OF MYOCARDIAL INFARCTION

Gordienko A.V., Yakovlev V.V., Sotnikov A.V., Sakhin V.T.

В 2001 году рабочей группой национального института здоровья (National Institutes of Health, NIH) США дано современное определение биомаркерам, как «параметрам, которые могут быть объективно измерены и оценены в качестве показателей как нормального, так и патологического биологического процесса, или фармакологического ответа на терапевтическое вмешательство». Согласно этому определению очевидным становится тот факт, что определенные лабораторные показатели также относятся к биомаркерам.

В последние годы отмечается увеличение значения лабораторной диагностики в повседневной деятельности лечащего врача. Этот постулат вполне применим и к диагностике инфаркта миокарда (ИМ), являющегося главной причиной смертности в западном полушарии. Ежегодно около 15 миллионов пациентов в Соединенных Штатах и Европе поступают в отделения неотложной помощи с симптомами, характерными для ИМ [3, 34]. Раннее выявление и лечение ИМ могут предупредить или уменьшить ишемическое повреждение миокарда и более того, предотвратить возможное его ремоделирование и формирование сердечной недостаточности. Около 20 лет назад клиницисты имели в распоряжении ограниченное число лабораторных исследований, которые они могли использовать для диагностики этого заболевания. К ним относились определение активности лактатдегидрогеназы и креатинфосфокиназы (КФК), которые служили лишь для ретроспективного подтверждения ИМ [10]. Открытие во второй половине 20-го века сердечных тропонинов вывели лабораторные показатели на ключевые позиции в диагностике и определении последующей тактики ведения пациентов с ИМ. В настоящее время сердечные тропонины играют центральную роль в диагностике, стратификации риска. Они позволяют дифференцировать ИМ без подъема сегмента ST и нестабильную стенокардию.

ИМ отражает смерть кардиомиоцитов (некроз) в результате длительной ишемии [31], которая развивается вследствие острой тромботической окклюзии коронарных артерий. Смерть кардиомиоцитов выявляют путем

определения в периферическом кровотоке структурных протеинов, выделяющихся из них после повреждения [20]. В процессе развития лабораторной диагностики ИМ использовались различные биомаркеры, такие как КФК и ее МВ изофермент, лактатдегидрогеназа, миоглобин и сердечные тропонины Т и I. В настоящее время определение КФК, лактатдегидрогеназы, и аспаратаминотрансферазы имеет сугубо историческое значение и не должно больше использоваться для диагностики ИМ, в связи с их низкой специфичностью при повреждении сердца и наличием альтернативных, более специфичных и чувствительных лабораторных показателей.

Несмотря на то, что с 2000 года определение тропонинов при ИМ считается более предпочтительным в сравнении с другими возможными лабораторными биомаркерами [1], в тех ситуациях, когда количественное или качественное их определение по каким-либо причинам не может быть выполнено, наилучшей альтернативой является количественное определение КФК-МВ. Хотя КФК – чувствительный маркер повреждения миокарда, она имеет низкую специфичность в связи с ее высокой концентрацией в скелетных мышцах. МВ изофермент КФК в силу своей большей концентрации в кардиомиоцитах, чем в скелетных мышцах, обладает большей чувствительностью и специфичностью по сравнению с КФК. КФК-МВ выделяется в кровь через 2–4 ч, достигает максимума в течение 24 часов после некроза миокарда, и возвращается к нормальным значениям в течение 36–72 часов [42]. Однако КФК-МВ составляет около 1–3% от КФК скелетных мышц, и в незначительных количествах так же присутствует в кишечнике, диафрагме, матке, и простате. Таким образом, специфичность КФК-МВ снижается в условиях тяжелых повреждений этих органов, особенно скелетных мышц [51]. Специфичность этого маркера при диагностике ИМ также не достаточно высока, около 10% пациентов испытывающих боль в грудной клетке с повышенным уровнем КФК-МВ, имеют нормальную концентрацию сердечных тропонинов [28]. В тех ситуациях когда активность КФК-МВ увеличивается на фоне концентрации тропонина ниже 99-го перцентиля

нормального диапазона, следует предположить не кардиальный генез повышения этого биомаркера.

Миоглобин в настоящее время рассматривается как самый ранний маркер некроза миокарда. Поскольку молекулы этого белка имеют небольшой размер, при развитии некроза миокарда концентрации этого белка в крови очень быстро нарастают, достигая максимальных значений в промежутке между 6 и 12 часами после начала симптомов заболевания, затем в течение 24 часов концентрация его снижается за счет быстрого выведения почками. В связи с малой специфичностью этого показателя, сам по себе он не может быть использован в диагностике ИМ, однако, клинические исследования показали высокую эффективность совместного его использования с более специфичными маркерами некроза миокарда (сердечные тропонины или КФК-МВ) для ранней диагностики ИМ [34].

Тропонины Т и I являются структурными белками кардиомиоцитов, преимущественно синтезируются в сердце, и в настоящее время являются «золотым стандартом» в диагностике ИМ [20]. Обнаружение этих белков в периферической крови отражает некроз кардиомиоцитов, а их сочетание с ЭКГ в 12 отведениях и КФК-МВ, позволяет практически полностью подтвердить или исключить диагноз ИМ [45]. У больных ИМ уровень тропонина увеличивается в течение приблизительно 4 часов после появления симптомов заболевания. Содержание тропонина может оставаться повышенным в течение 2 недель вследствие протеолиза сократительного аппарата. Диагностические возможности тропонинов подтверждены исследованиями, в которых показана высокая корреляция между их концентрацией в крови и гистологическими изменениями в миокарде [36]. Однако у тропонинового теста все же имеются недостатки, главными из которых являются их низкая чувствительность в течение первых нескольких часов после начала ИМ, в связи с их медленным высвобождением из поврежденных кардиомиоцитов, а также отсутствие пика концентрации от 6 до 12 ч после появления симптомов заболевания [38]. В связи с повышением чувствительности современных методик определения тропонинов в крови, их низкие уровни могут быть определены как у пациентов со стабильной ишемией [14, 36] так и у здоровых людей [37]. В последние годы появилось много работ, в которых показано повышение уровня сердечных тропонинов при других патологических состояниях развивающихся как вследствие не ишемического повреждения сердца, так и не связанных напрямую с патологическими процессами в сердечнососудистой системе (табл. 1) [45].

Перечисленные выше данные позволяют сделать вывод о том, что в настоящее время не существует абсолютно идеального лабораторного биомаркера для диагностики ИМ. Этот факт является стимулом для поиска более совершенных «субстанций», не имеющих недостатков современных маркеров и обладающих максимально возможной специфичностью и чувствительностью для

Табл. 1. Возможные некоронарные причины повышения уровня тропонинов

• Тахи- или брадиаритмии
• Гипертонический криз
• Тромбоз легочной артерии, тяжелая легочная гипертензия
• Воспалительные заболевания, например миокардит
• Острые неврологические заболевания, включая инсульт и субарахноидальное кровоизлияние
• Расслоение стенки аорты, порок аортального клапана или гипертрофическая кардиомиопатия
• Ушиб сердца, абляция, стимуляция, кардиоверсия или биопсия миокарда
• Гипотиреоз
• Кардиомиопатия такоцубо
• Хроническая и острая почечная дисфункция
• Инфильтративные заболевания, в том числе амилоидоз, гемохроматоз, саркоидоз, склеродермия
Токсическое действие лекарств (адриамицин, 5-фторурацил, герцептин, змеиный яд)
• Ожоги (> 30% площади поверхности тела)
• Рабдомиолиз
• Пациенты в критическом состоянии (особенно дыхательная недостаточность или сепсис)

диагностики этой патологии. Одними из потенциальных биомаркеров ИМ являются микроРибонуклеиновые кислоты (микроРНК).

Определение микроРНК, история открытия, основные особенности и свойства

МикроРНК – это одноцепочечные РНК длиной около 21–23 нуклеотида, которые комплементарно (или частично комплементарно) связываются с матричной РНК (мРНК), что приводит к разрушению этой мРНК или к ингибированию трансляции с нее. Оба эти эффекта приводят, в конечном счете, к снижению содержания белкового продукта гена, то есть к подавлению его экспрессии. Впервые микроРНК охарактеризованы исследовательской группой под руководством V. Ambros из Гарвардского университета в 1993 г. [27]. Они обнаружили мутацию у нематоды *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*), которая приводила к нарушению превращения куколки во взрослое животное. После более чем 10-летнего исследования белка, ответственного за развитие этого феномена, ими открыта малая, не кодирующая РНК, названная *lin-4*, которая необходима для развития фенотипа данной мутации. Несмотря на то, что результаты этих исследований опубликованы в профильных изданиях, отсутствие гомологии с другими видами повлекло за собой предположение о том, что *lin-4* является генетической «причудой» и ее существование ограничено только *C. elegans*. Это мнение существовало до тех пор, пока в 2000 г. у *C. elegans* не обнаружили вторую микроРНК, *let-7*, регулирующую переход от поздней личиночной стадии – к взрослой [41]. В настоящее время микроРНК выявлены у различных организмов. У человека обнаружено более 500 микроРНК, а предполагаемое число кодирующих их генов превы-

шает 1000 [4]. Как фундаментальные, так и клинические исследования показали значение микроРНК в регуляции клеточной дифференцировки, роста, пролиферации и апоптоза [2, 19, 23]. Это влияние микроРНК распространяется и на сердечнососудистую систему. В экспериментах показано их значение как для ее нормального развития [52], так и для формирования патологических состояний, таких как гипертрофия и ремоделирование миокарда, сердечная недостаточность [22, 39, 46, 47, 50]. Не менее интересным является открытие устойчивых характерных ткане-специфических профилей экспрессии микроРНК [25, 43], а также специфической экспрессии определенных видов микроРНК при различных патологических процессах, таких как рак [29], воспаление [33], сердечнососудистые заболевания [6, 11, 25]. Все эти данные вместе с доказанной стабильностью микроРНК в периферической крови [8] и моче [18], делают их потенциально ценными и перспективными биомаркерами для диагностики различных патологических состояний.

Биогенез микроРНК

Биогенез микроРНК можно разделить на два процесса: образование первичного транскрипта (primary transcripts, при-микроРНК) и дальнейшего созревания из него зрелой микроРНК. В ядре клетки при-микроРНК транскрибируется из генов, кодирующих микроРНК посредством РНК полимеразы II, в результате чего образуется первичный транскрипт длиною в несколько тысяч оснований [5], формирующий сложную вторичную структуру из шпилек различного размера и порядка с неполной внутренней комплементарностью. После этого начинается процесс созревания зрелой микроРНК, первым этапом которого является процессинг с помощью фермента DROSHA. DROSHA относится к классу II РНКаз III типа и имеет, кроме двух характерных доменов, также домен связывания с двухцепочечной РНК (дц-РНК) [26].

У человека DROSHA и дц-РНК – связывающий белок DGCR8 образуют белковый комплекс, который осуществляет первый этап созревания микроРНК из при-микроРНК. DGCR8 ингибирует неспецифическую РНК-азную активность DROSHA и способствует правильному созреванию при-микроРНК [17]. Комплекс Drosha/DGCR8 преобразует при-микроРНК в молекулу предшественник микроРНК (preliminary-microRNA, пре-микроРНК), состоящую из 70–100 нуклеотидов и имеющую форму шпильки (hairpin), с 3'-оверхэнгом, то есть двумя неспаренными нуклеотидами на 3'-конце образовавшейся пре-микроРНК, что значительно усиливает ее связывание с белками, отвечающими за ее транспорт в цитоплазму клетки, а также является сигналом для продолжения процессинга ферментом Dicer. Образовавшиеся пре-микроРНК активно транспортируются комплексом RanGTP/EXPORTIN5 из ядра в цитоплазму, который также выполняет функцию их защиты от деградации в ядре [30]. В цитоплазме они подвергаются воздействию другой

РНКазы III, Dicer. Под действием Dicer, пре-микроРНК процессируется в микроРНК-микроРНК*-дуплекс длиною примерно 19–24-нуклеотида с двумя неспаренными нуклеотидами на 3'-концах каждой цепи [40]. Предполагается, что микроРНК-микроРНК*-дуплекс расплетается геликазоподобным ферментом, и затем одна из цепей дуплекса входит в состав рибонуклеопротеиновых эффекторных комплексов RISC (RNA-induced silencing complex, нуклеопротеиновый комплекс, содержащий микроРНК и белки). Согласно текущей модели, выбор цепи определяется стабильностью двух концов дуплекса: та цепь, чей 5'-конец легче раскручивается, будет инкорпорирована в RISC [40]. В ходе этого процесса только одна микроРНК дуплекса становится стабильной зрелой микроРНК, в то время как другая нить подвергается немедленной деградации [40]. Зрелые микроРНК, включенные в состав RISC, действуют как отрицательные регуляторы экспрессии генов посредством трансляционной репрессии или деградации мРНК внутри клетки [47].

МикроРНК как биомаркеры инфаркта миокарда

В начальных клинических исследованиях пытались проверить гипотезу, согласно которой при ИМ в системный кровоток высвобождаются кардиоспецифичные микроРНК. В качестве миокард-специфичных проверялись следующие микроРНК: 1, 133a/b, 208a/b, 499. Экспрессия микроРНК-1, микроРНК-133a/b, обнаружена не только в кардиомиоцитах, но и в клетках скелетных мышц [11]. Несколько исследований показали, что уровни микроРНК-1 увеличены как в экспериментальных животных моделях ИМ так и у пациентов с ИМ [9, 24, 49]. Также установлено, что у людей после ИМ повышается сывороточный уровень микроРНК-133, которая принадлежит к тому же кластеру, что и микроРНК-1 и транскрибируется совместно с ней [12, 13, 24, 49]. Недавние исследования по измерению транскоронарного градиента циркулирующих микроРНК подтвердили кардиальный генез микроРНК-133 в системном кровотоке у пациентов с острым коронарным синдромом [15]. Несколько дополнительных исследований показали, что уровень циркулирующей миозин-специфичной микроРНК-499 так же повышается у пациентов после ИМ [12, 13].

В отличие от перечисленных выше микроРНК, микроРНК-208 практически не определяется в периферическом кровотоке при отсутствии повреждения миокарда, но ее концентрация значительно повышается в экспериментальных моделях ИМ у животных [21, 49], а также у пациентов с ИМ [49]. Эта микроРНК кодируется геном тяжелых цепей миозина и, следовательно, экспрессируется только в кардиомиоцитах [46]. В исследовании 2010 г. показано, что уровень циркулирующей микроРНК-208b у пациентов с ИМ превосходил приблизительно в 1600 раз таковой в группе пациентов с болью в грудной клетке, но с нормальными показателями по результатам ангиографии [12]. В этом же исследовании продемонстрирована прямая корреляционная связь между уровнем микроРНК-

208b и уровнем тропонина Т плазмы крови, что также подтверждало связь повышения уровня этой микроРНК с повреждением миокарда [12]. Однако известны исследования, в которых микроРНК-208a не обнаруживали вообще или ее концентрация в образцах плазмы, полученной от пациентов с ИМ, оказывалась слишком низкой [13] или ее обнаруживали только у некоторых пациентов с ИМ [24]. Скорее всего, расхождение между результатами исследований обусловлено различием в методиках определения микроРНК-208, их малой концентрацией в кровотоке, и необходимостью большего количества РНК, для надежного измерения уровня микроРНК-208 в сыворотке или плазме крови. Кроме того, микроРНК-208 труднее измерить методом полимеразной цепной реакции в сравнении с другими микроРНК, на что указывает сравнение порогового цикла значения различных рекомбинантных микроРНК [16]. Несмотря на то, что все эти исследования указывают на возможную пользу мышечно- и миокард-специфичных микроРНК в качестве потенциальных диагностических биомаркеров для ранней диагностики ИМ, однако до сих пор остается не ясным, какая из них лучше всего подходит для этих целей и, возможно, будет представлять из себя более ценную альтернативу для сердечных тропонинов. В связи с этим проводились исследования, в которых выполняли непосредственное сравнение некоторых микроРНК с установленными маркерами повреждения миокарда. При моделировании ИМ на крысах, после перевязки коронарной артерии концентрация микроРНК -1, микроРНК -133, и микроРНК-208 также увеличивалась [49]. Тем не менее, микроРНК-208 оказалась единственной микроРНК, которая специфично повышалась только в группе людей перенесших ИМ, в то время как концентрации микроРНК-1 и микроРНК-133 также повышались и в группе контроля [49]. Это подтвердило тот факт, что микроРНК -208 специфично высвобождались после повреждения миокарда, а не при любых повреждениях мышц. Интересным является и то, что у пациентов с мышечной дистрофией Дюшена отмечали повышение уровней циркулирующих микроРНК-1 и микроРНК-133 [7], подтверждая гипотезу о том, что повреждения мышц также вызывает высвобождение этих микроРНК. Другая группа ученых в 2010 г. выполняла одновременное сравнение микроРНК-1, микроРНК-133a, микроРНК-499 и микроРНК-208a у 66 пациентов с болью в груди. Ими показана высокая преэмптентность кривой время-концентрация для кардиально-специфичной микроРНК-208a, которая похожа на кривую для уже изученного и надежного показателя, тропонина I, что может свидетельствовать о высокой чувствительности и специфичности этой микроРНК [49]. Еще одна группа в 2010 г. проводила сравнение микроРНК-208a, микроРНК-499, микроРНК-133, и микроРНК-1, по результатам которого показала более высокую специфичность и чувствительность (площади под кривой составили 0,94 и 0,92, соответственно) микроРНК-208 и микроРНК-499 по сравнению с микроРНК-1 и микроРНК-133, концен-

трация которых лишь незначительно увеличивалась у пациентов с ИМ в данном исследовании [12]. В связи с небольшим числом пациентов, включенных в эти исследования, а также, учитывая факт того, что большинство из них сравнивали контрольную группу только с группой пациентов с ИМ, необходимы дополнительные исследования для подтверждения полученных результатов. Более того, будущие исследования должны более точно оценить, насколько любая из вновь выявленных циркулирующих микроРНК является конкурентоспособной по сравнению с уже известными и высоко чувствительными маркерами повреждения сердца.

В настоящее время мало информации о том, могут ли циркулирующие микроРНК служить прогностическим маркером у пациентов с острым коронарным синдромом. В 2011 году группа ученых выполнила первое исследование, в котором проводилось измерение всех 6 микроРНК, экспрессирующихся в мышечной ткани (микроРНК-1, микроРНК -133a, микроРНК -33b, микроРНК -208a, микроРНК -208b, и микроРНК -499) у пациентов с острым коронарным синдромом, где определяли их потенциальное влияние на прогноз. У пациентов с ИМ отмечали значительно более высокие уровни микроРНК-1, микроРНК-133a, и микроРНК-208b по сравнению с пациентами со стабильной стенокардией. Кроме того, уровни исследуемых микроРНК оказались тесно связанными с уровнем сердечного тропонина Т [50]. Одномерный анализ показал, что уровни микроРНК-133a и микроРНК-208b имели высокую связь с риском смерти [50].

Одним из преимуществ, ожидаемых от микроРНК в сравнении с уже установленными биомаркерами, является их более раннее высвобождение в кровоток после повреждения миокарда. В двух экспериментальных исследованиях проводили сравнение кинетики циркулирующих микроРНК с тропонином. Уровни микроРНК, специфично экспрессирующихся в мышцах, оказались повышены уже через 1 час после перевязки коронарной артерии у крыс [49], а уровень микроРНК-499-5p увеличился в 1,7 раза уже через 15 минут после перевязки коронарной артерии у мышей [13]. У человека, микроРНК-1 и микроРНК-133a/b повышались через 156 минут после появления симптомов. В дальнейшем наблюдали их снижение, в то время как уровень микроРНК-499 увеличивался, достигнув максимального уровня примерно через 9 часов после появления симптомов [13]. Однако в связи с большим разнообразием симптомов ИМ у пациентов, эти данные следует воспринимать с осторожностью. Необходимы дальнейшие исследования, например, у больных с ятрогенным повреждением миокарда, таких как транскоронарная абляция гипертрофированной перегородки сердца.

Заключение

По результатам приведенных выше исследований на сегодняшний момент наиболее перспективными

маркерами ИМ все же выглядят микроРНК-208 и микроРНК-499. Несмотря на малую концентрацию микроРНК в периферическом кровотоке, в настоящее время существует множество различных методик как для выделения этих молекул из плазмы, так и последующего количественного определения. Исследование значения микроРНК для развития сердечнососудистой патологии открывает новые возможности в этой проблеме. В настоящее время мы только начинаем понимать вклад этого нового класса генных регуляторов в кардиоваскулярную биологию. На сегодняшний день остается много нерешенных вопросов в понимании механизмов действия отдельных микроРНК как в физиологических условиях, так и при патологических состояниях. Однако большое число открытых микроРНК у человека, а также значительное влияние на сердечнососудистую систему тех из них, функции которых уже известны, позволяет ожидать выявления новых и неожиданных функций от этого нового класса РНК, значимых для регуляции деятельности кардиоваскулярной системы. Не менее важным является определение сигнальных путей, посредством которых реализуются эффекты микроРНК. Все эти вопросы пока остаются открытыми из-за недостаточной значимости полученных результатов проведенных к настоящему времени исследований, что связывают с малым числом включенных в них пациентов. Вполне очевидным является необходимость проведения крупных проспективных исследований, способствующих более глубокому пониманию значения микроРНК для риска развития сердечнососудистой патологии, а также возможности их применения как потенциальных биомаркеров. Необходима дополнительная информация о микроРНК-зависимых механизмах регуляции, и в случае подтверждения существующих в настоящее время гипотез, совершенствование методов диагностики и лечения кардиоваскулярной патологии.

Литература

- Alpert J.S. Myocardial infarction redefined – a consensus document of The Joint European Society of Cardiology/American College of Cardiology Committee for the redefinition of myocardial infarction / J. S. Alpert, K. Thygesen, E. Antman, J. P. Bassand // *Journal of the American College of Cardiology*. – 2000. – Vol. 36. – P. 959–969.
- Ambros V. The functions of animal microRNAs / V. Ambros // *Nature*. – 2004. – Vol. 431, № 7006. – P. 350–355.
- Bassand J.P. Guidelines for the diagnosis and treatment of non – ST – segment elevation acute coronary syndromes / J. P. Bassand, C. W. Hamm, D. Ardissino, E. Boersma, A. Budaj, F. Fernandez – Aviles, et al. // *Revista Portuguesa de Cardiologia*. – 2008. – Vol. 27, № 9. – P. 1063–1143.
- Berezikov E. Phylogenetic shadowing and computational identification of human microRNA genes / E. Berezikov, V. Guryev, J. van de Belt, E. Wienholds, R. H. Plasterk, and E. Cuppen // *Cell*. – 2005. – Vol. 120, № 1. – P. 21–24.
- Borchert G.M. RNA polymerase III transcribes human microRNAs / G. M. Borchert, W. Lanier, B. L. Davidson // *Nature Structural & Molecular Biology*. – 2006. – Vol. 13, № 12. – P. 1097–1101.
- Bostjancic E. MicroRNAs miR – 1, miR – 133a, miR – 133b and miR – 208 are dysregulated in human myocardial infarction / E. Bostjancic, N. Zidar, D. Stajer, D. Glavac // *Cardiology*. – 2010. – Vol. 115, № 3. – P. 163–169.
- Cacchiarelli D. miRNAs as serum biomarkers for Duchenne muscular dystrophy / D. Cacchiarelli, I. Legnini, J. Martone, V. Cazzella, A. D'Amico, E. Bertini, I. Bozzoni // *EMBO Molecular Medicine*. – 2011. – Vol. 3, № 5. – P. 258–265.
- Chen X. Characterization of microRNAs in serum: a novel class of biomarkers for diagnosis of cancer and other diseases / X. Chen, Y. Ba, L. Ma, X. Cai, Y. Yin, K. Wang et al. // *Cell Research*. – 2008. – Vol. 18, № 10. – P. 997–1006.
- Cheng Y. A translational study of circulating cell – free microRNA – 1 in acute myocardial infarction / Y. Cheng, N. Tan, J. Yang, X. Liu, X. Cao, P. He, X. Dong, S. Qin, C. Zhang // *Clinical Science (London)*. – 2010. – Vol. 119, № 2. – P. 87–95.
- Collinson P. O. Early diagnosis of myocardial infarction: why measure cardiac enzymes? / P. O. Collinson // *Journal of Clinical Pathology*. – 1998. – Vol. 51. – P. 2–4.
- Condorelli G. MicroRNAs in heart disease: putative novel therapeutic targets? / G. Condorelli, M. V. Latronico, G.W. Dorn 2nd // *European Heart Journal*. – 2010. – Vol. 31, № 6. – P. 649–658.
- Corsten M.F. Circulating microRNA – 208b and microRNA – 499 reflect myocardial damage in cardiovascular disease / M. F. Corsten, R. Dennert, S. Jochems, T. Kuznetsova, Y. Devaux, L. Hofstra, D. R. Wagner, J. A. Staessen, S. Heymans, B. Schreien // *Circulation Cardiovascular Genetics*. – 2010. – Vol. 3, № 6. – P. 499–506.
- D'Alessandra Y. Circulating microRNAs are new and sensitive biomarkers of myocardial infarction / Y. D'Alessandra, P. Devanna, F. Limana, S. Straino, A. Di Carlo, P. G. Brambilla, M. Rubino, M. C. Carena, L. Spazzafumo, M. De Simone, B. Micheli, P. Biglioli, F. Achilli, F. Martelli, S. Maggolini, G. Marenzi, G. Pompilio, M. C. Capogrossi // *European Heart Journal*. – 2010. – Vol. 31, № 22. – P. 2765–2773.
- de Lemos J.A. Association of troponin T detected with a highly sensitive assay and cardiac structure and mortality risk in the general population / J. A. de Lemos, M. H. Drazner, T. Omland, C. R. Ayers, A. Khera, A. Rohatgi, I. Hashim, J. D. Berry, S. R. Das, D. A. Morrow, D.K. Mc Guire // *Journal of the American Medical Association*. – 2010. – Vol. 304, № 22. – P. 2503–2512.
- De Rosa S. Transcoronary concentration gradients of circulating miRNAs / S. De Rosa, S. Fichtlscherer, R. Lehmann, B. Assmus, S. Dimmeler, A. M. Zeiher // *Circulation*. – 2011. – Vol. 124, № 18. – P. 1936–1944.
- Fichtlscherer S. Circulating microRNAs in patients with coronary artery disease / S. Fichtlscherer, S. De Rosa, H. Fox, T. Schwietz, A. Fischer, C. Liebetrau, M. Weber, C. W. Hamm, T. Rohe, M. Muller-Ardogan, A. Bonauer, A. M. Zeiher, S. Dimmeler // *Circulation Research*. – 2010. – Vol. 107, № 5. – P. 677–684.
- Gregory R. The Microprocessor complex mediates the genesis of microRNAs / R. Gregory, K. Yan, G. Amuthan et al // *Nature*. – 2004. – Vol. 432, № 7014. – P. 235–240.
- Hanke M. A robust methodology to study urine microRNA as tumor marker: microRNA – 126 and microRNA – 82 are related to urinary bladder cancer / M. Hanke, K. Hoefig, H. Merz, A. C. Feller, I. Kausch, D. Jocham, J. M. Warnecke, G. Sczakiel // *Urologic Oncology*. – 2010. – Vol. 28, № 6. – P. 655–661.
- Hwang H.W. MicroRNAs in cell proliferation, cell death, and tumorigenesis / H.W. Hwang and J. T. Mendell // *British Journal of Cancer*. – 2006. – Vol. 94, № 6. – P. 776–780.
- Jaffe A.S. It's time for a change to a troponin standard / A. S. Jaffe, J. Ravkilde, R. Roberts, U. Naslund, F. S. Apple, M. Galvani et al. // *Circulation*. – 2000. – Vol. 102, № 11. – P. 1216–1220.
- Ji X. Plasma miR-208 as a biomarker of myocardial injury / X. Ji, R. Takahashi, Y. Hiura, G. Hirokawa, Y. Fukushima, N. Iwai // *Clinical Chemistry*. – 2009. – Vol. 55, № 11. – P. 1944–1949.
- Ji R. MicroRNA expression signature and antisense – mediated depletion reveal an essential role of microRNA in vascular neointimal lesion formation / R. Ji, Y. Cheng, J. Yue et al. // *Circulation Research*. – 2007. – Vol. 100, № 11. – P. 1579–1588.
- Jovanovic M. miRNAs and apoptosis: RNAs to die for / M. Jovanovic and M.O. Heungartner // *Oncogene*. – 2006. – Vol. 25, № 46. – P. 6176–6187.
- Kuwabara Y. Increased microRNA-1 and microRNA – 133a levels in serum of patients with cardiovascular disease indicate the existence of myocardial damage / Y. Kuwabara, K. Ono, T. Horie, H. Nishi, K. Nagao, M. Kinoshita, S. Watanabe, O. Baba, Y. Kojima, S. Shizuta, M. Imai, T. Tamura, T. Kita, T. Kimura // *Circulation Cardiovascular Genetics*. – 2011. – Vol. 4, № 4. – P. 446–454.
- Lagos – Quintana M. Identification of tissue – specific microRNAs from mouse / M. Lagos-Quintana, R. Rauhut, A. Yalcin, J. Meyer, W. Lendeckel, T. Tuschl // *Current Biology*. – 2002. – Vol. 12, № 9. – P. 735–739.
- Lee Y. The nuclear RNase III Drosha initiates microRNA processing / Y. Lee, C. Ahn, J. Han et al. // *Nature*. – 2003. – Vol. 425, № 6956. – P. 415–419.
- Lee R.C. The C. elegans heterochronic gene lin – 4 encodes small RNAs with antisense complementarity to lin-14 / R. C. Lee, R. L. Feinbaum and V. Ambros // *Cell*. – 1993. – Vol. 75, № 5. – P. 843–854.
- Lin J. Rates of positive cardiac troponin I and creatine kinase MB mass among patients hospitalized for suspected acute coronary syndromes / J. Lin, F. Apple, M. Murakami, R. Luepker // *Clinical Chemistry*. – 2004. – Vol. 50. – P. 333–338.

29. Lu J. MicroRNA expression profiles classify human cancers / J. Lu, G. Getz, E. A. Miska, E. Alvarez-Saavedra, J. Lamb, D. Peck, A. Sweet-Cordero, B. L. Ebert, R. H. Mak, A. A. Ferrando, J. R. Downing, T. Jacks, H. R. Horvitz, T. R. Golub // *Nature*. – 2005. – Vol. 435, № 7043. – P. 834–838.
30. Mishra P.K. MicroRNAs as a therapeutic target for cardiovascular diseases / P. K. Mishra, N. Tyagi, M. Kumar et al. // *Journal of Cellular and Molecular Medicine*. – 2009. – Vol. 13, № 4. – P. 778–789.
31. Myocardial infarction redefined – a consensus document of The Joint European Society of Cardiology / American College of Cardiology Committee for the redefinition of myocardial infarction // *European Heart Journal*. – 2000. – Vol. 21, № 18. – P. 1502–1513.
32. Nawar E.W. National Hospital Ambulatory Medical Care Survey: 2005 emergency department summary / E.W. Nawar, R.W. Niska, J. Xu // *Advance Data*. – 2007. – Vol. 29, № 386. – P. 1–32.
33. O'Connell R.M. MicroRNA – 155 is induced during the macrophage inflammatory response / R. M. O'Connell, K. D. Taganov, M. P. Boldin, G. Cheng, D. Baltimore // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. – 2007. – Vol. 104, № 5. – P. 1604–1609.
34. Ohman E.M. Early detection of acute myocardial infarction: additional diagnostic information from serum concentrations of myoglobin in patients without ST elevation / E.M. Ohman, C. Casey, J.R. Bengtson, D. Pryor, W. Tormey, J.H. Horgan // *British Heart Journal*. – 1990. – Vol. 63. – P. 335–338.
35. Omland T. A sensitive cardiac troponin T assay in stable coronary artery disease / T. Omland, J. A. de Lemos, M. S. Sabatine, C.A. Christophi, M.M. Rice, K.A. Jablonski, S. Tjora, M.J. Domanski, B.J. Gersh, J.L. Rouleau, M.A. Pfeffer, E. Braunwald // *The New England Journal of Medicine*. – 2009. – Vol. 361, № 26. – P. 2538–2547.
36. Ooi D. Correlation of antemortem serum creatine kinase, creatine kinase-MB, troponin I and troponin T with cardiac pathology / D. Ooi, P. Isotalo, J. Veinot // *Clinical Chemistry*. – 2000. – Vol. 46. – P. 338–344.
37. Otsuka T. Association between high – sensitivity cardiac troponin T levels and the predicted cardiovascular risk in middle-aged men without overt cardiovascular disease / T. Otsuka, T. Kawada, C. Ibuki, Y. Seino // *American Heart Journal*. – 2010. – Vol. 159, № 6. – P. 972–978.
38. Panteghini M. The sensitivity of cardiac markers: an evidence – based approach / M. Panteghini, F. Pagani, G. Bonetti // *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*. – 1999. – Vol. 37, № 11–12. – P. 1097–1106.
39. Sayed D. MicroRNAs play an essential role in the development of cardiac hypertrophy / D. Sayed, C. Hong, I. Y. Chen, J. Lypowy, and M. Abdellatif // *Circulation Research*. – 2007. – Vol. 100, № 3. – P. 416–424.
40. Schwarz D. Asymmetry in the assembly of the RNAi enzyme complex / D. Schwarz, G. Hutvagner, T. Du et al. // *Cell*. – 2003. – Vol. 115, № 2. – P. 199–208.
41. Slack F. J. The lin-41 RBCC gene acts in the C. elegans heterochronic pathway between the let – 7 regulatory RNA and the LIN-29 transcription factor / F. J. Slack, M. Basson, Z. Liu, V. Ambros, H. R. Horvitz and G. Ruvkun // *Molecular Cell*. – 2000. – Vol. 5, № 4. – P. 659–669.
42. Sobel B. Serum enzyme determination in the diagnosis and assessment of myocardial infarction / B. Sobel, W. Shell // *Circulation*. – 1972. – Vol. 45. – P. 471–482.
43. Sun Y. Development of a microarray to detect human and mouse microRNAs and characterization of expression in human organs / Y. Sun, S. Koo, N. White et al. // *Nucleic Acids Research*. – 2004. – Vol. 32. – e. 188.
44. Tatsuguchi M. Expression of microRNAs is dynamically regulated during cardiomyocyte hypertrophy / M. Tatsuguchi, H. Y. Seok, T. E. Callis et al. // *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*. – 2007. – Vol. 42, № 6. – P. 1137–1141.
45. Thygesen K. Universal definition of myocardial infarction / K. Thygesen, J.S. Alpert, H.D. White, A.S. Jaffe, F.S. Apple, M. Galvani et al. // *Circulation*. – 2007. – Vol. 116, № 22. – P. 2634–2653.
46. van Rooij E. Control of stress – dependent cardiac growth and gene expression by a microRNA / E. van Rooij, L. B. Sutherland, X. Qi, J. A. Richardson, J. Hill, E.N. Olson // *Science*. – 2007. – Vol. 316, № 5824. – P. 575–579.
47. van Rooij E. A signature pattern of stress – responsive microRNAs that can evoke cardiac hypertrophy and heart failure / E. van Rooij, L. B. Sutherland, N. Liu et al. // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 2006. – Vol. 103, № 48. – P. 18255–18260.
48. Veli K. Topkara. Clinical applications of miRNAs in cardiac remodeling and heart failure / Topkara K. Veli and Mann L. Douglas // *Personalized medicine*. – 2010. – Vol. 7, № 5. – P. 531–548.
49. Wang G.K. Circulating microRNA: a novel potential biomarker for early diagnosis of acute myocardial infarction in humans / G. K. Wang, J. Q. Zhu, J. T. Zhang, Q. Li, Y. Li, J. He, Y. W. Qin, Q. Jing // *European Heart Journal*. – 2010. – Vol. 31, № 6. – P. 659–666.
50. Widera C. Diagnostic and prognostic impact of six circulating microRNAs in acute coronary syndrome / C. Widera, S. K. Gupta, J. M. Lorenzen, C. Bang, J. Bauersachs, K. Bethmann, T. Kempf, K. Wollert, T. Thum // *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*. – 2011. – Vol. 51, № 5. – P. 872–875.
51. Wolf P. Abnormalities in serum enzymes in skeletal muscle diseases / P. Wolf // *American Journal of Clinical Pathology*. – 1991. – Vol. 95. – P. 293–296.
52. Zhao Y. Serum response factor regulates a muscle – specific microRNA that targets Hand2 during cardiogenesis / Y. Zhao, E. Samal and D. Srivastava // *Nature*. – 2005. – Vol. 436, № 7048. – P. 214–220.

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Яковлев Владимир Валерьевич
тел.: +7 (812) 577-11-35, факс: +7 (812) 339-25-13
e-mail: yakovlev-mma@yandex.ru