

DOI: 10.15825/1995-1191-2020-1-26-34

УРОВЕНЬ ЭКСПРЕССИИ МИКРОРНК В РАННИЕ И ОТДАЛЕННЫЕ СРОКИ ПОСЛЕ ТРАНСПЛАНТАЦИИ У РЕЦИПИЕНТОВ СЕРДЦА

Д.А. Великий¹, О.Е. Гичкун^{1, 2}, С.О. Шарипченко¹, О.П. Шевченко^{1, 2},
А.О. Шевченко^{1, 2, 3}

¹ ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Минздрава России, Москва, Российская Федерация

² ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский университет), Москва, Российская Федерация

³ ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва, Российская Федерация

Цель: провести сравнительный анализ уровня экспрессии микроРНК-101, микроРНК-142, микроРНК-27, микроРНК-339 и микроРНК-424 у пациентов с тяжелой хронической сердечной недостаточностью и реципиентов сердца в ранние и отдаленные сроки после трансплантации и определить связь с острым отторжением трансплантата. **Материалы и методы.** В исследование включены 46 реципиентов сердца, среди них 36 (78,3%) мужчин (средний возраст реципиентов составил $47,7 \pm 10,8$ (от 16 до 67) года) и 12 пациентов с терминальной стадией хронической сердечной недостаточности, среди них 8 (66,7%) мужчин (средний возраст пациентов составил $46,1 \pm 6,4$ (от 37 до 64) года). Группу сравнения составили 12 здоровых лиц, значимо не отличающихся по полу и возрасту. Уровень экспрессии микроРНК в плазме крови определялся методом количественной полимеразной цепной реакции (ПЦР). Верификацию отторжения трансплантата проводили на основании морфологического исследования образцов эндомикардиальных биоптатов. **Результаты.** Установлены достоверно более высокие показатели экспрессии микроРНК-101, микроРНК-27, микроРНК-339 и микроРНК-424 в плазме крови у пациентов с терминальной стадией хронической сердечной недостаточности по сравнению со здоровыми лицами ($p < 0,02$). В ранние сроки после трансплантации у реципиентов сердца уровень экспрессии микроРНК-101 и микроРНК-27 был достоверно ниже, чем у пациентов с тяжелой хронической сердечной недостаточностью ($p < 0,003$). Через год и более после трансплантации достоверные различия экспрессии микроРНК-101, микроРНК-142 и микроРНК-339 у реципиентов сердца и у здоровых лиц отсутствовали. У реципиентов с острым отторжением уровень экспрессии микроРНК-101 и микроРНК-27 достоверно отличался от показателей реципиентов без признаков отторжения ($p = 0,04$ и $p = 0,03$ соответственно). **Заключение.** Полученные данные об изменении уровня экспрессии микроРНК-101 и микроРНК-27 у реципиентов сердца с острым отторжением трансплантата позволяют предположить возможное диагностическое значение этих биомаркеров для определения риска развития отторжения.

Ключевые слова: трансплантация сердца, микроРНК, хроническая сердечная недостаточность, биомаркеры, отторжение.

Для корреспонденции: Великий Дмитрий Алексеевич. Адрес: 123182, Москва, ул. Щукинская, д. 1.
Тел. (499) 193-87-62. E-mail: dim_vel@mail.ru

For correspondence: Velikiy Dmitriy Alekseevich. Address: 1, Shchukinskaya str., Moscow, 123182, Russian Federation.
Tel. (499) 193-87-62. E-mail: dim_vel@mail.ru

MICRORNA EXPRESSION LEVELS IN EARLY AND LONG-TERM PERIOD FOLLOWING HEART TRANSPLANTATION

D.A. Velikiy¹, O.E. Gichkun^{1, 2}, S.O. Sharapchenko¹, O.P. Shevchenko^{1, 2},
A.O. Shevchenko^{1, 2, 3}

¹ Shumakov National Medical Research Center of Transplantology and Artificial Organs, Moscow, Russian Federation

² Sechenov University, Moscow, Russian Federation

³ Pirogov Medical University, Moscow, Russian Federation

Objective: to conduct comparative analysis of the expression levels of microRNA-101, microRNA-142, microRNA-27, microRNA-339 and microRNA-424 in patients with severe chronic heart failure and in heart recipients in the early and long-term period following heart transplantation and to determine the association with acute transplant rejection. **Materials and methods.** The study included 46 heart recipients, among whom were 36 men (78.3%); the average age of the recipients was 47.7 ± 10.8 (16 to 67) years, and 12 patients with end-stage chronic heart failure, among whom were 8 men (66.7%); the average age of the patients was 46.1 ± 6.4 (37 to 64) years. The control group consisted of 12 healthy individuals, not significantly different by gender and age. microRNA expression levels in blood plasma were determined through quantitative polymerase chain reaction (Q-PCR). Transplant rejection was verified via morphological analysis of endomyocardial biopsy specimens. **Results.** Blood plasma of patients with end-stage chronic heart failure had significantly higher expression rates of microRNA-101, microRNA-27, microRNA-339 and microRNA-424 than in healthy individuals ($p < 0.02$). In the early stages following transplantation, the expression levels of microRNA-101 and microRNA-27 in heart recipients were significantly lower than in patients with severe chronic heart failure ($p < 0.003$). A year or more after transplantation, there were no significant differences in the expression levels of microRNA-101, microRNA-142, and microRNA-339 in heart recipients and in healthy individuals. In recipients with acute rejection, the expression levels of microRNA-101 and microRNA-27 significantly differed from that of recipients without signs of rejection ($p = 0.04$ and $p = 0.03$, respectively). **Conclusion.** The obtained data on changes in the expression levels of microRNA-101 and microRNA-27 in heart recipients with acute transplant rejection suggests possible diagnostic value of these biomarkers in determining the risk of rejection.

Keywords: heart transplantation, microRNA, chronic heart failure, biomarkers, rejection.

Значительные достижения в области хирургической техники и совершенствование иммуносупрессивной терапии позволили увеличить выживаемость и улучшить качество жизни реципиентов сердца. Важнейшей задачей ведения пациентов после трансплантации является предотвращение отторжения трансплантата наряду с минимизацией дозы иммуносупрессивных препаратов. Разработка неинвазивных методов выявления отторжения трансплантированного сердца позволит улучшить раннюю диагностику и увеличить продолжительность жизни пациентов за счет снижения числа поздних посттрансплантационных осложнений [1–3].

В последние годы было показано участие ряда биомаркеров в развитии сердечно-сосудистых осложнений у больных сердечной недостаточностью и у пациентов с трансплантированным сердцем, а также возможность использования оценки их концентрации для прогнозирования и диагностики отторжения сердечного трансплантата [4–6]. Отдельную группу составляют микроРНК – малые некодирующие РНК, регулирующие экспрессию генов. Возможность точ-

ного и быстрого определения содержания микроРНК в биологических жидкостях в сочетании с их тканевой и нозологической специфичностью позволяет рассматривать эти малые сигнальные молекулы в качестве перспективных кандидатов на роль биомаркеров отторжения у реципиентов сердца [7–9].

В настоящей работе проведен сравнительный анализ уровня экспрессии микроРНК-27, микроРНК-101, микроРНК-142, микроРНК-339 и микроРНК-424 у реципиентов сердца в ранние и отдаленные сроки после трансплантации и определена связь с острым отторжением трансплантата.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование включены 46 пациентов, которым в период с 2013-го по 2016 год в ФГБУ «НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России была выполнена трансплантация сердца (ТС), среди них 36 (78,3%) мужчин (средний возраст реципиентов составил $47,7 \pm 10,8$ (от 16 до 67) года) и 12 пациентов с тяжелой хронической сердечной недостаточностью (III и IV функциональный класс по NYHA), среди

них 8 (66,7%) мужчин (средний возраст пациентов составил $46,1 \pm 6,4$ (от 37 до 64) года). У 29 (63%) реципиентов до ТС была диагностирована дилатационная кардиомиопатия (ДКМП), у 12 (26%) – ишемическая болезнь сердца (ИБС) и у 5 (11%) – прочие патологии. Максимальная длительность наблюдения реципиентов после ТС составила 2215 суток (медиана 264,5 [32; 785,3]). Группу сравнения составили 12 здоровых лиц, значимо не отличающихся по полу и возрасту.

Все пациенты, имевшие показания к ТС, проходили плановое обследование согласно Национальным клиническим рекомендациям «Трансплантация сердца и механическая поддержка кровообращения» и протоколу ведения пациентов в НМИЦ ТИО. После трансплантации плановые обследования реципиента включали: клиническую оценку состояния, общий и биохимический анализы крови с определением концентрации такролимуса, суточное мониторирование артериального давления (для коррекции антигипертензивной терапии), эхокардиографическое исследование, повторные биопсии миокарда, ежегодное коронароангиографическое исследование. Все реципиенты получали трехкомпонентную иммуносупрессивную терапию, включающую комбинацию ингибиторов кальциневрина (такролимус) и цитостатиков (микофенолата мофетил или микофенолоновая кислота), а также варьирующие дозы преднизолона перорально в зависимости от сроков после операции и частоты эпизодов отторжения трансплантата и адьювантную медикаментозную терапию по показаниям [10].

Диагноз острого клеточного отторжения сердечного трансплантата устанавливался на основании результатов гистологического, гуморального – иммуногистохимического исследования эндокардиальных биоптатов.

Материалом для исследования экспрессии микроРНК служила плазма венозной крови; у реципиентов сердца исследовано 56 образцов в различные сроки после трансплантации (от 1 до 3 образцов от каждого пациента, в среднем 1,22).

Выделение суммарной РНК из плазмы периферической крови

Образцы периферической крови пациентов собирали в одноразовые пробирки с антикоагулянтом ЭДТА, центрифугировали в течение 10 минут при 3000 оборотах в минуту. Плазму крови отделяли от клеточного осадка и незамедлительно замораживали при $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. РНК выделяли из 100 мкл плазмы крови с использованием наборов Serum Plasma (Qiagen, США) с предварительным добавлением $1,6 \times 10^8$ копий синтетической микроРНК cel-miR-39 (Qiagen) после инкубации плазмы с фенольной смесью Qiazol.

Cel-miR-39 использовали в качестве внутреннего контроля эффективности выделения РНК, синтеза комплементарной ДНК (кДНК) и количественной полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени.

Обратная транскрипция и количественная ПЦР в режиме реального времени

Суммарную РНК из каждого образца конвертировали в кДНК в реакционной смеси (20 мкл), содержащей буфер 1xmi Script HiSpec Buffer, нуклеотидную смесь 1xmi Script Nucleics Mix, при $T = 37\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение 60 минут с последующей инкубацией при $95\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение 5 минут, охлаждением на льду и доведением объема образца деионизированной водой до 200 мкл. Синтезированная кДНК (2 мкл) служила в качестве матрицы в ПЦР в реальном времени с использованием праймеров, специфичных для исследуемых микроРНК: микроРНК-27, микроРНК-101, микроРНК-142, микроРНК-339, микроРНК-424, cel-miR-39 (miScript Primer assay, Ce_miR-39_1, Qiagen), и набора miScript SYBR Green PCR Kit (Qiagen). Условия реакции ПЦР: 15 минут при $T = 95\text{ }^{\circ}\text{C}$ с последующим проведением 40 циклов по 15 секунд при $T = 94\text{ }^{\circ}\text{C}$, 30 секунд при $T = 50\text{ }^{\circ}\text{C}$ и 30 секунд при $T = 70\text{ }^{\circ}\text{C}$ в амплификаторе CFX 96 (Biorad). Интенсивность экспрессии микроРНК рассчитывалась по $2^{-\Delta\text{Ct}}$ методу [11] и выражалась в относительных единицах, эквивалентных $\log_2(2^{-\Delta\text{Ct}})$, где ΔCt – рабочие значения изменения цикла получения продукта относительно внутреннего контроля экспрессии микроРНК cel-miR-39.

Статистическая обработка данных

Статистический анализ полученных результатов был проведен при помощи пакета прикладных программ IBM SPSS STATISTICS 20 (IBM SPSS Inc., США). Статистическую обработку полученных данных проводили непараметрическими методами: при сравнении зависимых выборок рассчитывали парный критерий Уилкоксона, для сравнения независимых переменных применяли U-критерий Манна–Уитни. Критический уровень значимости принимался равным 5%, т. е. нулевая гипотеза отвергалась при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

У пациентов с терминальной стадией хронической сердечной недостаточности, как и у реципиентов сердца, показатели экспрессии микроРНК варьировали в широком диапазоне и соответствовали непараметрическому распределению. В настоящей работе результаты представлены значениями меди-

аны и интерквартильного размаха, выраженными в относительных единицах.

Уровень экспрессии микроРНК-101, микроРНК-142, микроРНК-27, микроРНК-339 и микроРНК-424 у пациентов с тяжелой хронической сердечной недостаточностью и реципиентов сердца достоверно не различался у мужчин и женщин ($p = 0,29$, $p = 0,33$, $p = 0,25$, $p = 0,71$ и $p = 0,07$ соответс-

твенно). Показатели экспрессии микроРНК не зависели от возраста.

При сравнительном анализе экспрессии микроРНК были обнаружены достоверно более высокие показатели экспрессии микроРНК-101, микроРНК-27, микроРНК-339 и микроРНК-424 в плазме крови пациентов с терминальной стадией хронической сердечной недостаточности по сравнению со здоровыми лицами (рис. 1).

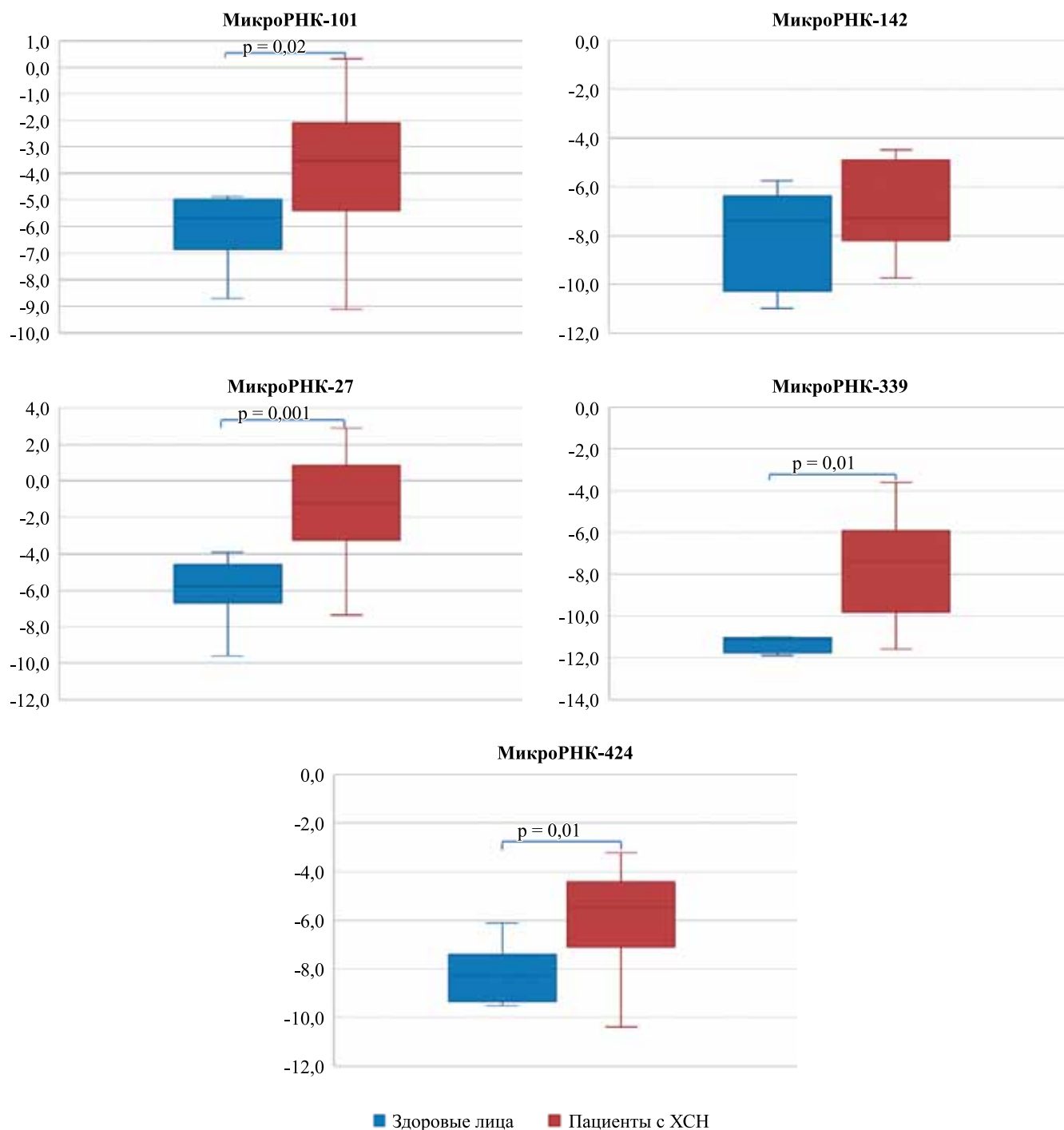


Рис. 1. Уровень экспрессии микроРНК у здоровых лиц и пациентов с тяжелой хронической сердечной недостаточностью, $\log_2(2^{-\Delta Ct})$

Fig. 1. The expression levels of microRNAs in healthy individuals and patients with severe chronic heart failure, $\log_2(2^{-\Delta Ct})$

Установленные различия уровня экспрессии микроРНК-101, микроРНК-27, микроРНК-339 и микроРНК-424, вероятно, отражают совокупность патологических процессов в миокарде пациентов с тяжелой хронической сердечной недостаточностью.

У реципиентов сердца не выявлено достоверных различий в уровне экспрессии микроРНК-101, микроРНК-142, микроРНК-27, микроРНК-339 и микроРНК-424 в зависимости от исходного диагноза, послужившего показанием к трансплантации: ДКМП или ИБС ($p = 0,89$, $p = 0,44$, $p = 0,87$, $p = 0,08$ и $p = 0,52$ соответственно). Отсутствовала достоверная корреляционная связь между уровнем экспрессии

микроРНК-101 ($r = 0,001$, $p = 0,99$), микроРНК-142 ($r = 0,004$, $p = 0,98$), микроРНК-27 ($r = -0,06$, $p = 0,68$), микроРНК-339 ($r = 0,06$, $p = 0,7$) и микроРНК-424 ($r = 0,03$, $p = 0,84$) и концентрацией такролимуса в крови реципиентов (рис. 2).

Результаты сравнительного анализа показателей экспрессии микроРНК у пациентов с тяжелой ХСН и реципиентов сердца представлены в табл. 1. Группы пациентов с тяжелой ХСН и реципиентов сердца достоверно не различались по полу и возрасту.

Различия уровней экспрессии микроРНК-101, микроРНК-27, микроРНК-339 в группах у потенциальных реципиентов сердца и всех включенных

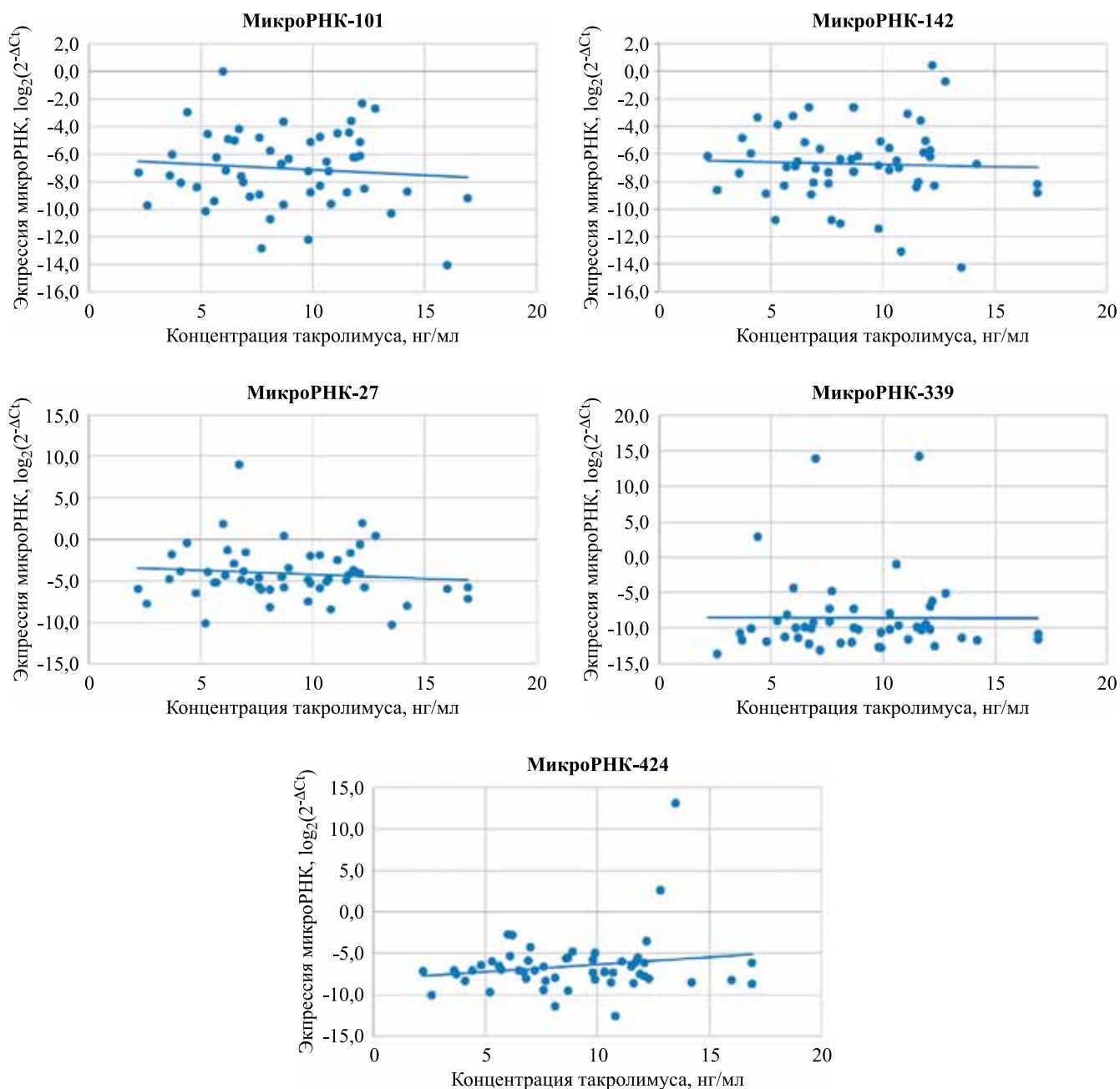


Рис. 2. Анализ корреляционной зависимости между уровнем экспрессии микроРНК и концентрацией такролимуса

Fig. 2. Correlation analysis of the expression levels of microRNAs and tacrolimus concentration

Таблица 1

Сравнительный анализ экспрессии микроРНК у пациентов с хронической сердечной недостаточностью и реципиентов сердца

Comparative analysis of microRNAs expression in patients with chronic heart failure and heart transplant recipients

МикроРНК, $\log_2(2^{-\Delta Ct})$	Пациенты с ХСН	Реципиенты сердца	Достоверность, p
МикроРНК-101	-3,53 [-5,4; -2,09]	-7,21 [-8,98; -5,1]	0,0002
МикроРНК-142	-7,27 [-8,2; -4,9]	-6,67 [-8,19; -5,5]	0,67
МикроРНК-27	-1,23 [-3,26; 0,84]	-4,78 [-5,94; -2,88]	0,01
МикроРНК-339	-7,38 [-9,81; -5,9]	-10,13 [-11,59; -9,02]	0,04
МикроРНК-424	-5,46 [-7,11; -4,42]	-7,05 [-8,11; -5,81]	0,52

Таблица 2

Сравнительный анализ экспрессии микроРНК у реципиентов сердца в ранние и отдаленные сроки после трансплантации

Comparative analysis of microRNAs expression in heart recipients at early and long-term after transplantation

МикроРНК, $\log_2(2^{-\Delta Ct})$	Срок после ТС		Достоверность, p
	1 месяц, n = 22	1 год и более, n = 34	
МикроРНК-101	-8,75 [-9,74; -6,76]	-6,22 [-7,59; -4,78]	0,008
МикроРНК-142	-7,03 [-8,35; -6,01]	-6,52 [-7,39; -5,09]	0,25
МикроРНК-27	-5,79 [-6,06; -4,61]	-4,08 [-5,07; -1,92]	0,04
МикроРНК-339	-10,61 [-11,73; -9,93]	-9,88 [-11,37; -8,15]	0,83
МикроРНК-424	-7,13 [-8,15; -6,13]	-6,99 [-8,01; -5,74]	0,45

в исследование пациентов после трансплантации имели достоверный характер ($p = 0,0002$, $p = 0,01$ и $p = 0,04$ соответственно).

Установлено, что в ранние сроки после трансплантации (медиана 24 [10; 35] суток) уровни экспрессии микроРНК-142, микроРНК-339 и микроРНК-424 у реципиентов сердца по сравнению с пациентами с тяжелой хронической сердечной недостаточностью достоверно не различались, хотя имелась тенденция к их снижению. Различия уровней экспрессии микроРНК-101 и микроРНК-27 в этих группах носили достоверный характер ($p = 0,0001$ и $p = 0,003$ соответственно). Изменение профиля экспрессии микроРНК-101 и микроРНК-27 в ранние сроки после трансплантации может быть связано с действием комплекса различных факторов, связанных с оперативным вмешательством, в том числе с системным воспалительным ответом, адаптацией организма к трансплантированному органу и иммуносупрессив-

ной терапии. Имеются данные об участии этих сигнальных молекул в регуляции процессов фиброобразования миокарда через взаимодействия с фактором транскрипции RUNX1 и рецептором 1 трансформирующего фактора роста β (TGF β R1) [12, 13].

Сравнительный анализ экспрессии микроРНК у реципиентов сердца в ранние и отдаленные сроки после трансплантации представлен в табл. 2.

У реципиентов сердца спустя год и более после трансплантации уровень экспрессии микроРНК-142, микроРНК-339 и микроРНК-424 по сравнению с реципиентами в ранние сроки после ТС достоверно не отличался, однако отмечалась тенденция к его повышению. Различия уровней экспрессии микроРНК-101 и микроРНК-27 в данных группах имели достоверный характер ($p = 0,008$ и $p = 0,04$ соответственно).

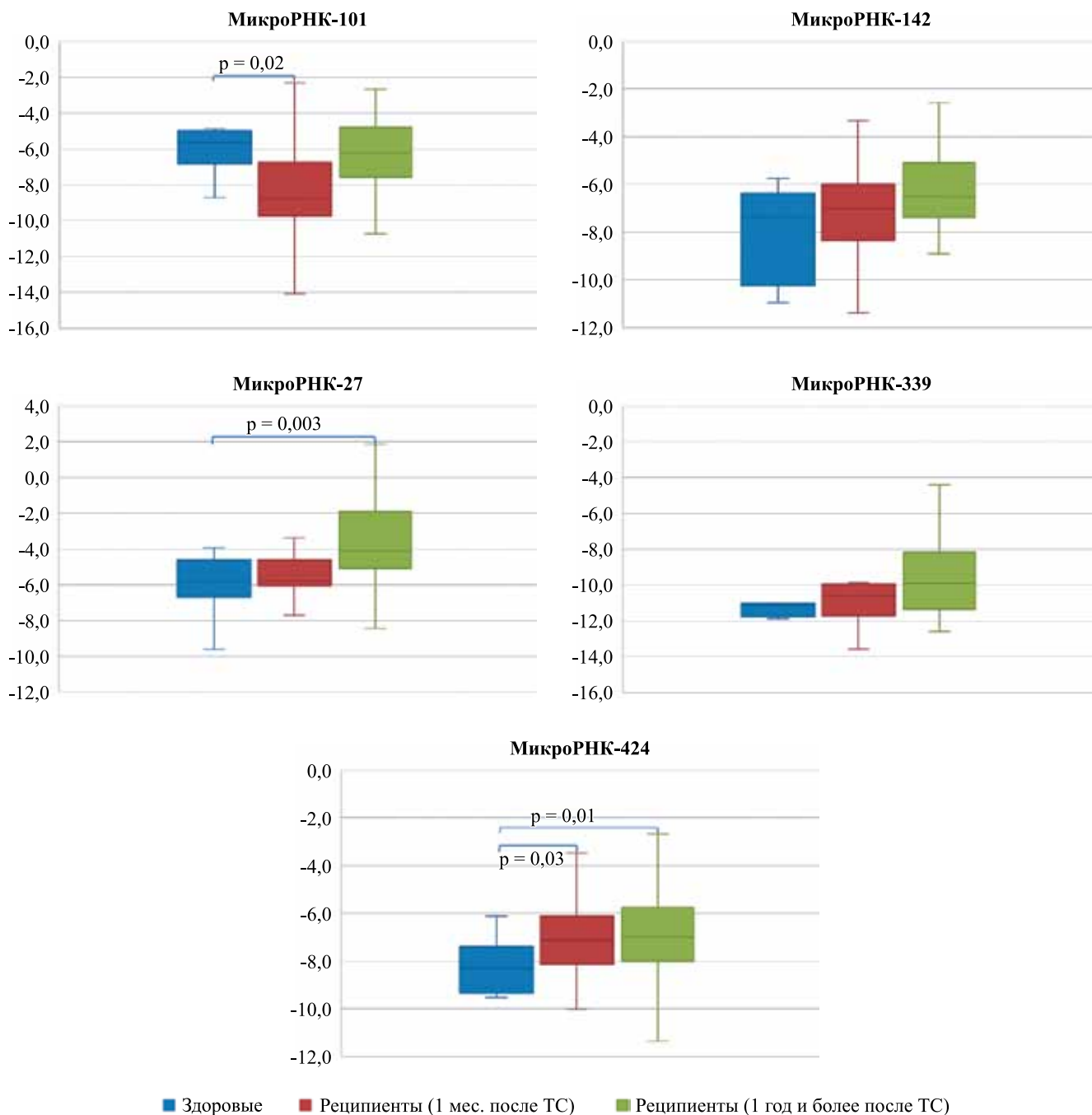


Рис. 3. Уровень экспрессии микроРНК у реципиентов сердца в ранние и отдаленные сроки после трансплантации и у здоровых лиц, $\log_2(2^{-\Delta C_t})$

Fig. 3. The expression levels of microRNA in heart recipients at early and long-term after transplantation, $\log_2(2^{-\Delta C_t})$

На рис. 3 представлены показатели экспрессии микроРНК у реципиентов сердца в ранние и отдаленные сроки после трансплантации и у здоровых лиц.

Установлено, что спустя год и более после трансплантации величина экспрессии микроРНК-101, микроРНК-142 и микроРНК-339 у реципиентов достоверно не отличалась от таковой у здоровых лиц. Различия уровней экспрессии микроРНК-27 и микроРНК-424 в данных группах имели достоверный характер ($p = 0,003$ и $p = 0,01$ соответственно).

Анализ влияния острого отторжения на величину экспрессии исследуемых микроРНК показал следующее. В течение всего периода наблюдения после трансплантации признаки острого отторжения были верифицированы у 27 реципиентов в 31 образце эндомикардиальных биоптатов. Среди них острое клеточное отторжение (R1G–R3G степеней по классификации ISHLT-2004) наблюдалось у 23 реципиентов в 24 образцах, гуморальное – у 6 реципиентов в 6 образцах и смешанное – в 1 образце (табл. 3).

Таблица 3

Характеристика реципиентов сердца без отторжения и с отторжением

Characteristics of heart recipients with and without rejection

Параметр	Реципиенты	
	без отторжения	с отторжением
Возраст (лет)	48,4 ± 9,9	49 ± 10,4*
Мужской пол (n, %)	16 (64%)	27 (87%)
Диагноз до ТС (n, %)	ДКМП – 17 (68%) ИБС – 5 (20%) Прочее – 3 (12%)	ДКМП – 18 (58%) ИБС – 10 (32%) Прочее – 3 (10%)
Концентрация такролимуса (нг/мл)	9,9 [6,1; 12]	8,1 [6,7; 10,7]*

Примечание. * – p > 0,05, в сравнении с реципиентами без отторжения.

Note. * – p > 0,05, compared with recipients without rejection.

Таблица 4

Сравнительный анализ экспрессии микроРНК у реципиентов сердца с отторжением трансплантата и без отторжения

Comparative analysis of microRNA expression in heart transplant recipients with and without rejection

МикроРНК, log ₂ (2 ^{-ΔCt})	Реципиенты		Достоверность, p
	без отторжения	с отторжением	
МикроРНК-101	-7,13 [-8,09; -4,87]	-8,21 [-9,60; -6,22]	0,04
МикроРНК-142	-7,02 [-8,04; -5,73]	-6,36 [-8,72; -5,11]	0,51
МикроРНК-27	-4,65 [-5,32; -1,85]	-5,19 [-6,78; -3,86]	0,03
МикроРНК-339	-10,04 [-11,2; -8,22]	-10,26 [-11,62; -9,2]	0,81
МикроРНК-424	-7,04 [-7,47; -5,79]	-7,05 [-8,27; -5,92]	0,98

Реципиенты с острым отторжением трансплантата и без такового значимо не различались по возрасту, полу и диагнозу до трансплантации. При анализе концентрации такролимуса в крови реципиентов сердца не было выявлено достоверных различий в группе пациентов с острым отторжением и без такового, концентрация составила 8,1 [6,7; 10,7] и 9,9 [6,1; 12] нг/мл соответственно (p = 0,75).

В табл. 4 представлен сравнительный анализ экспрессии микроРНК у реципиентов сердца с острым отторжением трансплантата и без отторжения.

Установлены достоверные различия в величине экспрессии микроРНК-101 и микроРНК-27 у реципиентов с острым отторжением по сравнению с реципиентами без отторжения (p = 0,04 и p = 0,03 соответственно). Полученные результаты подтверждают имеющиеся данные о возможной диагностической роли микроРНК, в частности микроРНК-101, при остром отторжении трансплантированного сердца [14].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Уровень экспрессии микроРНК-101, микроРНК-27, микроРНК-339 и микроРНК-424 у пациентов с терминальной стадией хронической сердечной недостаточности – потенциальных реципиентов сердца выше, чем у здоровых лиц. Спустя год и более после трансплантации уровень экспрессии микроРНК-101, микроРНК-142 и микроРНК-339 у реципиентов сердца не отличается от здоровых лиц, что может отражать нормализацию адаптационных процессов в трансплантате.

Выявлены различия в уровне экспрессии микроРНК-101 и микроРНК-27 у реципиентов с острым отторжением по сравнению с реципиентами без такового, что может иметь потенциальное значение для оценки риска развития отторжения и возможности минимизации иммуносупрессивной терапии. Для оценки диагностической эффективности микроРНК необходимо проведение дальнейших исследований

профиля экспрессии этих биомаркеров у реципиентов сердца.

Исследование профинансировано грантом Президента Российской Федерации НШ-2598.2020.7 для государственной поддержки ведущих научных школ РФ.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflict of interest.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Kransdorf EP, Kobashigawa JA.* Novel molecular approaches to the detection of heart transplant rejection. *Per Med.* 2017 Jul; 14 (4): 293–297.
2. *Crespo-Leiro MG, Barge-Caballero G, Couto-Mallon D.* Noninvasive monitoring of acute and chronic rejection in heart transplantation. *Curr Opin Cardiol.* 2017 Mar 16. doi: 10.1097/HCO.0000000000000400. [Epub ahead of print].
3. *van Gelder T.* Biomarkers in solid organ transplantation. *Br J Clin Pharmacol.* 2017 Dec; 83 (12): 2602–2604.
4. *Великий ДА, Гичкун ОЕ, Шевченко АО.* Микро-РНК: роль в развитии сердечно-сосудистых заболеваний, перспективы клинического применения. *Клиническая лабораторная диагностика.* 2018; 63 (7): 403–409. *Velikiy DA, Gichkun OE, Shevchenko AO.* MikroRNK: rol' v razvitii serdechno-sosudistykh zabolevaniy, perspektivy klinicheskogo primeneniya. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika.* 2018; 63 (7): 403–409. [In Russ, English abstract].
5. *Savic-Radojevic A, Pljesa-Ercegovac M, Matic M et al.* Novel biomarkers of heart failure. *Advances In Clinical Chemistry.* 2017; 79: 93–152.
6. *Starling RC, Stehlik J, Baran DA et al.* Multicenter analysis of immune biomarkers and heart transplant outcomes: results of the clinical trials in organ transplantation-05 study. *American Journal of Transplantation.* 2016; 16: 121–136.
7. *Di Francesco A, Fedrigo M, Santovito D, Ntarelli L, Castellani C, De Pascale F et al.* MicroRNA signatures in cardiac biopsies and detection of allograft rejection. *J Heart Lung Transplant.* 2018 Nov; 37 (11): 1329–1340.
8. *Shah P, Bristow MR, Port JD.* MicroRNAs in Heart Failure, Cardiac Transplantation, and Myocardial Recovery: Biomarkers with Therapeutic Potential. *Curr Heart Fail Rep.* 2017 Dec; 14 (6): 454–464.
9. *Khush K, Zarafshar S.* Molecular Diagnostic Testing in Cardiac Transplantation. *Curr Cardiol Rep.* 2017 Oct 13; 19 (11): 118.
10. *Готье СВ, Шевченко АО, Попцов ВН.* Пациент с трансплантированным сердцем: руководство для врачей по ведению пациентов, перенесших трансплантацию сердца. М.: Триада, 2014: 144. *Gautier SV, Shevchenko AO, Popcov VN.* Pacient s transplantirovannym serdцем: rukovodstvo dlya vrachej po vedeniyu pacientov, perenessih transplantaciyu serdca. М.: Triada, 2014: 144.
11. *Livak KJ, Schmittgen TD.* Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(–Delta Delta C(T)) Method. *Methods.* 2001 Dec; 25 (4): 402–408.
12. *Zhang XL, An BF, Zhang GC.* MiR-27 alleviates myocardial cell damage induced by hypoxia/reoxygenation via targeting TGFBR1 and inhibiting NF-κB pathway. *Kaohsiung J Med Sci.* 2019 Oct; 35 (10): 607–614.
13. *Li X, Zhang S, Wa M, Liu Z, Hu S.* MicroRNA-101 Protects Against Cardiac Remodeling Following Myocardial Infarction via Downregulation of Runt-Related Transcription Factor 1. *J Am Heart Assoc.* 2019 Dec 3; 8 (23): e013112.
14. *Sukma Dewi I, Hollander Z, Lam KK, McManus JW, Tebbutt SJ, Ng RT et al.* Association of Serum MiR-142-3p and MiR-101-3p Levels with Acute Cellular Rejection after Heart Transplantation. *PLoS One.* 2017; 12 (1): e0170842.

*Статья поступила в редакцию 21.11.2019 г.
The article was submitted to the journal on 21.11.2019*