

Диагностический и прогностический потенциал микроРНК при тромбозах глубоких вен

И.Ф. ГАРЕЕВ, О.А. БЕЙЛЕРЛИ

ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Уфа, Россия

РЕЗЮМЕ

Тромбоз глубоких вен (ТГВ) является распространенным заболеванием, которое имеет серьезное последствие для пациентов — развитие тромбоэмболии легочной артерии (ТЭЛА). За последнее десятилетие были проведены многочисленные исследования по обнаружению надежных биомаркеров для ранней диагностики и прогнозирования ТГВ. МикроРНК (miRNAs) представляют собой эндогенно экспрессируемые молекулы РНК длиной 18–22 нуклеотида, которые подавляют экспрессию генов на посттранскрипционном уровне путем связывания с 3'-нетранслируемой областью (3'UTR) мРНК-мишеней (mRNAs). МикроРНК участвуют практически во всех биологических процессах, включая клеточную пролиферацию, апоптоз и дифференцировку клеток. Известно, что микроРНК играют роль в патофизиологии сердечно-сосудистой системы, включая нарушения гемостаза. Есть доказательства того, что микроРНК секретируются из клеток в биологические жидкости человека как пассивным, так и активным способом. Такие микроРНК получили название циркулирующих. Изменение профиля экспрессии определенных циркулирующих микроРНК отражает физиологическое или патологическое состояние клетки, в которых микроРНК модифицируются и секретируются в биологические жидкости человека, такие как кровь, моча, спинномозговая жидкость, слюна и т.д. Циркулирующие микроРНК могут быть обнаружены в различных формах — заключенными в экзосомы или связанными с белками Ago2. Благодаря данным формам транспорта циркулирующие микроРНК стабильны и защищены от деградирования РНКазой. Поэтому циркулирующие микроРНК рассматриваются как новые потенциальные биомаркеры, представляющие интерес при многих заболеваниях, включая ТГВ. В данной работе анализируется возможность использования циркулирующих микроРНК в качестве диагностических и прогностических биомаркеров ТГВ, а также роль эндогенных микроРНК в нарушении гемостаза.

Ключевые слова: микроРНК, циркулирующий биомаркер, экспрессия, тромбоз.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Гареев И.Ф. — <https://orcid.org/0000-0002-4965-0835>; e-mail: ilgiz_gareev@mail.ru

Бейлерли О.А. — <https://orcid.org/0000-0002-6149-5460>

КАК ЦИТИРОВАТЬ:

Гареев И.Ф., Бейлерли О.А. Диагностический и прогностический потенциал микроРНК при тромбозах глубоких вен. *Флебология*. 2019;13(4):318–324. <https://doi.org/10.17116/flebo201913041318>

Diagnostic and Prognostic Potential of MicroRNA in Deep Vein Thrombosis

I.F. GAREEV, O.A. BEYLERLI

Bashkir State Medical University of the Ministry of Health of the Russia, Ufa, Russia

ABSTRACT

Deep vein thrombosis (DVT) is a common disease that has a serious consequence for patients, such as pulmonary embolism. Over the past decade, numerous studies have been conducted to find reliable biomarkers for early diagnosis and prediction of DVT. MiRNAs are endogenously expressed RNA molecules 18–22 nucleotides in length that suppress gene expression at the post-transcriptional level by binding to the 3'-untranslated region (3'UTR) of mRNA-targets. MicroRNAs are involved into almost all biological processes, including cell proliferation, apoptosis and differentiation. It is known that miRNAs have an essential role in cardiovascular including disorders of hemostasis. There is evidence that miRNAs are secreted from cells in human biological fluids in passive and active fashions. These miRNAs are called circulating. Changes in expression profile of certain circulating miRNAs reflect physiological or pathological cellular state in which miRNAs are modified and secreted into human biological fluids, such as blood, urine, cerebrospinal fluid, saliva, etc. Circulating miRNAs may be detected in various forms (enclosed in exosomes or associated with Ago2 proteins). Thanks to these forms of transport, circulating miRNAs are stable and protected from degradation by RNase. Therefore, circulating miRNAs are considered as new potential biomarkers of interest in many diseases, including DVT. This work is aimed at studying current knowledge about the potential use of circulating miRNAs as diagnostic and prognostic biomarkers of DVT, as well as the role of endogenous miRNAs in impaired hemostasis.

Keywords: microRNA, circulating, biomarker, expression, thrombosis.

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS:

Gareev I.F. — <https://orcid.org/0000-0002-4965-0835>; e-mail: ilgiz_gareev@mail.ru

Beylerli O.A. — <https://orcid.org/0000-0002-6149-5460>

TO CITE THIS ARTICLE:

Gareev IF, Beylerli OA. Diagnostic and Prognostic Potential of MicroRNA in Deep Vein Thrombosis. *Flebologiya*. 2019;13(4):318–324. (In Russ.). <https://doi.org/10.17116/flebo201913041318>

Автор, ответственный за переписку: Гареев И.Ф. — e-mail: ilgiz_gareev@mail.ru

Corresponding author: Gareev I.F. — e-mail: ilgiz_gareev@mail.ru

Введение

Тромбоз глубоких вен (ТГВ) — одна из разновидностей венозных тромбоэмболических расстройств, третья из наиболее распространенных причин смерти от сердечно-сосудистых заболеваний после сердечных приступов и инсульта. У пациентов с ТГВ тромбоэмболия легочной артерии (ТЭЛА), рецидивирующие венозные тромбозы и посттромботический синдром являются основными осложнениями и причинами смерти [1]. Зачастую ТГВ протекает бессимптомно, поэтому прижизненная постановка диагноза затруднена. Считается, что заболеваемость ТГВ составляет 80 случаев на 100 000 населения в год. Риск возникновения ТГВ растет с возрастом, заболевание чаще развивается у лиц старше 40 лет [2].

Ранняя и точная диагностика ТГВ позволяет снизить смертность от его осложнений. Ультрасонография и флебография наиболее часто используются в диагностике ТГВ, в частности после оперативных вмешательств. Ультрасонография имеет определенные ограничения [3]. Контрастная флебография инвазивна и увеличивает риск осложнений, включая отрыв тромба, аллергические реакции и т.д., что также ограничивает ее применение. Поиск неинвазивных методов диагностики ТГВ в настоящее время сохраняет актуальность.

Недавние исследования показали, что биомаркеры, включая С-реактивный белок (CRP), D-димер и интерлейкин-6 (IL-6), могут представлять ценность при ранней диагностике ТГВ [3, 4]. МикроРНК (miRNAs) являются эндогенными и некодирующими одноцепочечными РНК, состоящими из 18–22 нуклеотидов, которые ингибируют экспрессию генов, способствуя деградации их мРНК-мишеней (mRNAs) или ингибированию трансляции [5]. Доказано, что микроРНК играют существенную роль в различных биологических процессах, включая клеточный цикл, апоптоз, пролиферацию и дифференцировку, регулируя экспрессию около 90% всех генов человека [5]. Большая часть микроРНК экспрессированы внутри самих клеток. Однако во многих биологических жидкостях организма человека были обнаружены многочисленные микроРНК, называемые циркулирующими микроРНК [6]. Циркулирующие микроРНК могут быть секретированы из клеток в биологические жидкости человека в микровезикулах (экзосомах) или могут быть связаны с белками Ago2 [6]. Такие микроРНК устойчивы к воздействию нуклеаз, что делает их потенциальными биомаркерами. Профиль экспрессии циркулирующих микроРНК значительно изменяется (происходят aberrация или дерегулирование) при различных патологических состояниях и отличается от такового в здоровом организме.

Аберрантная экспрессия при ТГВ привлекла внимание исследователей. Обнаруженные изме-

нения экспрессии микроРНК при ТГВ позволяют предположить возможность создания новых диагностических и прогностических маркеров. Анализ генов-мишеней микроРНК мог бы открыть новые горизонты в понимании патогенеза, диагностике и лечении ТГВ. В этой работе мы рассматриваем изменения экспрессии микроРНК и их целевых генов при ТГВ для лучшего понимания их функций и в целях использования их свойств в клинической практике.

МикроРНК и гемостаз

Согласно данным литературы, микроРНК контролируют экспрессию нескольких ключевых факторов гемостаза (биогенез и функцию тромбоцитов, факторы свертываемости, антикоагулянтные механизмы и фибринолиз), это указывает на то, что дисрегуляция этих микроРНК может привести к нарушению гемостатического баланса и, соответственно, повышенному тромбообразованию или кровотечению.

Обнаружено, что в клеточной линии HuH-7 гепатоцеллюлярной карциномы происходит активация эндогенной miR-494-3p после терапии β-эстрадиолом (E2), что связано с прямым подавлением экспрессии белка S как на транскрипционном, так и на посттранскрипционном уровне [7]. В исследовании [8] показано, что miR-494-3p нацелен на множество генов-мишеней, включая киназные сигнальные молекулы, факторы транскрипции, регуляторы клеточного цикла, мембранные рецепторы, медиаторы воспаления и регуляторы репликации ДНК. В дополнение ко всему miR-494-3p нацелена на белок S, а miR-27 непосредственно подавляет экспрессию α-ингибитора пути тканевого фактора (TFPI) в клеточных линиях MCF-7 рака молочной железы, что доказывает протромботическую активность miR-27 и miR-494-3p [9].

Тканевый фактор (TF) является решающим фактором инициации коагуляции, и его сверхэкспрессия широко изучалась при онкологических заболеваниях человека, связанных с коагулопатией. Таким образом, неудивительно, что при активном изучении микроРНК-контроля TF было обнаружено, что 7 микроРНК непосредственно ингибируют экспрессию TF и проявляют активность в различных клеточных линиях опухолей. В частности, в клеточных линиях рака молочной железы miR-19 непосредственно контролирует экспрессию TF, а другие члены семейства данной микроРНК, miR-19a и miR-19b, ингибируют TF в клетках рака толстой кишки, а также эндотелиальных клетках и моноцитах соответственно [10–12]. Кроме того, S. Li и соавт. установили, что под влиянием miR-223 с повышенной экспрессией происходит снижение экспрессии TF и ингибирование экспрессии фактора некроза опухоли-α (TNF-α) *in vitro* и *in vivo*. Это исследование демонстрирует miR-223-опосредованное подавление экс-

прессии TF, указывая на новый молекулярный механизм контроля каскада коагуляции и предлагая новые подходы к подавлению [13]. Зависимость между miR-93, miR-106 и TF была замечена в клетках лейомиом, где подавление уровней экспрессии miR-93 и miR-106 и связанное с этим увеличение экспрессии TF способствовали воспалительным и обменным процессам в клетках опухоли [14]. Показано, что в эндотелиальных клетках микроциркуляторного русла человека miR-19a и miR-126 модулируют тромбогенность эндотелия посредством прямого ингибирования экспрессии и активности TF [15]. Изменения в уровнях экспрессии miR-19a и miR-126 были вызваны воспалительным стимулом TNF- α . Так выглядит механизм, опосредованный микроРНК, и стимулирующий тромбогенез при аутоиммунных нарушениях, таких как антифосфолипидный синдром (АФС). В моноцитах пациентов с АФС и системной красной волчанкой (СКВ) наблюдали значительно меньшие уровни экспрессии эндогенных miR-19b и miR-20a, чем у здоровых людей, при этом эти уровни обратно коррелировали с уровнем TF в соответствующих моноцитах. Таким образом, наблюдения показали роль miR-19b и miR-20a в состоянии гиперкоагуляции, наблюдаемом у пациентов с АФС и СКВ. Также обнаружено, что активация или ингибирование miR-20a в клетках THP-1 (моноцитарная клеточная линия человека, полученная от пациентов с острой моноцитарной лейкемией) влияли на прокоагулянтную активность на поверхности клеток [16]. Для микроРНК также была идентифицирована связь с ингибитором активатора плазминогена-1 (PAI-1), ключевого модулятора фибринолитического пути [17]. Недавно было выявлено увеличение экспрессии PAI-1 и образование тромбов, связанное с уменьшением экспрессии miR-30c у пациентов с сахарным диабетом 2-го типа [18]. Образование фибрина может находиться под контролем miR-409-3p, которая была идентифицирована через скрининг библиотеки микроРНК (miRNA library screen) в клетках HuH-7, непосредственно нацелена на изменение экспрессии β -полипептида фибриногена (FGB). При сверхэкспрессии miR-409-3p происходит уменьшение образования фибриногена в клетках HuH-7 [19]. Эти данные свидетельствуют о том, что рост и устойчивость тромбов могут быть подвержены микроРНК-опосредованной регуляции фибринолиза через PAI-1 и синтеза фибриногена.

МикроРНК и ТГВ

В настоящее время молекулярные механизмы патогенеза ТГВ изучены не полностью, что значительно ограничивает создание новых диагностических и прогностических маркеров ТГВ. Поэтому для оценки диагностического потенциала опеределения циркулирующих микроРНК важно понимать механиз-

мы влияния эндогенных микроРНК на патогенез ТГВ.

Процесс лизиса тромба и восстановление венозной стенки связаны с провоспалительными цитокинами, хемокинами и лейкоцитами. В своей работе С. Вао и соавт. [20] исследовали количество воспалительных клеток в стенке вен крыс с моделированным ТГВ нижних конечностей. Экспрессия PAI-1 повысилась одновременно с повышением количества воспалительных клеток, что указывает на то, что экспрессия PAI-1 влияет на воспалительный процесс при ТГВ. PAI-1 является ключевым ингибитором фибринолиза и играет важную роль в воспалительном процессе. В ходе эксперимента было обнаружено, что miR-335-5p подавляет экспрессию PAI-1 посредством ингибирования сигнального пути Toll-подобного рецептора 4 (TLR4) *in vivo*, важного компонента повреждения сосудистой стенки в условиях воспаления. Это указывает на то, что эта микроРНК может подавлять развитие и прогрессирование ТГВ. Q. Meng и соавт. [21] также обнаружили снижение экспрессии miR-495 в периферической крови пациентов с ТГВ, а применение miR-495 mimic (мимики или mimics — синтетические олигонуклеотиды, повышающие экспрессию целевой микроРНК) ингибировало тромбообразование в глубоких венах нижних конечностей посредством подавления STAT3 (преобразователь сигналов и активатор транскрипции 3) *in vivo*. STAT3 играет важную роль в окислительном стрессе, в клеточных функциях (кардиомиоциты, эндотелиальные клетки, клетки-предшественники) и ангиогенезе. В других работах было показано, что miR-126 и miR-483-3p способствуют реканализации тромбированных вен эндотелиальными клетками-предшественниками посредством подавления экспрессии генов *PIK3R2* и *SRF in vitro* и *in vivo*. MiR-126 и miR-483-3p могут представлять собой потенциальные маркеры, значимые при диагностике, прогнозировании и определении возможных терапевтических мишеней у пациентов с ТГВ, но все это требует дальнейших исследований [21, 22].

Накопленные в последние годы знания свидетельствуют о том, что ТГВ тесно связан с фиброзным ремоделированием стенок вен, которое заключается в переключении фенотипа сосудистых гладкомышечных клеток (СГМК) с сократительного на синтетический, с пролиферацией СГМК, осаждением коллагена и повреждением внеклеточного матрикса (ВКМ) матриксными металлопротеиназами (ММР). Совсем недавно участие ММР вместе с ингибиторами металлопротеиназ в механизме ТГВ признано значимым и активно обсуждается. Например, K. Deatrick и соавт. [23] обнаружили, что у мышей с ТГВ, у которых отсутствует или снижена экспрессия ММР-9, увеличивается экспрессия TNF, белка хемоаттрактанта моноцитов 1 и PAI, в то время как экспрессия коллагена, IL-1 и TGF в стенке вен уменьша-

лась. Это указывает на то, что ММР-9 может играть роль в развитии фиброза стенки вены после ТГВ [23]. МикроРНК также контролируют экспрессию ММР. Кроме того, S. Francis и соавт. [24] сообщили, что высокий уровень ММР в плазме, включая ММР-1, -2, -3, -7, -8 и -9, наблюдали у пациентов с острым ТГВ и установили, что ММР и контролирующие их микроРНК могут быть специфическими биомаркерами ТГВ. В исследованиях P. Ai и соавт. [25] наблюдалось снижение экспрессии miR-411, в то время как экспрессия индуцируемого гипоксией фактора-1 α (HIF-1 α), а также экспрессия ММР-2 были увеличены в стенках вен и соответствующих СГМК, полученных от крыс с ТГВ. HIF-1 α играет важную роль в клеточной пролиферации, миграции и дифференцировке, вазоконстрикции или вазодилатации, деградации ВКМ и ангиогенезе. Также был применен miR-411 mimic, где результат ясно показал, что miR-411 подавляет фиброз стенки вены при ТГВ у крыс.

Эндотелиальный оксид азота (NO) регулирует ряд физиологических процессов, таких как адгезия и агрегация тромбоцитов, что может повлиять на склонность или устойчивость к тромбозу. Имеются данные о том, что уровень экспрессии эндотелиальной синтазы оксида азота (NOS₃), которая играет важную роль в синтезе NO, был значительно снижен в клеточных линиях MVEC (культивированные эндотелиальные клетки микрососудистого русла) под воздействием сверхэкспрессии miR-195 и miR-582. Ингибирование miR-195 и miR-582 antagomirs (антагомиры — синтетические олигонуклеотиды, ингибирующие целевую микроРНК) в эндотелиальных клетках могло способствовать повышению экспрессии NOS₃, что указывает на то, что эндогенные miR-195 и miR-582 подавляли экспрессию NOS₃. То есть miR-195 и miR-582 вызывают дисфункцию эндотелия и, регулируя сосудистый гомеостаз, в конце концов могут привести к тромбообразованию в артериях и венах [26].

Эти исследования содержат информацию о взаимосвязи микроРНК с их генами-мишенями при ТГВ, что дает основу для будущих исследований микроРНК как биомаркеров и терапевтических мишеней.

Циркулирующие микроРНК как биомаркеры

В многочисленных исследованиях предпринимались попытки найти точные и ранние диагностические лабораторные биомаркеры при ТГВ. Однако на сегодняшний день плазменный D-димер является единственным хорошо зарекомендовавшим себя и клинически применимым биомаркером для идентификации ТГВ. Тест D-димера отражает уровень деградации фибрина. Отрицательный результат D-димера является убедительным доказательством для исключения ТГВ, но положительный резуль-

тат имеет низкую специфичность и низкое положительное прогностическое значение для диагностики ТГВ [27]. Концентрация D-димера также может быть повышена при нетромботических нарушениях, включая диссеминированное внутрисосудистое свертывание (ДВС-синдром), инфекцию и инсульт [28]. В последние годы одним из наиболее перспективных новых биомаркеров называют растворимый P-селектин, который имеет более высокую специфичность, чем D-димер, в диагностике ТГВ [29]. Но все же D-димер и P-селектин отдельно или в комбинации не обладают высокой чувствительностью или специфичностью при диагностике ТГВ.

МикроРНК в качестве биомаркеров ТГВ менее изучены, хотя циркулирующие микроРНК могут оказаться более чувствительными и точными в диагностике ТГВ. За последнее время проведен ряд исследований, показавших, что циркулирующие микроРНК более предпочтительны в качестве биомаркеров, поскольку высокостабильны в биологических жидкостях человека, таких как кровь, могут быть обнаружены на ранних этапах развития заболевания, тогда как белковые структуры обнаруживают в крови только тогда, когда повреждение уже произошло. Кроме того, они играют роль практически во всех клеточных функциях [30, 31].

В своей работе Z. Li и J. Ni [32] продемонстрировали снижение экспрессии miR-26a в периферической крови пациентов с травмами костей и диагностированным ТГВ нижних конечностей. Кроме того, результаты настоящего исследования на клеточных культурах HUVECs (эндотелиальные клетки пупочной вены человека) показали, что miR-26a нацелена на протеинкиназу C-дельта (PRKCD) и ингибирует активацию сигнального пути ядерного фактора каппа-B (NF- κ B), тем самым подавляя экспрессию цитокинов CCL2 (C-C motif ligand 2) и CCL7 (C-C motif ligand 7), ослабляя местный воспалительный ответ. Предыдущие результаты показали, что PRKCD активирует путь сигнала NF- κ B и способствует экспрессии и высвобождению CCL2 и CCL7, которые способны рекрутировать воспалительные клетки при определенных поражениях, способствуя выделению местных воспалительных факторов, и усугублять воспалительный ответ [33, 34]. X. Wang и соавт. [35] обнаружили, что среди исследуемых 13 микроРНК в плазме крови экспрессия miR-424-5p была значительно выше, тогда как уровни экспрессии miR-136-5p были значительно ниже у пациентов с ТГВ по сравнению с пациентами без ТГВ. Уровень экспрессии циркулирующей miR-424-5p был связан с гиперкоагуляцией. Роль miR-136-5p и miR-424-5p в механизме ТГВ не была полностью понятна. Предыдущее исследование [36] показало, что miR-424 регулирует важные клеточные функции, включая дифференцировку, пролиферацию, клеточный цикл. Сообщалось, что miR-424 активируется

после повреждения сосудистой стенки, а также регулирует ангиогенные факторы эндотелия путем нацеливания на рецептор-2 фактора роста эндотелия сосудов (VEGFR-2) и рецептор фактора роста фибробластов-1 (FGFR-1). Сверхэкспрессия miR-424 может уменьшить пролиферацию, миграцию эндотелиоцитов и формирование капиллярной трубки [37]. Как известно, регенерация и васкулогенез эндотелиоцитов способствуют образованию и разрешению тромбов. Изменение уровня экспрессии miR-424 при ТГВ соответствует его биологической функции.

В работе J. Qin и соавт. [38] систематически измеряли концентрацию 3 циркулирующих микроРНК (miR-582, miR-195 и miR-532) в сыворотке у пациентов с ТГВ после ортопедического хирургического вмешательства в контрольной группе. Было обнаружено, что экспрессия этих микроРНК была значительно повышена в сыворотке у пациентов с ТГВ. Кроме того, анализ кривой ROC показал сильную взаимосвязь между тремя микроРНК и ТГВ. Кроме того, X. Xie и соавт. [39] продемонстрировали связь между циркулирующей miR-96 и D-димером в плазме у пациентов с ТГВ после ортопедического вмешательства. Увеличенные уровни экспрессии miR-96 коррелировали с уровнями D-димера в плазме у пациентов с ТГВ после операции. Однако, хотя уровни экспрессии miR-96 были также увеличены в группе пациентов без ТГВ после операции, уровни экспрессии miR-96 не коррелировали с уровнями D-димера плазмы. Одновременное обнаружение повышенных уровней экспрессии miR-96 и D-димера может способствовать более точной диагностике ТГВ после операций.

В исследовании Z. Jiang и соавт. [40] была обнаружена высокая экспрессия циркулирующей miR-320b в плазме у пациентов с ТГВ по сравнению со здоровыми людьми. Анализ ROC-кривой показал, что циркулирующая miR-320b имеет диагностический потенциал с точностью 79% (чувствительность 69% и специфичность 90%) при ТГВ. Кроме того, повышенный уровень miR-320b в плазме коррелировал с уровнем D-димера. Примечательно, что семейство эндогенной miR-320 наиболее экспрессировано в тромбоцитах человека, тогда как циркулирующая miR-320b могла быть, возможно, через экзосомы перенесена в эндотелиальные клетки с контролем экспрессии молекул межклеточной адгезии 1-го типа (ICAM-1), что указывает на потенциальную роль действующих внеклеточных коммуникаций [41].

Прогностическая роль микроРНК

ТЭЛА, являясь серьезным осложнением ТГВ, относится к числу частых неотложных состояний и остается важной медицинской проблемой. Ранняя диагностика, основанная на изучении изменения экспрессии циркулирующих микроРНК, позволяет своевременно начать терапию и значительно улуч-

шить прогноз больных с ТГВ. Ранее опубликованные исследования показали, что микроРНК могут быть потенциальными биомаркерами для диагностики ТЭЛА. Исследование X. Zhou и соавт. [42] продемонстрировало, что циркулирующая miR-28-3p в плазме у пациентов с ТЭЛА может использоваться в качестве неинвазивного и стабильного диагностического биомаркера. J. Xiao и соавт. [43] показали, что уровень экспрессии miR-134 в плазме был значительно повышен у пациентов с ТЭЛА по сравнению со здоровой контрольной группой, это указывает на то, что циркулирующая miR-134 может быть предиктором ТЭЛА у пациентов с ТГВ. Результаты другого исследования [44] показали, что количество циркулирующей miR-221 в плазме было также значительно увеличено у пациентов с ТЭЛА по сравнению со группой здоровых людей. Однако эти предварительные результаты требуют дальнейших исследований с более крупными выборками. В своей работе T. Kessler и соавт. [45] показали повышенный уровень экспрессии miR-1233 в сыворотке у пациентов с ТЭЛА по сравнению с контрольной группой. Они продемонстрировали, что высокий уровень экспрессии циркулирующей miR-1233 позволяет с высокой специфичностью (100%) и чувствительностью (90%) отличить пациентов с ТЭЛА от пациентов с острым инфарктом миокарда без подъема сегмента ST и от здоровых людей. Следовательно, этот параметр является многообещающим маркером для точной диагностики ТЭЛА. Концентрации циркулирующих miR-27a и miR-27b в плазме были значительно выше у пациентов с ТЭЛА по сравнению с контрольной группой. Анализ кривой ROC (AUC) для miR-27a и miR-27b у этих пациентов показал значения 0,784 и 0,707 соответственно. Комбинация miR-27a или miR-27b с D-димером значительно увеличивала диагностическую способность этого маркера при ТЭЛА [46].

Выводы

В исследованиях последних нескольких лет показано, что микроРНК служат модуляторами гемостаза. Понимание механизма, с помощью которого микроРНК участвуют в развитии тромбоза, особенно важно, поскольку может быть применено в клинической практике. Циркулирующие микроРНК обладают огромным потенциалом как идеальные биомаркеры для использования в диагностике и прогнозировании венозных тромбозов. Тем не менее существует ряд ограничений, например недостаточное количество исследований, посвященных изучению циркулирующих в крови микроРНК при ТГВ, и небольшие размеры выборок. Другое ограничение проистекает из того, что тромбоз — это динамический процесс, который претерпевает влияние множества факторов, таких как первичные заболевания, время отбора проб и профилактическая антикоагуляция. Следовательно, су-

ществует клинически значимая гетерогенность среди исследуемых. Неизбежно возникают проблемы, связанные с тем, что одна микроРНК может иметь сотни генов-мишеней и один ген может быть мишенью множества микроРНК. Образование тромба в венозной системе является довольно сложным процессом, находящимся под контролем множества микроРНК. Очень важно, но чрезвычайно сложно определить точные механизмы, регулируемые конкретными микроРНК, поэтому необходимы дальнейшие исследования данной проблемы.

Информация о спонсорстве. Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Республики Башкортостан молодым ученым от 5.02.19 №УГ-28.

Financing. The work was carried out with the financial support of the grant of the Republic of Bashkortostan to young scientists dated February 5, 2019.

Участие авторов:

Разработка дизайна исследования — И.Г.

Обзор публикаций — И.Г.

Анализ полученных данных — И.Г.

Написание текста рукописи — И.Г.

Редактирование текста статьи — О.Б.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflict of interest.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- Naringrekar H, Sun J, Ko C, Rodgers SK. It's Not All Deep Vein Thrombosis: Sonography of the Painful Lower Extremity With Multimodality Correlation. *Journal of Ultrasound in Medicine*. 2018. <https://doi.org/10.1002/jum.14776>
- Sharif S, Eventov M, Kearon C, Parpia S, Li M, Jiang R, Sneath P, Fuentes CO, Marriott C, de Wit K. Comparison of the age-adjusted and clinical probability-adjusted D-dimer to exclude pulmonary embolism in the emergency department. *The American Journal of Emergency Medicine*. 2018. <https://doi.org/10.1016/j.ajem.2018.07.053>
- Schaefer JK, Jacobs B, Wakefield TW, Sood SL. New biomarkers and imaging approaches for the diagnosis of deep venous thrombosis. *Acta Pharmacologica Sinica*. 2017;24(3):274-281. <https://doi.org/10.1097/MOH.0000000000000339>
- Park SI, Lee M, Lee MS, Kim MD, Won JY, Lee DY. Single-session aspiration thrombectomy of lower extremity deep vein thrombosis using large-size catheter without pharmacologic thrombolysis. *CardioVascular and Interventional Radiology*. 2014;37:412-419. <https://doi.org/10.1007/s00270-013-0676-1>
- Zhou SS, Jin JP, Wang JQ, Zhang ZG, Freedman JH, Zheng Y, Cai L. MiRNAs in cardiovascular diseases: potential biomarkers, therapeutic targets and challenges. *Acta Pharmacologica Sinica*. 2018;39(7):1073-1084. <https://doi.org/10.1038/aps.2018.30>
- Lianidou E, Pantel K. Liquid Biopsies. *Genes Chromosomes Cancer*. 2018. <https://doi.org/10.1002/gcc.22695>
- Tay JW, Romeo G, Hughes QW, Baker RI. Micro-ribonucleic acid 494 regulation of protein S expression. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. 2013;11(08):1547-1555. <https://doi.org/10.1111/jth.12331>
- Tay J, Tiao J, Hughes Q, Gilmore G, Baker R. Therapeutic potential of miR-494 in thrombosis and other diseases: a review. *Australian Journal of Chemistry*. 2016;69(10):1078-1093. <https://doi.org/10.1071/CH16020>
- Ali HO, Arroyo AB, González-Conejero R, Stavik B, Iversen N, Sandset PM, Martínez C, Skretting G. The role of microRNA-27a/b and microRNA-494 in estrogen-mediated downregulation of tissue factor pathway inhibitor α . *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. 2016;14(06):1226-1237. <https://doi.org/10.1111/jth.13321>
- Zhang X, Yu H, Lou JR, Zheng J, Zhu H, Popescu NI, Lupu F, Lind SE, Ding WQ. MicroRNA-19 (miR-19) regulates tissue factor expression in breast cancer cells. *The Journal of Biological Chemistry*. 2011;286(02):1429-1435. <https://doi.org/10.1074/jbc.M110.146530>
- Yu G, Li H, Wang X, Liu X, Hu C. MicroRNA-19a targets tissue factor to inhibit colon cancer cells migration and invasion. *Molecular and Cellular Biochemistry*. 2013;380(1-2):239-247. <https://doi.org/10.3892/etm.2017.4655>
- Li S, Ren J, Xu N, Zhang J, Geng Q, Cao C, Lee C, Song J, Li J, Chen H. MicroRNA-19b functions as potential antithrombotic protector in patients with unstable angina by targeting tissue factor. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*. 2014;75:49-57. <https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2014.06.017>
- Li S, Chen H, Ren J, Geng Q, Song J, Lee C, Cao C, Zhang J, Xu N. MicroRNA-223 inhibits tissue factor expression in vascular endothelial cells. *Atherosclerosis*. 2014;237(02):514-520. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2014.09.033>
- Chuang TD, Luo X, Panda H, Chegini N. miR-93/106b and their host gene, MCM7, are differentially expressed in leiomyomas and functionally target F3 and IL-8. *Molecular Endocrinology*. 2012;26(06):1028-1042. <https://doi.org/10.1210/me.2012-1075>
- Eisenreich A, Rauch U. Regulation of the Tissue Factor Isoform Expression and Thrombogenicity of HMEC-1 by miR-126 and miR-19a. *Cell Biology: Research and Therapy Journal*. 2013;2(01). <https://doi.org/10.4172/2324-9293.1000101>
- Teruel R, Perez-Sanchez C, Corral J, Herranz MT, Perez-Andreu V, Saiz E, Garcia-Barbera N, Martinez-Martinez I, Roldan V, Vicente V, Lopez-Pedraza C, Martinez C. Identification of miRNAs as potential modulators of tissue factor expression in patients with systemic lupus erythematosus and antiphospholipid syndrome. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. 2011;9:1985-1992. <https://doi.org/10.1111/j.1538-7836.2011.04451.x>
- Andreasen PA. PAI-1 — a potential therapeutic target in cancer. *Current Drug Targets*. 2007;8(09):1030-1041.
- Luo M, Li R, Ren M, Chen N, Deng X, Tan X, Li Y, Zeng M, Yang Y, Wan Q, Wu J. Hyperglycaemia-induced reciprocal changes in miR-30c and PAI-1 expression in platelets. *Scientific Reports*. 2016;6:36687. <https://doi.org/10.1038/srep36687>
- Fort A, Borel C, Migliauacca E, Antonarakis SE, Fish RJ, Neerman-Arbez M. Regulation of fibrinogen production by microRNAs. *Blood*. 2010;116(14):2608-2615.
- Bao CX, Zhang DX, Wang NN, Zhu XK, Zhao Q, Sun XL. MicroRNA-335-5p suppresses lower extremity deep venous thrombosis by targeted inhibition of PAI-1 via the TLR4 signaling pathway. *Journal of Cellular Biochemistry*. 2018;119(6):4692-4710. <https://doi.org/10.1002/jcb.26647>
- Meng Q, Wang W, Yu X, Li W, Kong L, Qian A, Li C, Li X. Upregulation of MicroRNA-126 Contributes to Endothelial Progenitor Cell Function in Deep Vein Thrombosis via Its Target PIK3R2. *Journal of Cellular Biochemistry*. 2015;116:1613-1623. <https://doi.org/10.1002/jcb.25115>
- Kong L, Hu N, Du X, Wang W, Chen H, Li W, Wei S, Zhuang H, Li X. Upregulation of miR-483-3p contributes to endothelial progenitor cells

- dysfunction in deep vein thrombosis patients via SRF. *Journal of Translational Medicine*. 2016;14:23.
https://doi.org/10.1186/s12967-016-0775-2
23. Deatrick KB, Obi A, Luke CE, Elflin MA, Sood V, Upchurch GR Jr, Jaffer F, Wakefield TW, Henke PK. Matrix metalloproteinase-9 deletion is associated with decreased mid-term vein wall fibrosis in experimental stasis DVT. *Thrombosis Research*. 2013;132(3):360-366.
https://doi.org/10.1016/j.thromres.2013.06.027
 24. Franciscis S, Gallelli L, Amato B, Butrico L, Rossi A, Buffone G, Calì FG, De Caridi G, Grande R, Serra R. Plasma MMP and TIMP evaluation in patients with deep venous thrombosis: could they have a predictive role in the development of post-thrombotic syndrome? *International Wound Journal*. 2016;13(6):1237-1245.
https://doi.org/10.1111/iwj.12489
 25. Ai P, Shen B, Pan H, Chen K, Zheng J, Liu F. MiR-411 suppressed vein wall fibrosis by downregulating MMP-2 via targeting HIF-1 α . *Journal of Thrombosis and Thrombolysis*. 2018;45(2):264-273.
https://doi.org/10.1007/s11239-017-1596-8
 26. Qin JZ, Wang SJ, Xia C. MicroRNAs regulate nitric oxide release from endothelial cells by targeting NOS3. *Journal of Thrombosis and Thrombolysis*. 2018;46(3):275-282.
https://doi.org/10.1007/s11239-018-1684-4
 27. Schaefer JK, Jacobs B, Wakefield TW, Sood SL. New biomarkers and imaging approaches for the diagnosis of deep venous thrombosis. *Current Opinion in Hematology*. 2017;24:274-281.
https://doi.org/10.1097/MOH.0000000000000339
 28. Hollenhorst MA, Battinelli EM. Thrombosis, hypercoagulable states, and anticoagulants. *Primary Care*. 2016;43:619-635.
https://doi.org/10.1016/j.pop.2016.07.001
 29. Zhang C, Fu Q, Zhao Y, Mu S, Liu L. Short-term anticoagulant therapy and thrombus location are independent risk factors for delayed recanalization of deep vein thrombosis. *Medical Science Monitor*. 2016;22:219-225.
 30. Robinson S, Follo M, Haenel D, Mauler M, Stallmann D, Tewari M, Duerschmied D, Peter K, Bode C, Ahrens I, Hortmann M. Droplet digital PCR as a novel detection method for quantifying microRNAs in acute myocardial infarction. *International Journal of Cardiology*. 2018;257:247-254.
https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2017.10.111
 31. Stoicea N, Du A, Lakis DC, Tipton C, Arias-Morales CE, Bergese SD. The MiRNA Journey from Theory to Practice as a CNS Biomarker. *Front Genet*. 2016; 7(11).
https://doi.org/10.3389/fgene.2016.00011
 32. Li Z, Ni J. Role of microRNA-26a in the diagnosis of lower extremity deep vein thrombosis in patients with bone trauma. *Experimental and Therapeutic Medicine*. 2017;14(5):5069-5074.
https://doi.org/10.3892/etm.2017.5183
 33. Bauer D, Redmon N, Mazzio E, Taka E, Reuben JS, Day A, Sadrud-Din S, Flores-Rozas H, Soliman KF, Darling-Reed S. Diallyl disulfide inhibits TNF- α induced CCL2 release through MAPK/ERK and NF-Kappa-B signaling. *Cytokine*. 2015;75:117-126.
https://doi.org/10.1016/j.cyt.2014.12.007
 34. Haghikia A, Ricke-Hoch M, Stapel B, Gorst I, Hilfiker-Kleiner D, Stat3, a key regulator of cell-to-cell communication in the heart. *Cardiovascular Research*. 2014;102:281-289.
https://doi.org/10.1093/cvr/cvu034
 35. Wang X, Sundquist K, Elf JL, Strandberg K, Svensson PJ, Hedelius A, Palmer K, Memon AA, Sundquist J, Zöller B. Diagnostic potential of plasma microRNA signatures in patients with deep-vein thrombosis. *Thrombosis and Haemostasis*. 2016;116(2):328-336.
https://doi.org/10.1160/TH16-01-0071
 36. Sarkar S, Dey BK, Dutta A. MiR-322/424 and -503 are induced during muscle differentiation and promote cell cycle quiescence and differentiation by downregulation of Cdc25A. *Molecular Biology of the Cell*. 2010;21:2138-2149.
https://doi.org/10.1091/mbc.E10-01-0062
 37. Chamorro-Jorganes A, Araldi E, Penalva LO, Sandhu D, Fernández-Hernando C, Suárez Y. MicroRNA-16 and microRNA-424 regulate cell-autonomous angiogenic functions in endothelial cells via targeting vascular endothelial growth factor receptor-2 and fibroblast growth factor receptor-1. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 2011;31:2595-2606.
https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.111.236521
 38. Qin J, Liang H, Shi D, Dai J, Xu Z, Chen D, Chen X, Jiang Q. A panel of microRNAs as a new biomarkers for the detection of deep vein thrombosis. *Journal of Thrombosis and Thrombolysis*. 2015;39(2):215-221.
https://doi.org/10.1007/s11239-014-1131-0
 39. Xie X, Liu C, Lin W, Zhan B, Dong C, Song Z, Wang S, Qi Y, Wang J, Gu Z. Deep vein thrombosis is accurately predicted by comprehensive analysis of the levels of microRNA-96 and plasma D-dimer. *Experimental and Therapeutic Medicine*. 2016;12(3):1896-900.
https://doi.org/10.3892/etm.2016.3546
 40. Jiang Z, Ma J, Wang Q, Wu F, Ping J, Ming L. Combination of Circulating miRNA-320a/b and D-Dimer Improves Diagnostic Accuracy in Deep Vein Thrombosis Patients. *Medical Science Monitor*. 2018;24:2031-2037.
https://doi.org/10.12659/MSM.906596
 41. Gidlöf O, van der Brug M, Ohman J, Gilje P, Olde B, Wahlestedt C, Erlinge D. Platelets activated during myocardial infarction release functional miRNA, which can be taken up by endothelial cells and regulate ICAM1 expression. *Blood*. 2013;121:3908-3917:S1-S26.
 42. Zhou X, Wen W, Shan X, Qian J, Li H, Jiang T, Wang W, Cheng W, Wang F, Qi L, Ding Y, Liu P, Zhu W, Chen Y. MiR-28-3p as a potential plasma marker in diagnosis of pulmonary embolism. *Thrombosis Research*. 2016; 138:91-95.
https://doi.org/10.1016/j.thromres.2015.12.006
 43. Xiao J, Jing ZC, Ellinor PT, Liang D, Zhang H, Liu Y, Chen X, Pan L, Lyon R, Liu Y, Peng LY, Liang X, Sun Y, Popescu LM, Condorelli G, Chen YH. MicroRNA-134 as a potential plasma biomarker for the diagnosis of acute pulmonary embolism. *Journal of Translational Medicine*. 2011;9:159.
https://doi.org/10.1186/1479-5876-9-159
 44. Tingwei Liu Jian Kang Fan Liu. Plasma Levels of microRNA-221 (miR-221) are Increased in Patients with Acute Pulmonary Embolism. *Medical Science Monitor*. 2018;24:8621-8626.
https://doi.org/10.12659/MSM.910893
 45. Kessler T, Erdmann J, Vilne B, Bruse P, Kurowski V, Diemert P, Schunkert H, Hendrik B. Serum microRNA-1233 is a specific biomarker for diagnosing acute pulmonary embolism. *Journal of Translational Medicine*. 2016;14:120.
https://doi.org/10.1186/s12967-016-0886-9
 46. Wang Q, Ma J, Jiang Z, Wu F, Ping J, Ming L. Diagnostic value of circulating microRNA-27a/b in patients with acute pulmonary embolism. *International Angiology*. 2018;37(1):19-25.
https://doi.org/10.23736/S0392-9590.17.03877-9

Поступила 26.11.18

Received 26.11.18

Принята к печати 18.02.19

Accepted 18.02.19

ВЕНАРУС®

ВАРИКОЗ ПОД КОНТРОЛЕМ

- способствует повышению тонуса вен¹
- способствует снятию основных симптомов варикоза: тяжести в ногах, отёков, боли
- курс лечения до 12 месяцев¹



1. Инструкция по медицинскому применению препарата «Венарус»

Рег. № ЛП-003501

Р-01-112019

www.venarus.ru

на всех стадиях венозной недостаточности

СООТВЕТСТВУЕТ ТРЕБОВАНИЯМ GMP

ИНФОРМАЦИЯ ПРЕДНАЗНАЧЕНА ДЛЯ МЕДИЦИНСКИХ И ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ РАБОТНИКОВ

alium