

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ДИАГНОСТИЧЕСКОЙ ЗНАЧИМОСТИ ПАНЕЛЕЙ БИОМАРКЕРОВ У РЕЦИПИЕНТОВ СЕРДЦА В ОТДАЛЕННЫЕ СРОКИ ПОСЛЕ ТРАНСПЛАНТАЦИИ

О.П. Шевченко^{1, 2}, А.В. Аксенова¹, А.А. Улыбышева^{1, 3}, Н.П. Можейко¹, Е.А. Никитина¹, В.И. Орлов¹, Е.А. Стаханова¹, А.О. Шевченко^{1, 2}

¹ ФГБУ «Федеральный научный 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 ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва, Российская Федерация

Цель. Выполнить сравнительный анализ диагностической эффективности sCD40L, PDGF-BB, VEGF-A и ST2 в составе панелей биомаркеров при отторжении трансплантированного сердца в различные сроки после трансплантации. **Материалы и методы.** В исследование включены 144 реципиента сердца в возрасте от 12 до 71 (44 ± 14) года, из них 112 мужчин. Концентрацию цитокинов измеряли в плазме периферической крови пациентов, взятой в день эндомикардиальной биопсии. Уровень растворимой формы лиганда CD40 (sCD40L), фактора роста эндотелия сосудов (VEGF-A), фактора роста тромбоцитов (PDGF-BB), измеряли с использованием мультиплексной технологии; уровень стимулирующего фактора роста ST2 – с помощью иммуноферментного анализа. **Результаты.** Уровень ST2 и VEGF-A был достоверно выше у мужчин, чем у женщин ($p = 0,03$). Уровни исследуемых биомаркеров не зависели от возраста, диагноза до трансплантации сердца (ТС), наличия артериальной гипертензии, сахарного диабета II типа. Сравнительный анализ уровней биомаркеров не показал достоверной разницы у пациентов с наличием отторжения сердечного трансплантата и без такового в первый месяц и в первый год после ТС. Концентрация ST2 была достоверно выше у пациентов с отторжением сердца, чем без такового, в отдаленные сроки (1–5 лет) после ТС ($p = 0,01$). Относительный риск развития отторжения трансплантированного сердца в отдаленные сроки после ТС у пациентов с концентрацией ST2, превышающей значение медианы (22,8 нг/мл), в 2,6 раза выше, чем у пациентов с концентрацией цитокина ниже медианы (чувствительность – 35%, специфичность – 93%). ST2 в составе панелей биомаркеров увеличивает их диагностическую значимость: для панели, включающей ST2, PDGF-BB и VEGF-A, относительный риск составлял $3,47 \pm 0,55$ (чувствительность – 57%, специфичность – 91%); для панели, включающей ST2, PDGF-BB и sCD40L – $3,75 \pm 0,59$ (чувствительность – 50%, специфичность – 92%) Сочетание ST2 и PDGF-BB обладало наибольшей диагностической значимостью ($RR = 5,00 \pm 0,56$ [95% ДИ 1,68–14,92]; чувствительность – 63%, специфичность – 94%). **Заключение.** Наибольшей диагностической значимостью при отторжении трансплантированного сердца в отдаленные сроки после трансплантации обладает ST2, и его применение в составе комплексных тестов с другими биомаркерами позволяет улучшить чувствительность неинвазивной диагностики отторжения. Наибольшей диагностической значимостью в отдаленные сроки после ТС обладает панель из двух биомаркеров: ST2 и PDGF-BB.

Ключевые слова: трансплантация сердца, отторжение, биомаркеры, sCD40L, VEGF-A, PDGF-BB, ST2.

Для корреспонденции: Аксенова Александра Владимировна. Адрес: 123182, Москва, ул. Щукинская, д. 1. Тел. (499) 190-38-77. E-mail: transplant2009@mail.ru.

For correspondence: Aksyonova Alexandra Vladimirovna. Address: 1, Shchukinskaya st., Moscow, 123182, Russian Federation. Tel. (499) 190-38-77. E-mail: transplant2009@mail.ru

COMPARATIVE ANALYSIS OF DIAGNOSTIC SIGNIFICANCE OF BIOMARKERS' PANELS IN CARDIAC RECIPIENTS IN THE LONG TERM PERIOD AFTER TRANSPLANTATION

O.P. Shevchenko^{1, 2}, A.V. Aksyonova¹, A.A. Ulybysheva^{1, 3}, N.P. Mozheiko¹, E.A. Nikitina¹, V.I. Orlov¹, E.A. Stakhanova¹, A.O. Shevchenko^{1, 2}

¹ V.I. Shumakov Federal Research Center of Transplantology and Artificial Organs of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation

² I.M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation

³ N.I. Pirogov Russian National Research Medical University of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation

Aim. To perform comparative analysis of the diagnostic efficacy of sCD40L, PDGF-BB, VEGF-A and ST2 in recipients with cardiac rejection in different periods after transplantation. **Materials and methods.** The study included 144 cardiac recipients aged from 12 to 71 (mean age 44 ± 14) years old, among those 112 were men. Venous blood plasma taken on the same day with endomyocardial biopsy was used for the study. The concentrations of soluble CD40 ligand (sCD40L), vascular endothelial growth factor (VEGF-A), platelet-derived growth factor (PDGF-BB) were measured using xMAP technology. The concentrations of ST2 were measured by ELISA. **Results.** Men had significantly higher levels of ST2 and VEGF-A compared to women ($p = 0.03$). No correlation was found between the levels of biomarkers (sCD40L, PDGF-BB, VEGF-A, ST2) and age, diagnosis before transplantation, presence of arterial hypertension and diabetes mellitus. Comparative analysis of the biomarkers' levels didn't show significant difference between patients with heart transplant rejection and without it in the first month and in the first year after transplantation. The ST2 level was significantly higher in patients with heart rejection ($p = 0.01$) in the long term period (1–5 years) after transplantation compared to patients without rejection. Relative risk of cardiac transplant rejection was significantly higher in patients with high (>22.8 ng/ml) ST2 level ($RR = 2.59 \pm 0.33$; Se – 35%, Sp – 93%). However, its combination with other biomarkers improved their diagnostic value. Relative risk for panel including ST2, VEGF-A and PDGF-BB 3.47 ± 0.55 , Se – 57%, Sp – 91%; relative risk for panel including ST2, sCD40L and PDGF-BB was 3.75 ± 0.59 , Se – 50%, Sp – 92%. The highest diagnostic efficacy for the heart transplant rejection was reached by a panel of biomarkers that included ST2 and PDGF-BB ($RR = 5.0 \pm 0.56$ [95% CI 1.68–14.92], Se – 63%, Sp – 94%). **Conclusion.** ST2 had the biggest diagnostic value for heart transplant rejection in the long term period after heart transplantation. Its usage as a part of complex tests with other biomarkers improves the sensitivity of noninvasive diagnosis of the cardiac rejection. The highest diagnostic significance for cardiac transplant rejection in the long term period was shown by a panel of ST2 and PDGF-BB.

Key words: heart transplantation, rejection, biomarkers, sCD40L, VEGF-A, PDGF-BB, ST2.

Увеличение числа трансплантаций сердца (ТС) и улучшение их клинических результатов повлекло за собой развитие и совершенствование неинвазивных методов наблюдения и лечения пациентов с пересаженным сердцем. Это обусловлено, с одной стороны, необходимостью контроля адекватного баланса между риском отторжения сердечного трансплантата и побочными действиями иммуносупрессии, с другой – потребностью уменьшения, по возможности, частоты и количества инвазивных вмешательств, в первую очередь, эндомикардиальной биопсии. Разработка неинвазивных методов выявления отторжения трансплантированного органа позволяет улучшить раннюю диагностику и увеличить продолжительность жизни пациентов за счет минимизации поздних посттрансплантационных осложнений [1, 2].

В последние годы большое число исследований посвящено разработке и анализу диагностической эффективности различных биомаркеров, участвующих в патогенезе повреждения трансплантата [3–6]. Однако сложность их применения на практике обуславливается неспецифичностью тестов и наличием большого числа факторов, влияющих на уровень этих показателей [7–12]. Использование панели из нескольких анализов позволяет повысить чувствительность и специфичность мультимаркерных тестов [13, 14]. В предыдущих работах нами было показано, что сочетание тестов на VEGF-A, PIGF-1 и sCD40L в составе мультиплексной панели обладает наибольшей диагностической эффективностью у пациентов с риском острого клеточного отторжения трансплантированного сердца [15].

В настоящем исследовании был выполнен сравнительный анализ диагностической значимости биомаркеров по отдельности либо в составе комплексных тестов (панелей), состоящих из различных сочетаний следующих цитокинов: растворимая форма лиганда CD40 (sCD40L), тромбоцитарный фактор роста (PDGF-BB), фактор роста эндотелия сосудов (VEGF-A), стимулирующий фактор роста (ST2), концентрации которых были измерены у реципиентов сердца в день взятия эндомикардиальной биопсии в различные сроки после ТС.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование включены 144 пациента, которым в период с 2011-го по 2016 год в Федеральном научном центре трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова была выполнена ТС.

Все реципиенты сердца проходили плановое обследование, включающее анализ жалоб и анамнеза заболевания, клинический осмотр, термометрию, лабораторные и инструментальные методы исследования. Неинвазивные методы диагностики включали: электрокардиографию в 12 отведениях, эхокардиографию, нагрузочную пробу, ультразвуковую доплерографию сосудов. Пациентам ежегодно или по показаниям проводилось коронароангиографическое исследование. При верификации наличия стенозов коронарных артерий оценивалась локализация поражения и степень сужения в каждой из ветвей коронарных артерий.

В раннем послеоперационном периоде выполнение ЭМБ проводилось на 5–7-е сутки, затем на 17–20-е сутки. В последующем проводился контроль ЭМБ при плановом клинико-лабораторном обследовании или по показаниям.

Верификацию острого клеточного отторжения (ОКО) производили на основании гистологического исследования образцов эндомикардиальных биоптатов. Степень клеточного отторжения трансплантационного сердца оценивали по рекомендованной классификации Международного общества трансплантации сердца и легких (International Society for Heart and Lung Transplantation – working formulation, ISHLT-WF 2004) и по используемой ранее Стенфордской классификации, принятой в 1990 году (ISHLT-WF, 1990) [16]. Иммуногистохимическое исследование эндомикардиального биоптата осуществляли с оценкой фиксации основных классов иммуноглобулинов (IgG, IgA, IgM) и C4d-фрагментов комплемента в стенках сосудов миокарда, методами прямой и непрямой иммунофлуоресценции на криостатных срезах; результаты оценивали с учетом рекомендаций ISHLT 2005 года.

Все пациенты принимали трехкомпонентную иммуносупрессивную терапию, включающую ком-

бинацию двух препаратов: ингибиторы кальциневрина (такролимус) и цитостатики (микофенолата мофетил или микофеноловая кислота), а также варьирующие дозы преднизолона перорально, в зависимости от сроков после операции и частоты эпизодов отторжения трансплантата.

Материалом для исследования концентрации биомаркеров служила плазма венозной крови пациентов, взятой натощак в день выполнения ЭМБ; всего исследовано 198 образцов (1–4 от каждого пациента, в среднем $1,4 \pm 0,2$). Концентрацию VEGF-A, PDGF-BB, sCD40L измеряли с использованием мультиплексной технологии с помощью сформированной для настоящего исследования панели биомаркеров (набор реагентов Simplex ProcartaPlex™, Affymetrix, США) [15]. Детекция результатов проводилась на проточном флуоресцентном анализаторе Luminex (Luminex Corporation, США). Концентрацию ST2 измеряли с помощью иммуноферментного анализа Presage ST2 (Critical Diagnostics, Сан-Диего, США).

Анализ и обработка данных производились с помощью программы IBM SPSS STATISTICS 20 (IBM SPSS Inc., США). Для сравнения выборок использовали U-критерий Манна–Уитни, медианный критерий, критерий Колмогорова–Смирнова, критерий Краскала–Уоллиса, критерий упорядоченных альтернатив Джонкхиера–Тепстра. Для всех критериев данные считались достоверными при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Диапазон концентраций исследуемых биомаркеров варьировал в широких пределах и соответствовал непараметрическому распределению, поэтому для сравнения данных было использовано пороговое значение (медианы) (табл. 1).

Таблица 1

Результаты анализа уровней биомаркеров у реципиентов сердца

The levels of biomarkers in cardiac recipients

	Медиана	Интерквартильный размах
sCD40L, пг/мл	3,7	[2,4; 41,3]
PDGF-BB, пг/мл	2465,1	[1446,6; 3516,9]
VEGF-A, пг/мл	151,7	[94,6; 244,6]
ST2, нг/мл	39,0	[25,2; 74,0]

Основные клинические и демографические характеристики реципиентов сердца представлены в табл. 2.

Возраст реципиентов – 112 (77,8%) мужчин и 32 (22,2%) женщины – варьировал от 12 до 71 (в среднем 44 ± 14) года. У 101 реципиента до ТС была диагностирована дилатационная кардиомиопатия (ДКМП), у 43 – ишемическая болезнь сердца (ИБС). Артериальная гипертензия была выявлена у

Таблица 2

Клиническая характеристика реципиентов сердца**Baseline demographics and clinical data of cardiac recipients**

Параметры		Показатели, n (%)
Пол	Женщины	32 (22,2%)
	Мужчины	112 (77,8%)
Возраст, лет		От 12 до 71 (44 ± 14)
Диагноз	ДКМП	101 (70,1%)
	ИБС	43 (29,9%)
Сопутствующие заболевания		
Сахарный диабет		9 (6,3%)
Артериальная гипертензия		32 (22,2%)
Хроническая болезнь почек		17 (11,8%)
Перенесенное ОНМК		14 (9,7%)

32 пациентов, сахарный диабет II типа – у 9 пациентов, хроническая болезнь почек – у 17 пациентов. Острое нарушение мозгового кровообращения (ОНМК) было в анамнезе у 14 пациентов. Длительность наблюдения пациентов после ТС составила от 3 до 1559 суток.

Концентрация sCD40L и PDGF-BB не зависела от пола. Концентрация ST2 и VEGF-A была достоверно выше у мужчин, чем у женщин ($p = 0,03$). Гендерные различия уровней ST2, полученные в настоящем исследовании, подтверждаются данными зарубежных исследователей [17]. Не выявлено связи уровней исследуемых цитокинов с возрастом пациентов. Сравнительный анализ концентраций биомаркеров показал отсутствие различий у пациентов с ДКМП и ИБС: sCD40L ($p = 0,47$), PDGF-BB ($p = 0,53$), VEGF-A ($p = 0,32$), ST2 ($p = 0,08$). Концентрация исследуемых аналитов не зависела от наличия артериальной гипертензии и сахарного диабета. Концентрация VEGF-A была достоверно выше у пациентов с хронической болезнью почек ($p = 0,03$), тогда как уровни других биомаркеров не отличались в группах с данной патологией и без нее.

В течение периода наблюдения после ТС по результатам 85 биопсий (61 пациент) было диагностировано отторжение. Гистохимические признаки ОКО обнаружены в 70 биоптатах (52 реципиента): 1А – в 59 биоптатах (46 пациентов), 1В – в 5 биоптатах (5 пациентов), 3А – в 6 биоптатах (6 пациентов). Иммуногистохимические признаки антителоопосредованного отторжения (AMR) выявлены в 6 биоптатах (5 пациентов). Сочетание острого клеточного (1А) и гуморального отторжения (AMR) обнаружено в 9 биоптатах (7 пациентов). В 113 биоптатах (99 пациентов) не было обнаружено морфологических и иммуногистохимических признаков отторжения.

На рис. 1 представлены результаты сравнительного анализа концентрации биомаркеров в плазме крови у реципиентов сердца с развившимися после трансплантации сердечно-сосудистыми осложнениями и без таковых.

Возрастание концентрации sCD40L при остром клеточном и гуморальном отторжении имеет характер тенденции, хотя и не обладает статистической значимостью. Уровень VEGF-A в момент ЭМБ достоверно не отличается у пациентов при различных видах отторжения трансплантированного сердца.

Медиана концентрации PDGF-BB у пациентов без отторжения составляла 2260,9 пг/мл, у пациентов с ОКО – 2546,7 пг/мл, с AMR – 2921,8 пг/мл, при сочетании ОКО и AMR – 2994,2 пг/мл. Уровень PDGF-BB был достоверно выше у реципиентов с гуморальным отторжением сердечного трансплантата по сравнению с пациентами без отторжения ($p = 0,03$). Установлено увеличение концентрации данного биомаркера при остром клеточном и смешанном видах отторжения, но различия не достигали статистической значимости ($p = 0,20$, $p = 0,17$ соответственно).

Медиана концентрации ST2 у пациентов без отторжения составляла 34,7 нг/мл и была достоверно ниже, чем у пациентов с ОКО (42,4 нг/мл; $p = 0,04$). Концентрации этого маркера при AMR и комбинации ОКО и AMR хотя и были выше, чем у пациентов без отторжения (36,3 и 83,7 нг/мл соответственно), однако эти различия были недостоверны ($p = 0,7$, $p = 0,13$ соответственно).

Проведен сравнительный анализ концентрации биомаркеров в послеоперационном периоде (<1 месяца) у 86 пациентов, в период от 1 месяца до года у 30 пациентов и в отдаленные сроки (>1 года) после ТС у 37 пациентов; медианы концентраций sCD40L, PDGF-BB и VEGF-A в эти периоды не отличались. Отмечается тенденция к снижению концентрации ST2 в период от 1 месяца до года в сравнении с послеоперационным периодом (рис. 2).

Уровень ST2 достоверно выше у пациентов в период от 1 месяца до года, чем в отдаленные сроки после ТС ($p = 0,01$). Также следует отметить, что концентрация этого маркера в послеоперационном периоде достоверно выше, чем в отдаленные сроки ($p = 0,03$).

Достоверная разница между уровнями исследуемых биомаркеров у пациентов с отторжением и без такового отсутствует в первый месяц и в период до 1 года после ТС.

Среди пациентов в отдаленные сроки ОКО установлено по результатам 9 биопсий (6 пациентов), AMR – по результатам 3 биопсий, сочетание двух видов отторжения – по результатам 6 биопсий (5 пациентов).

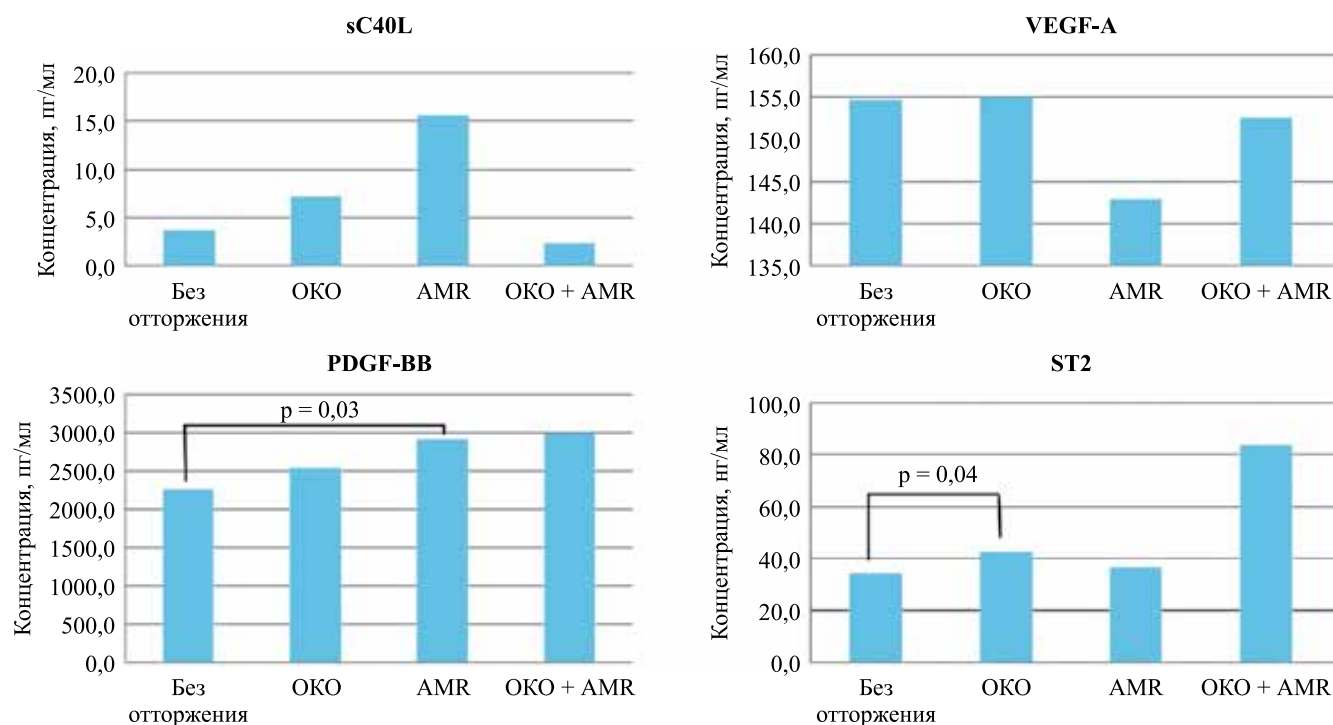


Рис. 1. Сравнительный анализ концентрации биомаркеров (медианы) у реципиентов сердца с развившимися после трансплантации сердечно-сосудистыми осложнениями и без таковых

Fig. 1. Comparative analysis of biomarkers' plasma concentrations (median) in the cardiac recipients with and without cardiovascular complications after transplantation

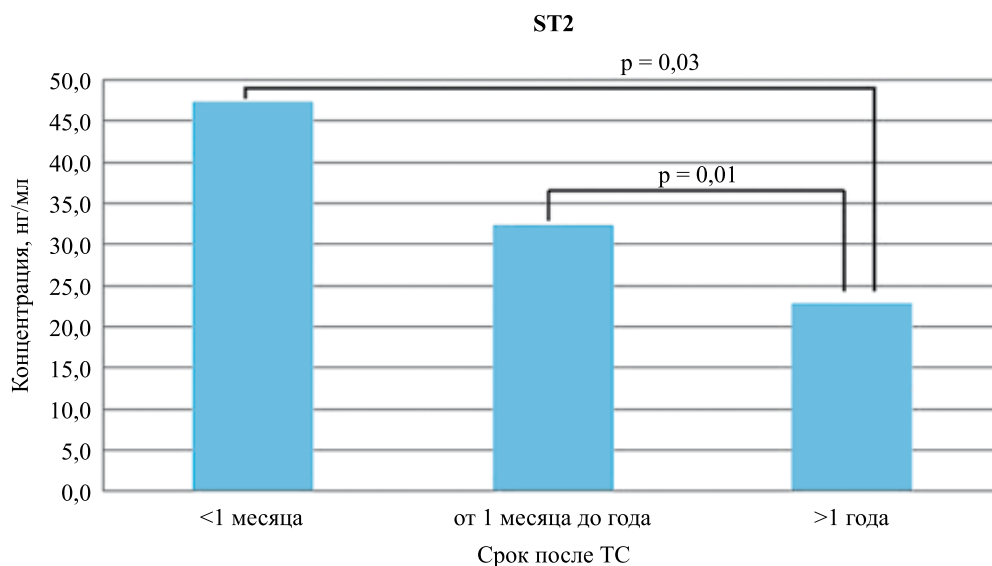


Рис. 2. Динамика уровня ST2 у реципиентов сердца после трансплантации

Fig. 2. ST2 plasma levels dynamics in cardiac recipients after transplantation

В отдаленные сроки после ТС пороговое значение для ST2 составляло 22,8 нг/мл, для PDGF-BB – 2569,0 пг/мл, для VEGF-A, – 117,7 пг/мл, для sC40L – 2,4 пг/мл. Наибольшие различия концентраций у пациентов с отторжением и без такового выявлены для двух биомаркеров: ST2 и PDGF-BB (рис. 3).

Концентрация ST2 достоверно выше у пациентов с отторжением сердца, чем без такового ($p = 0,01$). Уровень PDGF-BB имел тенденцию к увеличению у пациентов с отторжением, однако эти различия не достигали статистической значимости.

Результаты проведенного анализа показали, что тест на ST2 у пациентов с трансплантированным

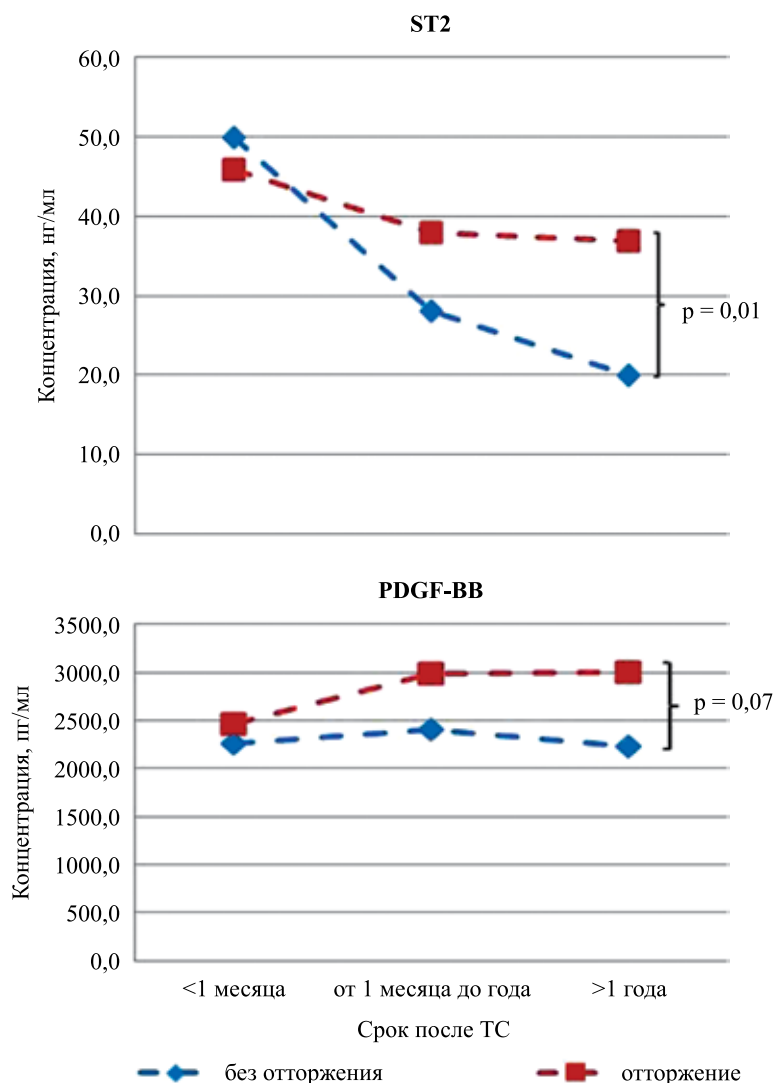


Рис. 3. Сравнительный анализ концентрации ST2 и PDGF-BB у пациентов с отторжением трансплантата и без такового после ТС

Fig. 3. Comparative analysis of PDGF-BB and ST2 plasma concentrations in patients with and without heart rejection after transplantation

ным сердцем имеет диагностическое значение для оценки риска развития отторжения; при пороговом значении 22,8 нг/мл тест обладает следующими характеристиками: чувствительностью 35%, специфичностью 94% ($RR = 2,59 \pm 0,33$).

Для остальных биомаркеров (PDGF-BB, VEGF-A, sCD40L) величина относительного риска не различалась между пациентами с отторжением и без такового. Однако их сочетание с ST2 повышало диагностическое значение каждого. Риск развития отторжения у пациентов с уровнем и ST2, и PDGF-BB, и VEGF-A, превышающих пороговое значение, оказался в 3,47 раза выше, чем у остальных пациентов ($RR = 3,47 \pm 0,55$; чувствительность – 57%, специфичность – 91%). При использовании комплексного теста, состоящего из ST2, PDGF-BB и sCD40L, относительный риск развития отторжения составил $3,75 \pm 0,59$; чувствительность – 50%, специфич-

ность – 92%. Сочетание ST2 и PDGF-BB обладало наибольшей диагностической значимостью ($RR = 5,00 \pm 0,56$ [95% ДИ 1,68–14,92]; чувствительность – 63%, специфичность – 94%). При использовании данной панели чувствительность метода значительно увеличилась, что говорит о перспективах использования данного теста для диагностики отторжения пересаженного сердца в отдаленные сроки после трансплантации.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В раннем периоде после ТС различия в концентрации биомаркеров у пациентов с отторжением и без такового менее выражены, чем в отдаленные сроки. Возможно, это связано с влиянием множества других факторов, действующих на пациента в послеоперационном периоде и в первый год после ТС и тем самым нивелирующих диагностическую значи-

мость исследуемых цитокинов. В отдаленные сроки, когда состояние реципиентов сердца стабилизируется на фоне подобранной иммуносупрессивной терапии, становится возможным оценить их вклад в развитие осложнений.

Из четырех исследуемых показателей наибольшей диагностической значимостью при отторжении трансплантированного сердца в отдаленные сроки после трансплантации обладает ST2, и его применение в составе комплексных тестов с другими биомаркерами позволяет улучшить чувствительность неинвазивной диагностики отторжения. Риск развития отторжения у пациентов с уровнем и ST2, и PDGF-BB, превышающим их пороговое значение, оказался в 5 раз выше, чем у остальных пациентов. Данные результаты могут служить основанием для формирования диагностической панели для выявления пациентов с высоким риском отторжения в отдаленные сроки после трансплантации сердца.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Насырова АА, Шевченко АО. Функциональные показатели магистральных артерий и риск отторжения трансплантированного сердца. *Трансплантология: итоги и перспективы*. Том VII. 2015 год. Под ред. С.В. Готье. М.–Тверь: Триада, 2016: 431–450. Nasyrova AA, Shevchenko AO. Funktsional'nye pokazateli magistral'nykh arteriy i risk ottorzheniya transplantirovannogo serdtsa. *Transplantologiya: itogi i perspektivy*. Tom VII. 2015 god. Pod red. S.V. Gautier. M.–Tver': Triada, 2016: 431–450.
2. Labarrere CA, Jaeger BR. Biomarkers of heart transplant rejection: the good, the bad, and the ugly! *Transplantational Research*. 2012; 159 (4): 238–251.
3. Долгов ВВ, Шевченко ОП, Шевченко АО. Биомаркеры в лабораторной диагностике. М.–Тверь: Триада, 2014: 288. Dolgov VV, Shevchenko OP, Shevchenko AO. Biomarkery v laboratornoy diagnostike. M.–Tver': Triada, 2014: 288.
4. Martinez-Dolz L, Almenar L, Reganon E et al. What is the best biomarker for diagnosis of rejection in heart transplantation? *Clinical Transplantation*. 2009; 23: 672–680.
5. 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.
6. Kramer F, Milting H. Novel biomarkers in human terminal heart failure and under mechanical circulatory support. *Biomarkers: Biochemical Indicators of Exposure, Response, and Susceptibility to Chemicals*. 2011; 16: 31–41.
7. Frangogiannis NG. Biomarkers: hopes and challenges in the path from discovery to clinical practice. *Transplantational Research*. 2012; 159 (4): 197–204.
8. McMinn JF, Lang NN, McPhadden A et al. Biomarkers of acute rejection following cardiac transplantation. *Biomarkers in Medicine*. 2014; 8 (6): 815–832.
9. Savic-Radojevic A, Pljesa-Ercegovac M, Matic M et al. Novel biomarkers of heart failure. *Advances In Clinical Chemistry*. 2017; 79: 93–152.
10. Rywik TM, Janas J, Klisiewicz A et al. Prognostic value of novel biomarkers compared with detailed biochemical evaluation in patients with heart failure. *Polskie Archiwum Medycyny Wewnetrznej*. 2015; 125 (6): 434–442.
11. Schmitter D, Cotter G, Voors AA. Clinical use of novel biomarkers in heart failure: towards personalized medicine. *Heart Failure Reviews*. 2014; 19 (3): 369–381.
12. Ghashghaei R, Arbit B, Maisel AS. Current and novel biomarkers in heart failure: bench to bedside. *Current Opinion in Cardiology*, 2016; 31 (2): 191–195.
13. Breen EJ, Polaskova V, Khan A. Bead-based multiplex immune-assays for cytokines, chemokines, growth factors and other analytes: median fluorescence intensities versus their derived absolute concentration values for statistical analysis. *Cytokine*. 2015; 71 (2): 188–198.
14. Jungbauer CG, Riedlinger J, Block D et al. Panel of emerging cardiac biomarkers contributes for prognosis rather than diagnosis in chronic heart failure. *Biomarkers in Medicine*. 2014; 8 (6): 777–789.
15. Стаханова ЕА, Шевченко ОП. Роль мультиплексного анализа биомаркеров неоангиогенеза и воспаления при трансплантации сердца. *Трансплантология: итоги и перспективы*. Том VII. 2015 год. Под ред. С.В. Готье. М.–Тверь: Триада, 2016: 422–442. Stakhonova EA, Shevchenko OP. Rol' mul'tipleksnogo analiza biomarkerov neoangiogeneza i vospaleniya pri transplantatsii serdtsa. *Transplantologiya: itogi i perspektivy*. Tom VII. 2015 god. Pod red. S.V. Gautier. M.–Tver': Triada, 2016: 422–442.
16. Stewart S, Winters GL, Fishbein MC et al. Revision of the 1990 working formulation for the standardization of nomenclature in the diagnosis of heart rejection. *Journal of Heart and Lung Transplantation*. 2005; 24 (11): 1710–1720.
17. Coglianese EE, Larson MG, Vasan RS et al. Distribution and clinical correlates of the interleukin receptor family member soluble ST2 in the framingham heart study. *Clin. Chem*. 2012; 58 (12): 1673–1681.

Статья поступила в редакцию 13.01.2017 г.
The article was submitted to the journal on 13.01.2017