

МОЛЕКУЛЯРНАЯ ДИАГНОСТИКА ОТТОРЖЕНИЯ ТРАНСПЛАНТАТА У РЕЦИПИЕНТОВ СЕРДЦА: ВЕКТОРЫ РАЗВИТИЯ И ПЕРСПЕКТИВЫ КЛИНИЧЕСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ

Д.А. Великий¹, С.О. Шарапченко¹, А.О. Шевченко¹⁻³, О.П. Шевченко^{1, 2}

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

Современные достижения в области молекулярных методов диагностики открывают возможность интегрировать генетические и эпигенетические биомаркеры в клиническую практику. Последние годы получили развитие такие направления исследований, как анализ профиля экспрессии генов, определение внеклеточной ДНК и оценка экспрессии микроРНК. Показан диагностический потенциал молекулярно-генетических биомаркеров при различных патологических состояниях. Появляются первые данные клинических исследований об использовании молекулярных методов диагностики для выявления посттрансплантационных осложнений у реципиентов солидных органов. У реципиентов сердца оценка молекулярно-генетических, эпигенетических и клинических показателей необходима для персонифицированного подбора иммуносупрессивной терапии и предотвращения развития дисфункции и васкулопатии трансплантата. В настоящем обзоре суммированы современные представления о молекулярной диагностике отторжения трансплантата у реципиентов сердца и перспективах ее клинического применения.

Ключевые слова: трансплантация сердца, профиль экспрессии генов, внеклеточные ДНК, микроРНК, отторжение трансплантата, персонификация.

MOLECULAR DIAGNOSTICS OF CARDIAC ALLOGRAFT REJECTION: DEVELOPMENT PATHWAYS AND FUTURE CLINICAL PROSPECTS

D.A. Velikiy¹, S.O. Sharapchenko¹, A.O. Shevchenko¹⁻³, O.P. Shevchenko^{1, 2}

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

² Sechenov University, Moscow, Russian Federation

³ Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russian Federation

Recent advances in molecular diagnostics have opened new avenues for integrating genetic and epigenetic biomarkers into clinical practice. Areas such as gene expression profiling, extracellular DNA quantification, and microRNA expression analysis have seen significant development in recent years. The diagnostic value of molecular genetic biomarkers has been demonstrated across a range of pathological conditions. Emerging clinical data now support the use of molecular diagnostics to detect post-transplant complications in recipients of solid organ transplants. In heart transplant recipients, a comprehensive assessment that includes molecular genetics, epigenetic, and clinical parameters is essential for personalized selection of immunosuppressive therapy and for prevention of graft dysfunction and vasculopathy. This review highlights the current state of molecular diagnostics in cardiac allograft rejection and explores its potential for clinical application.

Keywords: heart transplantation, gene expression profiling, extracellular DNA, miRNA, graft rejection, personalization.

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

Corresponding author: Dmitriy Velikiy. Address: 1, Shchukinskaya str., Moscow, 123182, Russian Federation. Phone: (499) 193-87-62. E-mail: dim_vel@mail.ru

ВВЕДЕНИЕ

Трансплантация сердца является единственным радикальным методом лечения терминальной стадии хронической сердечной недостаточности, рефрактерной к медикаментозной терапии. В 2023 году в Российской Федерации было выполнено 388 трансплантаций сердца [1]. Совершенствование хирургических методик, послеоперационного ведения пациентов и схем иммуносупрессивной терапии значительно улучшило результаты трансплантаций. Несмотря на это, показатель пятилетней выживаемости после трансплантации сердца составляет около 72%, а средний срок жизни реципиентов, переживших первый год после трансплантации, – 13 лет [2]. Одним из основных факторов, ограничивающих выживаемость реципиентов сердца, является острое отторжение трансплантата. Перенесенные кризы как острого клеточного, так и гуморального отторжения напрямую связаны с повышенным риском развития дисфункции и васкулопатии трансплантата [3]. Всем реципиентам трансплантированных органов для предупреждения реакции отторжения на чужеродные антигены показан пожизненный прием иммуносупрессивных препаратов, назначение которых проводится в соответствии со стандартными протоколами лечения. Несоответствие стандартно назначаемых дозировок препаратов индивидуально необходимым значениям повышает риск развития осложнений: отторжения трансплантата при недостаточности дозировки, инфекционных осложнений и токсичности – при ее превышении. Использование методов неинвазивной молекулярной диагностики у реципиентов сердца потенциально может позволить подобрать персонализированный режим иммуносупрессивной терапии, основанный на индивидуальных особенностях пациента для снижения риска развития посттрансплантационных осложнений и пролонгации функции трансплантата.

Посттрансплантационные биомаркеры, среди которых тропонины Т и I, мозговые натрийуретические пептиды BNP и NT-proBNP, показали свою диагностическую значимость при развитии сердечно-сосудистых заболеваний. Тропонины сердца являются высокочувствительными и специфичными маркерами повреждения миокарда. Однако исследования не выявили их диагностической эффективности в отношении острого отторжения трансплантата у реципиентов сердца [4]. Схожие данные получены и относительно натрийуретических пептидов – ни BNP, ни NT-proBNP не обладают достаточным уровнем чувствительности и специфичности для диагностики посттрансплантационных осложнений у реципиентов сердца [5].

В последние годы среди молекулярно-генетических методов исследования стали выделять ряд

направлений, которые имеют перспективу использования для диагностики различных патологических состояний, среди них анализ профиля экспрессии генов, определение внеклеточной ДНК и оценка экспрессии микроРНК. Анализ профиля экспрессии генов позволяет идентифицировать гены, экспрессия которых нарушается при тех или иных патологических процессах. В ряде исследований были определены специфические наборы генов, связанные с развитием онкологических и иммунных заболеваний [6, 7]. Внеклеточные ДНК образуются в результате повреждения тканей и распада клеток и могут определяться во внеклеточных жидкостях организма – плазме, сыворотке, моче, спинномозговой жидкости и слюне. Было показано, что у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями, в том числе артериальной гипертензией, инфарктом миокарда и сердечной недостаточностью, отмечается повышение в крови уровня внеклеточных ДНК [8]. Среди широкого спектра циркулирующих малых некодирующих молекул РНК (микроРНК) был выделен ряд молекул, изменение профиля экспрессии которых связано с развитием различных патологических процессов. Установлено, что уровень определенных микроРНК в плазме крови пациентов с ишемической болезнью сердца и острым коронарным синдромом выше, чем у здоровых лиц [9].

Целью настоящего обзора является анализ последних данных об эффективности методов молекулярной диагностики острого отторжения трансплантата у реципиентов сердца и перспективах их клинического применения.

ПРОФИЛЬ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ

Профиль экспрессии генов (GEP, gene expression profiling) представляет собой результат одномоментного измерения активности большого количества генов в образцах крови, тканей или клеточных культур [10]. GEP лейкоцитов периферической крови может использоваться в качестве инструмента неинвазивной диагностики отторжения у реципиентов сердца через несколько месяцев после трансплантации [11].

В работе P.A. Horwitz et al. впервые было описано, что метод GEP позволяет диагностировать отторжение трансплантата у реципиентов сердца и его результаты коррелируют с данными миокардиальной биопсии [12]. В дальнейшем был предложен комплексный тест, включающий исследование 20 генов, на основании экспрессии которых определялся риск развития острого клеточного отторжения по шкале от 0 до 40 баллов. Величина рассчитанного порогового значения, связанного с низким риском развития отторжения, составила 34 балла [13, 14]. Данный метод имеет высокую отрицательную предсказательную значимость (более 90%) и был рекомендован в ка-

честве неинвазивного способа исключения острого клеточного отторжения у реципиентов сердца. К недостаткам теста относится низкая положительная предсказательная значимость (около 10%) и неспособность выявить острое гуморальное отторжение трансплантата сердца [15].

В исследовании C.P. Shannon et al. с помощью метода высокопроизводительного транскриптомного анализа была сформирована панель из девяти транскриптов мРНК для диагностики острого клеточного отторжения у реципиентов сердца. Особенностью теста является высокая чувствительность уже на ранних сроках (до 55 дней) после трансплантации [16].

Анализ GEP моноклеарных клеток крови и образцов эндомикардиальной биопсии позволил идентифицировать ряд генов, активность которых связана с развитием антитело-опосредованного отторжения у реципиентов сердца. Было охарактеризовано четыре набора генов, участвующих в регуляции активации эндотелия, макрофагов, NK-клеток и интерферона- γ , имеющих диагностическую значимость для определения гуморального отторжения трансплантата сердца [17, 18].

Отдельным направлением является изучение экспрессии митохондриальных генов при отторжении у реципиентов солидных органов. В работе E. Tarazon et al. было проведено секвенирование 112 генов, связанных с работой митохондрий, у 40 реципиентов сердца. В результате были идентифицированы несколько генов, экспрессия которых независимо повышалась при развитии острого клеточного отторжения [19]. Ранее было показано, что повышение экспрессии митохондриальных генов отмечается при развитии иммунных реакций [20], что позволяет предположить их роль не только в качестве индикаторов, но и потенциальных медиаторов отторжения [21].

ВНЕКЛЕТОЧНАЯ ДНК

Внеклеточная ДНК (cfDNA, cell-free DNA) высвобождается в кровотоке при апоптозе и некрозе клеток и служит биомаркером повреждения органов [22]. При трансплантации солидных органов повреждение трансплантата, являющееся следствием как острого клеточного, так и гуморального отторжения, приводит к появлению в крови реципиента донорских внеклеточных ДНК (dd-cfDNA, donor-derived cell-free DNA) [23].

Первоначально методики обнаружения dd-cfDNA были основаны на генетических различиях донора и реципиента, среди которых несоответствие пола, молекул HLA (human leukocyte antigen) и однонуклеотидных полиморфизмов (SNP, single nucleotide polymorphisms) [24, 25]. В дальнейшем для более точного количественного определения dd-cfDNA стали применяться методы цифровой капельной полиме-

разной цепной реакции (ПЦР) [26] и полногеномного секвенирования [27].

В работе I. De Vlaminck et al. было показано значительное увеличение уровня dd-cfDNA в крови реципиентов сердца во время острого отторжения и его снижение после лечения. Кроме того, показатель dd-cfDNA повышался еще до появления характерных морфологических изменений в эндомикардиальных биоптатах, что может дать возможность проводить раннюю диагностику острого отторжения для своевременной коррекции иммуносупрессивной терапии [28].

В проспективном мультицентровом исследовании авторы рассчитали пороговое значение соотношения dd-cfDNA к cfDNA реципиента (0,2%). Использование данного порогового значения позволяло дифференцировать реципиентов сердца с острым отторжением от пациентов без признаков отторжения со специфичностью теста 80%, чувствительностью – 44% и негативной предсказательной значимостью – 97,1% [23].

В исследовании S. Agbor-Enoh et al. было установлено, что увеличение уровня dd-cfDNA у реципиентов сердца коррелировало со степенью тяжести острого клеточного и гуморального отторжения, а также выраженностью изменений при эхокардиографическом исследовании. Авторы высказали предположение, что процент циркулирующих dd-cfDNA выше у реципиентов с острым гуморальным отторжением по сравнению с пациентами, у которых диагностировано острое клеточное отторжение трансплантата сердца [27].

Кроме того, в недавнем исследовании было отмечено увеличение dd-cfDNA у реципиентов сердца без признаков острого отторжения с верифицированной васкулопатией трансплантата [29].

Помимо роли в диагностике острого и хронического отторжения была обнаружена связь повышения dd-cfDNA с образованием донор-специфических антител (DSA, donor specific antibodies), что позволяет предположить, что субклиническое повреждение трансплантата может predisполагать к образованию DSA, выявляя потенциальный уникальный фактор риска сенсibilизации [30].

МИКРОРНК

МикроРНК (miR, micro ribonucleic acid) представляют собой небольшие (19–25 нуклеотидов) одноцепочечные некодирующие молекулы РНК. Геном человека кодирует около 2200 miR. MiR способны оказывать блокирующее действие на трансляцию матричной РНК в белки либо индуцировать деградацию транскрипта матричной РНК. При этом микроРНК обычно регулируют экспрессию нескольких генов и формируют таким образом «сети miR» для регуляции различных биологических путей и

клеточной активности. MiR специфичны для органов и тканей, а их циркулирующие уровни стабильны, что позволяет рассматривать микроРНК как потенциальный неинвазивный биомаркер для мониторинга посттрансплантационных осложнений у реципиентов солидных органов [31].

В исследовании T. Nováková et al. был проведен анализ экспрессии одиннадцати микроРНК в образцах эндомикардиальной биопсии реципиентов сердца. Показано, что уровень экспрессии miR-144, miR-589 и miR-182 у реципиентов с верифицированным острым клеточным отторжением достоверно отличался от такового у пациентов без признаков отторжения [32].

В наших предыдущих работах была проведена оценка диагностической значимости определения концентрации нескольких микроРНК (miR-101, miR-142, miR-27, miR-339 и miR-424) в плазме венозной крови реципиентов сердца в отношении острого отторжения и фиброза миокарда трансплантата. Было установлено, что относительный риск выявления острого отторжения трансплантационного сердца при показателях экспрессии miR-101 ниже рассчитанного порогового уровня составил $1,77 \pm 0,159$ [95% ДИ 1,296–2,422], ($p = 0,0003$); для miR-27 риск развития того же осложнения при уровне экспрессии ниже порогового значения составил $1,59 \pm 0,181$ [95% ДИ 1,112–2,262], ($p = 0,011$) [33]. Кроме того, была обнаружена связь уровня экспрессии микроРНК с наличием фибротических изменений в миокарде трансплантационного сердца. Относительный риск выявления фиброза миокарда трансплантата при показателях экспрессии miR-27 выше рассчитанного порогового уровня составил $1,5 \pm 0,157$ [95% ДИ 1,104–2,039], ($p = 0,009$); для miR-339 риск развития того же осложнения при уровне экспрессии выше порогового значения составил $1,31 \pm 0,130$ [95% ДИ 1,018–1,692], ($p = 0,036$) [34]. При этом совместное определение уровня экспрессии микроРНК в плазме крови реципиентов сердца и концентрации протеомных биомаркеров, таких как ST2 и галектин-3, значительно улучшало диагностические характеристики тестов [35].

При анализе уровня экспрессии двадцати шести микроРНК в сыворотке крови реципиентов сердца было установлено, что изменение концентрации miR-144 коррелировало с развитием кризов острого клеточного отторжения трансплантата. Интересно, что данная микроРНК обладала диагностической значимостью даже при легкой степени острого клеточного отторжения (1R по классификации ISHLT, 2004) [36]. Кроме того, совместное определение miR-144 и miR-652 значительно повышало диагностическую эффективность выявления острого клеточного отторжения у реципиентов сердца по сравнению с использованием данных микроРНК отдельно [37].

В последние годы получены данные о направленном ингибировании отдельных микроРНК, что позволяет предположить возможность использования этих молекул в качестве терапевтической мишени для замедления и предотвращения развития патологии трансплантата у реципиентов солидных органов.

В исследовании R. Hinkel et al. на модели ишемически-реперфузионного повреждения миокарда свиней проводилась оценка влияния внутрикоронарного введения комплементарного олигонуклеотида, специфически ингибирующего miR-21 (antimiR-21), на развитие дисфункции миокарда. Было установлено, что в группе животных с терапией antimiR-21 наблюдалось улучшение сердечной функции, снижение фиброза и гипертрофии миокарда. При РНК-секвенировании и гистологическом исследовании миокарда получены данные о снижении экспрессии miR-21, числа макрофагов и фибробластов в зоне повреждения [38].

В работе J. Lu et al. был применен метод инактивации miR-146a посредством использования антимикроРНК к соответствующий микроРНК на модели трансплантации сердца у мышей. Выключение miR-146a способствовало увеличению аутофагии Т-регуляторных клеток, что в свою очередь усиливало их ингибирующее действие на CD4⁺ Т-клетки и дендритные клетки. В совокупности данные эффекты значительно снижали выраженность острого отторжения у экспериментальных животных [39].

ДРУГИЕ НАПРАВЛЕНИЯ

Антитела к HLA (анти-HLA)

Молекулы главного комплекса гистосовместимости – HLA класса I (A, B и C) присутствуют на поверхности всех ядросодержащих клеток, а HLA класса II (DPA1, DPB1, DQA1, DQB1, DRA и DRB1) – на поверхности антиген-презентирующих клеток, В-клеток и эндотелиальных клеток. HLA-A, HLA-B и HLA-DR являются наиболее важными типами HLA для соответствия донора и реципиента при трансплантации. Переливание крови, предыдущие трансплантации органов или имплантация устройств вспомогательного кровообращения, а также беременность являются причинами появления антител к HLA. Уровни антител к HLA у кандидатов на трансплантацию могут быть измерены с помощью панели тестирования реактивных антител (PRA, panel of reactive antibody); при этом повышенные уровни предтрансплантационного PRA служат индикатором значительного риска развития неблагоприятного исхода трансплантации [40].

В исследовании C. Sciacaluga et al. оценивалось прогностическое значение выявления анти-HLA антител в отношении развития острого отторжения и васкулопатии трансплантата у реципиентов сердца.

Было установлено, что наличие циркулирующих антител к HLA коррелирует с легкой степенью дисфункции трансплантата еще до верифицированных признаков гуморального отторжения и/или васкулопатии трансплантата [41].

Донор-специфические антитела

Донор-специфические антитела (DSA, donor specific antibodies) – это антитела, образуемые в организме реципиента, которые могут связываться с донорскими антигенами, вызывая активацию реакции системы комплемента и как следствие повреждение аллотрансплантата. Образование *de novo* донор-специфических антител после трансплантации сердца является критическим фактором риска развития гуморального отторжения и неблагоприятного исхода у реципиентов. Циркулирующие донор-специфические антитела определяются у реципиентов сердца с гуморальным отторжением трансплантата, и, как было показано, более высокая концентрация антител связана с более тяжелой степенью отторжения [42].

В работе J.D. Moreno et al. было показано повышение титра антител к рецептору ангиотензина II типа 1 (AT1R-Ab) у реципиентов сердца с дисфункцией трансплантата. Авторы исследования высказывают предположение, что иммуносупрессивная терапия гуморального отторжения в сочетании с применением блокаторов рецептора ангиотензина может улучшить результаты лечения реципиентов сердца [43].

В раннем посттрансплантационном периоде выявление антител к эндотелиальным клеткам (AECAs, anti-endothelial cell antibodies) связано с риском острого отторжения аллотрансплантата у реципиентов сердца. Кроме того, обнаружена корреляция между присутствием в крови реципиентов антител к белкам цитоскелета эндотелиальных клеток, таким как виментин, актин, тубулин, и повышенным риском развития эпизодов отторжения. Так, у реципиентов сердца с диагностированными признаками васкулопатии трансплантата в течение первых пяти лет после трансплантации был значительно повышен титр антител к виментину [44].

Внеклеточные везикулы

Внеклеточные везикулы (EV, Extracellular Vesicles) представляют собой небольшие (до 1000 нм) сферические мембраны, которые высвобождаются во внеклеточное пространство и служат для передачи информации между клетками, в том числе при различных патологических состояниях, таких как усиленный иммунный ответ и воспаление. Внеклеточные везикулы представляют значительный интерес как неинвазивный диагностический инструмент, поскольку они легко обнаруживаются в биологических жидкостях и содержат определенный набор нуклеи-

новых кислот, белков и липидов, отражающий патофизиологические процессы в клетках и тканях [45].

В исследовании C. Castellani et al. было показано значительное увеличение концентрации внеклеточных везикул и уменьшение их диаметра у реципиентов сердца с острым клеточным и гуморальным отторжением по сравнению с пациентами без отторжения. Авторам удалось также идентифицировать специфические поверхностные маркеры внеклеточных везикул, характерные для острого клеточного (CD3, CD2, ROR1, SSEA-4, HLA-I, CD41b) и гуморального (HLA-II, CD326, CD19, CD25, CD20, ROR1, SSEA-4, HLA-I, CD41b) отторжения [46].

В работе R.W. Hu et al. с помощью антител к HLA-I донора были выделены внеклеточные везикулы донора в крови реципиентов сердца. Установлено, что при остром гуморальном отторжении у реципиентов сердца во внеклеточных везикулах донора определяется экспрессия белка комплемента C4d, которая прекращается после лечения криза отторжения [47].

В другом исследовании был проведен анализ концентрации внеклеточных везикул, позитивных по тетраспаниновым, тромбоцитарным и эндотелиальным маркерам, в плазме крови реципиентов сердца в отдаленные сроки после трансплантации (более трех лет). Было установлено, что уровень микровезикул CD90+ достоверно выше в группе реципиентов без признаков острого отторжения по сравнению с пациентами, у которых по данным эндомиокардиальной биопсии были верифицированы признаки отторжения трансплантата [48].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В последние годы во многих исследованиях была доказана эффективность ряда новых подходов в области молекулярной диагностики для верификации и прогнозирования развития кризов отторжения у реципиентов сердца. Данные подходы включают определение геномных, транскриптомных и протеомных биомаркеров. Внедрение методов молекулярной диагностики может позволить улучшить отдаленные результаты трансплантации сердца за счет ранней диагностики посттрансплантационных осложнений [49].

Несмотря на большое количество работ в области неинвазивной диагностики отторжения трансплантата сердца, лишь немногие молекулярные тесты вошли в клиническую практику. Главным образом это связано с отсутствием единых подходов и протоколов проведения исследований, а также методологическими ограничениями, включая небольшие размеры выборки пациентов. Для стандартизации, оценки воспроизводимости и возможности клинического применения новых диагностических подходов необходимо проведение рандомизированных

мультицентровых исследований с участием больших групп пациентов [50].

Исследование методов молекулярной диагностики отторжения трансплантата сердца позволит не только повысить точность определения и снизить необходимость в инвазивных вмешательствах, но и даст дополнительное представление о регуляторных механизмах, лежащих в основе острого клеточного и гуморального отторжения, открывая тем самым возможности для новых терапевтических стратегий [51].

На основании полученных данных представляется перспективной разработка мультимодальных панелей, которые смогли бы объединить несколько неинвазивных методов диагностики посттрансплантационных осложнений у реципиентов сердца, среди которых измерение профиля экспрессии генов, внеклеточных ДНК донора и микроРНК [52]. Персонализированный подбор оптимальной схемы иммуносупрессивной терапии с учетом молекулярно-генетических, эпигенетических и клинических показателей пациента может существенно повысить продолжительность и качество жизни реципиентов сердца.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflict of interest.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Готье СВ. Трансплантология: итоги и перспективы. Том XV. 2023 год. М.–Тверь: Триада, 2024; 320. *Gautier SV. Transplantologiya: itogi i perspektivy. Tom XV. 2023 god. M.–Tver': Triada, 2024; 320.*
2. Singh TP, Cherikh WS, Hsich E, Lewis A, Perch M, Kian S et al. Graft survival in primary thoracic organ transplant recipients: A special report from the International Thoracic Organ Transplant Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation. *J Heart Lung Transplant*. 2023 Oct; 42 (10): 1321–1333. doi: 10.1016/j.healun.2023.07.017.
3. Wu MY, Ali Khawaja RD, Vargas D. Heart Transplantation: Indications, Surgical Techniques, and Complications. *Radiol Clin North Am*. 2023 Sep; 61 (5): 847–859. doi: 10.1016/j.rcl.2023.04.011.
4. Fitzsimons SJ, Evans JDW, Rassl DM, Lee KK, Strachan FE, Parameshwar J et al. High-sensitivity Cardiac Troponin Is Not Associated With Acute Cellular Rejection After Heart Transplantation. *Transplantation*. 2022 May 1; 106 (5): 1024–1030. doi: 10.1097/TP.0000000000003876.
5. Zhu V, Perry LA, Plummer M, Segal R, Smith J, Liu Z. Diagnostic accuracy of brain natriuretic peptide and N-terminal-pro brain natriuretic peptide to detect complications of cardiac transplantation in adults: A systematic review and meta-analysis. *Transplant Rev (Orlando)*. 2023 Jul; 37 (3): 100774. doi: 10.1016/j.trre.2023.100774.
6. Суспицын ЕН, Раупов РК, Кучинская ЕМ, Костик ММ. Анализ профиля экспрессии интерферонзависимых генов для дифференциальной диагностики заболеваний иммунной системы (обзор литературы). *Клиническая лабораторная диагностика*. 2021; 66 (5): 279–284. *Suspitsin EN, Raupov RK, Kuchinskaya EM, Kostik MM. Analysis of interferon type I signature for differential diagnosis of diseases of the immune system (review of literature). Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2021; 66 (5): 279–284. (in Russ.). <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2021-66-5-279-284>.
7. Михайлов АМ, Каравай МФ, Сивцов ВА, Курникова МА. Машинное обучение для диагностики заболеваний по полному профилю экспрессии генов. *Автоматика и телемеханика*. 2023; (7): 83–92. *Mihajlov AM, Karavaj MF, Sivcov VA, Kurnikova MA. Mashinnoe obuchenie dlya diagnostiki zabolevanij po polnomu profilu ekspressii genov. Avtomatika i telemekhanika*. 2023; (7): 83–92.
8. Алиева АМ, Теплова НВ, Кисляков ВА, Валиев РК, Рахаев АМ, Сарыев МН и др. Внеклеточная ДНК и сердечно-сосудистые заболевания. *РМЖ*. 2022; 5: 26–29. *Alieva AM, Teplova NV, Kislyakov VA, Valiev RK, Rahaev AM, Saryev MN et al. Vnekletochnaya DNK i serdechno-sosudistye zabolevaniya. RMZh*. 2022; 5: 26–29.
9. Стоногина ДА, Желанкин АВ, Васильев СВ, Генерозов ЭВ, Аксельрод АС. Диагностические возможности профилей циркулирующих микроРНК у пациентов с острым коронарным синдромом и стабильной ИБС. *Кардиология и сердечно-сосудистая хирургия*. 2024; 17 (2): 125–132. *Stonogina DA, Zhelankin AV, Vasiliev SV, Generozov EV, Akselrod AS. Diagnostic capabilities of circulating microRNA profiles in patients with acute coronary syndrome and stable coronary artery disease. Russian Journal of Cardiology and Cardiovascular Surgery*. 2024; 17 (2): 125–132. (In Russ.). <https://doi.org/10.17116/kardio202417021125>.
10. Villaseñor-Altamirano AB, Balderas-Martínez YI, Medina-Rivera A. Chapter 8 – Review of gene expression using microarray and RNA-seq. *Rigor and Reproducibility in Genetics and Genomics: Peer-reviewed, Published, Cited (Translational and Applied Genomics)*. Eds: D.F. Dluzen, M.H.M. Schmidt. Academic Press, 2024: 159–187. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-817218-6.00008-5>.
11. Kobashigawa J, Patel J, Azarbal B, Kittleson M, Chang D, Czer L et al. Randomized pilot trial of gene expression profiling versus heart biopsy in the first year after heart transplant: early invasive monitoring attenuation through gene expression trial. *Circ Heart Fail*. 2015 May; 8 (3): 557–564. <https://doi.org/10.1161/CIRC-HEARTFAILURE.114.001658>.
12. Horwitz PA, Tsai EJ, Putt ME, Gilmore JM, Lepore JJ, Parmacek MS et al. Detection of cardiac allograft rejection and response to immunosuppressive therapy with peripheral blood gene expression. *Circulation*. 2004 Dec 21; 110 (25): 3815–3821.
13. Deng MC, Eisen HJ, Mehra MR, Billingham M, Marboe CC, Berry G et al. Noninvasive discrimination of rejection in cardiac allograft recipients using gene ex-

- pression profiling. *Am J Transplant.* 2006 Jan; 6 (1): 150–160.
14. Fang KC. Clinical utilities of peripheral blood gene expression profiling in the management of cardiac transplant patients. *J Immunotoxicol.* 2007 Jul; 4 (3): 209–217.
 15. Deng MC. The AlloMap™ genomic biomarker story: 10 years after. *Clin Transplant.* 2017 Mar; 31 (3): e12900. <https://doi.org/10.1111/ctr.12900>.
 16. Shannon CP, Hollander Z, Dai DLY, Chen V, Assadian S, Lam KK et al. HEARTBiT: A transcriptomic signature for excluding acute cellular rejection in adult heart allograft patients. *Can J Cardiol.* 2020 Aug; 36 (8): 1217–1227.
 17. Loupy A, van Huyen JPD, Hidalgo L, Reeve J, Racapé M, Aubert O et al. Gene expression profiling for the identification and classification of antibody-mediated heart rejection. *Circulation.* 2017 Mar 7; 135 (10): 917–935. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.116.022907>.
 18. Afzali B, Chapman E, Racapé M, Adam B, Bruneval P, Gil F et al. Molecular assessment of microcirculation injury in formalin-fixed human cardiac allograft biopsies with antibody-mediated rejection. *Am J Transplant.* 2017 Feb; 17 (2): 496–505. <https://doi.org/10.1111/ajt.13956>.
 19. Tarazon E, Perez-Carrillo L, Garcia-Bolufer P, Triviño JC, Feijóo-Bandín S, Lago F et al. Circulating mitochondrial genes detect acute cardiac allograft rejection: role of the mitochondrial calcium uniporter complex. *Am J Transplant.* 2021 Jun; 21 (6): 2056–2066.
 20. Deuse T, Hu X, Agbor-Enoh S, Koch M, Spitzer MH, Gravina A et al. De novo mutations in mitochondrial DNA of iPSCs produce immunogenic neoepitopes in mice and humans. *Nat Biotechnol.* 2019 Oct; 37 (10): 1137–1144.
 21. Shah P, Valantine HA, Agbor-Enoh S. Transcriptomics in transplantation: more than just biomarkers of allograft rejection. *Am J Transplant.* 2021 Jun; 21 (6): 2000–2001.
 22. Lo YMD, Han DSC, Jiang P, Chiu RWK. Epigenetics, fragmentomics, and topology of cell-free DNA in liquid biopsies. *Science.* 2021 Apr 9; 372 (6538): eaaw3616. doi: 10.1126/science.aaw3616.
 23. Khush KK, Patel J, Pinney S, Kao A, Alharethi R, DePasquale E et al. Noninvasive detection of graft injury after heart transplant using donor-derived cell-free DNA: A prospective multicenter study. *Am J Transplant.* 2019 Oct; 19 (10): 2889–2899. doi: 10.1111/ajt.15339.
 24. Snyder TM, Khush KK, Valantine HA, Quake SR. Universal noninvasive detection of solid organ transplant rejection. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2011 Apr 12; 108 (15): 6229–6234. doi: 10.1073/pnas.1013924108.
 25. Sorbini M, Togliatto GM, Simonato E, Boffini M, Cappuccio M, Gambella A et al. HLA-DRB1 mismatch-based identification of donor-derived cell free DNA (dd-cfDNA) as a marker of rejection in heart transplant recipients: A single-institution pilot study. *J Heart Lung Transplant.* 2021 Aug; 40 (8): 794–804. doi: 10.1016/j.healun.2021.05.001.
 26. Knüttgen F, Beck J, Dittrich M, Oellerich M, Zittermann A, Schulz U et al. Graft-derived Cell-free DNA as a Noninvasive Biomarker of Cardiac Allograft Rejection: A Cohort Study on Clinical Validity and Confounding Factors. *Transplantation.* 2022 Mar 1; 106 (3): 615–622. doi: 10.1097/TP.0000000000003725.
 27. Agbor-Enoh S, Shah P, Tunc I, Hsu S, Russell S, Feller E et al. Cell-Free DNA to Detect Heart Allograft Acute Rejection. *Circulation.* 2021 Mar 23; 143 (12): 1184–1197. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.120.049098.
 28. De Vlaminck I, Valantine HA, Snyder TM, Strehl C, Cohen G, Luikart H et al. Circulating cell-free DNA enables noninvasive diagnosis of heart transplant rejection. *Sci Transl Med.* 2014 Jun 18; 6 (241): 241ra77. doi: 10.1126/scitranslmed.3007803.
 29. Holzhauser L, Clerkin KJ, Fujino T, Alenghat FJ, Raikhelkar J, Kim G et al. Donor-derived cell-free DNA is associated with cardiac allograft vasculopathy. *Clin Transplant.* 2021 Mar; 35 (3): e14206. doi: 10.1111/ctr.14206.
 30. DePasquale EC, Kobashigawa J, Hall S, Wolf-Doty T, Teuteberg J, Khush KK. Donor derived cell free DNA as a risk factor for initiating de-novo donor specific antibodies in heart transplantation. *J Heart Lung Transplant.* 2021 Apr; 40 (4): S217–S218.
 31. 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. doi: 10.1007/s11897-017-0362-8.
 32. Nováková T, Macháček T, Novák J, Hude P, Godava J, Žampachová V et al. Identification of a Diagnostic Set of Endomyocardial Biopsy microRNAs for Acute Cellular Rejection Diagnostics in Patients after Heart Transplantation Using Next-Generation Sequencing. *Cells.* 2019 Nov 6; 8 (11): 1400. doi: 10.3390/cells8111400.
 33. Великий ДА, Гичкун ОЕ, Шарапченко СО, Можейко НП, Курабекова РМ, Шевченко ОП. Диагностическое значение микроРНК-101 и микроРНК-27 при остром отторжении трансплантированного сердца. *Вестник трансплантологии и искусственных органов.* 2020; 22 (4): 20–26. Velikiy DA, Gichkun OE, Sharapchenko SO, Mozheiko NP, Kurabekova RM, Shevchenko OP. Diagnostic value of miRNA-101 and miRNA-27 in acute heart transplant rejection. *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs.* 2020; 22 (4): 20–26. (In Russ.). <https://doi.org/10.15825/1995-1191-2020-4-20-26>.
 34. Шевченко ОП, Великий ДА, Шарапченко СО, Гичкун ОЕ, Марченко АВ, Улыбышева АА и др. МикроРНК-27 и -339 при фиброзе миокарда трансплантированного сердца: анализ диагностической значимости. *Вестник трансплантологии и искусственных органов.* 2021; 23 (3): 73–81. Shevchenko OP, Velikiy DA, Sharapchenko SO, Gichkun OE, Marchenko AV, Ulybysheva AA et al. Diagnostic value of microRNA-27 and -339 in heart transplant recipients with myocardial fibrosis. *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs.* 2021; 23 (3): 73–81. (In Russ.). <https://doi.org/10.15825/1995-1191-2021-3-73-81>.
 35. Shevchenko O, Sharapchenko S, Gichkun O, Velikiy D, Mozheiko N, Makarova L et al. Diagnostic value of microRNA-27, microRNA-101 and ST2 for heart trans-

- plant acute rejection. *Clinica Chimica Acta*. 2022; 530: S452.
36. Pérez-Carrillo L, Sánchez-Lázaro I, Triviño JC, Feijóo-Bandín S, Lago F, González-Juanatey JR et al. Diagnostic value of serum miR-144-3p for the detection of acute cellular rejection in heart transplant patients. *J Heart Lung Transplant*. 2022 Feb; 41 (2): 137–147. doi: 10.1016/j.healun.2021.10.004.
37. Pérez-Carrillo L, Sánchez-Lázaro I, Triviño JC, Feijóo-Bandín S, Lago F, González-Juanatey JR et al. Combining Serum miR-144-3p and miR-652-3p as Potential Biomarkers for the Early Diagnosis and Stratification of Acute Cellular Rejection in Heart Transplantation Patients. *Transplantation*. 2023 Sep 1; 107 (9): 2064–2072. doi: 10.1097/TP.0000000000004622.
38. Hinkel R, Ramanujam D, Kaczmarek V, Howe A, Klett K, Beck C et al. AntimiR-21 Prevents Myocardial Dysfunction in a Pig Model of Ischemia/Reperfusion Injury. *J Am Coll Cardiol*. 2020 Apr 21; 75 (15): 1788–1800. doi: 10.1016/j.jacc.2020.02.041.
39. Lu J, Liu Y, Wang W, Li P, Qi F. Knockdown of miR-146a in regulatory T cells suppresses heart transplantation rejection in mice by increasing autophagy. *Transpl Immunol*. 2021 Apr; 65: 101372. doi: 10.1016/j.trim.2021.101372.
40. Gavroy B, Timmermans T, Van Caenegem O, Mastrobuoni S, Jacquet L, Latinne D, Poncelet AJ. Significance of HLA-matching and anti-HLA antibodies in heart transplant patients receiving induction therapy? *Transpl Immunol*. 2022 Dec; 75: 101706. doi: 10.1016/j.trim.2022.101706.
41. Sciacaluga C, Natali BM, Righini FM, Sorini Dini C, Landra F, Mandoli GE et al. Heart transplantation and anti-HLA antibody: myocardial dysfunction and prognosis – HeartLAY study. *ESC Heart Fail*. 2023 Oct; 10 (5): 2853–2864. doi: 10.1002/ehf2.14442.
42. Kobashigawa J, Colvin M, Potena L, Dragun D, Crespo-Leiro MG, Delgado JF et al. The management of antibodies in heart transplantation: An ISHLT consensus document. *J Heart Lung Transplant*. 2018 May; 37 (5): 537–547. doi: 10.1016/j.healun.2018.01.1291.
43. Moreno JD, Verma AK, Kopecky BJ, Dehner C, Kostelecky N, Vader JM et al. Angiotensin II Type 1 Receptor Antibody-mediated Rejection Following Orthotopic Heart Transplant: A Single-center Experience. *Transplantation*. 2022 Feb 1; 106 (2): 373–380. doi: 10.1097/TP.0000000000003712.
44. Nair N. Vascular rejection in cardiac allograft vasculopathy: Impact on graft survival. *Front Cardiovasc Med*. 2022 Aug 4; 9: 919036. doi: 10.3389/fcvm.2022.919036.
45. Giarraputo A, Barison I, Fedrigo M, Burrello J, Castellani C, Tona F et al. A Changing Paradigm in Heart Transplantation: An Integrative Approach for Invasive and Non-Invasive Allograft Rejection Monitoring. *Biomolecules*. 2021 Feb 1; 11 (2): 201. doi: 10.3390/biom11020201.
46. Castellani C, Burrello J, Fedrigo M, Burrello A, Bolis S, Di Silvestre D et al. Circulating extracellular vesicles as non-invasive biomarker of rejection in heart transplant. *J Heart Lung Transplant*. 2020 Oct; 39 (10): 1136–1148. doi: 10.1016/j.healun.2020.06.011.
47. Hu RW, Korutla L, Reddy S, Harmon J, Zielinski PD, Bueker A et al. Circulating Donor Heart Exosome Profiling Enables Noninvasive Detection of Antibody-mediated Rejection. *Transplant Direct*. 2020 Oct 19; 6 (11): e615. doi: 10.1097/TXD.0000000000001057.
48. Корнева ЛО, Осипова МА, Борцова МА, Мусаева ББ, Симоненко МА, Акино АД и др. Уровень некоторых микровезикул у пациентов с отторжением сердечного трансплантата. *Российский кардиологический журнал*. 2024; 29 (S8): 307. Korneva LO, Osipova MA, Borcova MA, Musaeva BB, Simonenko MA, Akino AD et al. Uroven' nekotoryh mikrovezikul u pacientov s ottorzheniem serdechnogo transplantata. *Rossiiskij kardiologicheskij zhurnal*. 2024; 29 (S8): 307.
49. Qian X, Shah P, Agbor-Enoh S. Noninvasive biomarkers in heart transplant: 2020–2021 year in review. *Curr Opin Organ Transplant*. 2022 Feb 1; 27 (1): 7–14. doi: 10.1097/MOT.0000000000000945.
50. Khachatoorian Y, Khachadourian V, Chang E, Sernas ER, Reed EF, Deng M et al. Noninvasive biomarkers for prediction and diagnosis of heart transplantation rejection. *Transplant Rev (Orlando)*. 2021 Jan; 35 (1): 100590. doi: 10.1016/j.trre.2020.100590.
51. Benck L, Sato T, Kobashigawa J. Molecular Diagnosis of Rejection in Heart Transplantation. *Circ J*. 2022 Jun 24; 86 (7): 1061–1067. doi: 10.1253/circj.CJ-21-0591.
52. Holzhauser L, DeFilippis EM, Nikolova A, Byku M, Contreras JP, De Marco T et al. The End of Endomyocardial Biopsy?: A Practical Guide for Noninvasive Heart Transplant Rejection Surveillance. *JACC Heart Fail*. 2023 Mar; 11 (3): 263–276. doi: 10.1016/j.jchf.2022.11.002.

Статья поступила в редакцию 12.03.2025 г.
The article was submitted to the journal on 12.03.2025