

## Циркулююча мікроРНК-126 у хворих на ішемічну хворобу серця та цукровий діабет 2 типу, її зв'язок із глюкометаболічними порушеннями

С. А. Серік  \*A,C,D,E,F, Н. Р. Мавричева  A,B,C,D, Т. М. Бондар  B,C

ДУ «Національний інститут терапії імені Л. Т. Малої Національної академії медичних наук України», м. Харків

A – концепція та дизайн дослідження; B – збір даних; C – аналіз та інтерпретація даних; D – написання статті; E – редагування статті; F – остаточне затвердження статті

**Мета роботи** – вивчити рівні циркулюючої мікроРНК-126-3р та її взаємозв'язки з глюкометаболічними показниками у хворих на ішемічну хворобу серця (ІХС) у поєднанні з цукровим діабетом (ЦД) 2 типу.

**Матеріали та методи.** У дослідження залучили 68 хворих на стабільну ІХС та ЦД 2 типу, 25 пацієнтів з ІХС без ЦД, а також 18 здорових осіб (контрольна група). МікроРНК-126-3р визначали в плазмі крові методом полімеразної ланцюгової реакції в режимі реального часу. Як ендogenous контроль використовували малу ядерну РНК U6.

**Результати.** Рівні мікроРНК-126-3р у пацієнтів з ІХС і ЦД 2 типу (50,32 [19,54; 93,82] в. о.) та без нього (109,46 [49,52; 211,11] в. о.) були вищими, ніж у контрольній групі (17,95 [13,74; 35,01] в. о.,  $p = 0,018$ ,  $p < 0,001$ ). Але у хворих на ІХС і ЦД 2 типу мікроРНК-126-3р достовірно зменшувалась щодо показника пацієнтів без ЦД ( $p < 0,001$ ).

У хворих на ІХС і ЦД 2 типу виявили вірогідний зворотний зв'язок мікроРНК1263р із рівнем глюкози крові ( $R = -0,259$ ,  $p = 0,037$ ), а також негативні кореляції з глікозильованим гемоглобіном та індексом інсулінорезистентності HOMA-IR, що досягали пограничної статистичної значущості ( $R = -0,246$ ,  $p = 0,056$ ;  $R = -0,229$ ,  $p = 0,082$ ). У пацієнтів із ЦД 2 типу нижчий рівень мікроРНК-126-3р (1 тертиль) асоціювався зі значущим збільшенням рівня глюкози та HOMA-IR порівняно з 3 тертиллю ( $p = 0,011$ ,  $p = 0,041$ ).

За результатами ROC-аналізу, зниження мікроРНК-126-3р вірогідно відрізняло наявність ЦД 2 типу у хворих на ІХС: AUC становила 0,734 (95 % ДІ: 0,631–0,822,  $p < 0,001$ ).

**Висновки.** У пацієнтів зі стабільною ІХС і ЦД 2 типу та без нього рівні циркулюючої мікроРНК-126-3р підвищувалися порівняно з контролем, можливо, внаслідок компенсаторних механізмів. Але в пацієнтів із ЦД 2 типу експресія мікроРНК-126-3р вірогідно менша, ніж у хворих без ЦД. Нижчі рівні мікроРНК-126-3р у хворих на ІХС і ЦД 2 типу асоціювались зі зростанням глікемії та інсулінорезистентності. МікроРНК-126-3р може бути потенційним біомаркером для прогнозування і ранньої діагностики ЦД 2 типу у хворих на ІХС.

### Ключові слова:

ішемічна хвороба серця, цукровий діабет 2 типу, мікроРНК, глюкоза крові, інсулінорезистентність.

Запорізький медичний журнал. 2022. Т. 24, № 5(134). С. 501-508

\*E-mail: serik123@ukr.net

## Circulating microRNA-126 in patients with ischemic heart disease with type 2 diabetes mellitus and its relationship with glucometabolic disorders

S. A. Serik, N. R. Mavrycheva, T. M. Bondar

**The aim** of the study was to investigate circulating microRNA-126-3p levels and its relationships with glucometabolic indices in patients with ischemic heart disease (IHD) and type 2 diabetes mellitus (T2DM).

**Materials and methods.** The study included 68 patients with stable coronary artery disease (CAD) and T2DM, 25 CAD patients without diabetes and 18 healthy individuals as a control. MiRNA126-3p was determined in blood plasma by real time polymerase chain reaction. Small nuclear RNA U6 was used as an endogenous control.

**Results.** Circulating miRNA-126-3p levels in CAD patients both with T2DM (50.32 [19.54; 93.82]) and without diabetes (109.46 [49.52; 211.11]) were higher than in the controls (17.95 [13.74; 35.01]) ( $P = 0.018$  and  $P < 0.001$ ). But in patients with T2DM, miRNA126-3p level was decreased in comparison with patients without diabetes ( $P < 0.001$ ).

In patients with T2DM, miRNA-126-3p displayed a significant negative correlation with blood glucose level ( $R = -0.259$ ,  $P = 0.037$ ) and was correlated negatively with glycosylated hemoglobin ( $R = -0.246$ ,  $P = 0.056$ ) and insulin resistance index HOMA-IR ( $R = -0.229$ ,  $P = 0.082$ ) reaching boundary level of statistical significance. In diabetic patients, lower miRNA-126-3p level (the 1<sup>st</sup> tertile) was associated with a significant increase in blood glucose level and HOMA-IR in comparison with the 3<sup>rd</sup> tertile ( $P = 0.011$  and  $P = 0.041$ ).

According to the ROC-analysis, the decrease in miRNA-126-3p levels was significantly associated with the presence of T2DM in patients with CAD: AUC was 0.734 (95 % CI: 0.631–0.822,  $P < 0.001$ ).

**Conclusions.** Circulating miRNA-126-3p levels in CAD patients both with and without T2DM were increased compared to the controls, possibly due to compensatory mechanisms. However, in patients with T2DM, miRNA-126-3p expression was significantly lower than in patients without T2DM.

The lowest miRNA-126-3p level in CAD patients with T2DM was associated with the significant elevation of blood glucose level and the increase in insulin resistance. MiRNA-126-3p may serve as potential biomarker for predicting and early diagnosis of T2DM in patients with CAD.

### Key words:

coronary artery disease, type 2 diabetes mellitus, microRNA, blood glucose, insulin resistance.

Zaporozhye medical journal 2022; 24 (5), 501-508

Серцево-судинні захворювання залишаються провідною причиною смерті в усьому світі, нині вони щороку забирають більше життів, ніж сумарно рак і хронічні захворювання нижніх дихальних шляхів [1]. «Найбільший убивця» – ішемічна хвороба серця (ІХС), що спричиняє 16 % від загальної кількості смертей у світі [2].

Згідно з реєстрами EUROASPIRE V, CLARIFY, майже 30 % хворих на ІХС мають уже діагностований цукровий діабет (ЦД) [3,4], ще у 9 % пацієнтів ЦД 2 типу виявляють уперше [3]. ЦД істотно погіршує прогноз хворих на ІХС, підвищуючи ризик смерті та серцево-судинних подій на 30–40 % [4,5]. Глобальний тягар атеросклеротичних серцево-судинних захворювань і діабету, що невинно збільшується, спричиняє необхідність детально вивчити молекулярні механізми виникнення та прискореного прогресування діабет-асоційованих судинних уражень, а також визначити нові терапевтичні цілі для ефективного запобігання або пом'якшення клінічних наслідків атеросклерозу, індукованого ЦД.

Дослідження останніх років показали важливу роль малих некодуючих РНК, а особливо мікроРНК, у контролі метаболізму глюкози та патогенезі діабет-асоційованого атеросклерозу [6,7]. МікроРНК – ключовий клас внутрішньоклітинних посттранскрипційних модуляторів, що продукуються майже всіма клітинами організму. МікроРНК можуть стабільно перебувати в позаклітинному просторі, сироватці та інших рідинах організму, що робить їх перспективними біомаркерами при різних захворюваннях [8]. Важливо, що позаклітинні циркулюючі мікроРНК залишаються біологічно активними і, транспортуючись у рідинах організму, можуть опосередковувати паракринну й ендокринну комунікацію між різними тканинами, а отже модулювати експресію генів і функцію віддалених клітин-реципієнтів [8,9]. Нові дані свідчать, що змінені рівні позаклітинних мікроРНК в рідинах організму (як частина реакції клітини на атерогенні фактори) асоціюються з розвитком атеросклерозу [9].

Кілька мікроРНК, що пов'язані з патофізіологією ЦД 2 типу, також асоціюються з патогенезом атеросклеротичних серцево-судинних захворювань. Одна з них – мікроРНК-126, що секретується передусім у судинному ендотелії [6,8]. За результатами експериментальних досліджень, мікроРНК-126 властиві антиатеросклеротичні, протизапальні та проангіогенні ефекти [6,8,10]. Показано, що мікроРНК-126 пригнічує запалення та продукцію активних радикалів кисню в ендотеліальних клітинах в умовах гіперглікемії [11]. Ці дані вказують на патогенетичний зв'язок між дисрегуляцією експресії мікроРНК-126 і діабет-асоційованим судинним запаленням. МікроРНК-126 безпосередньо контролює гени сигнальних шляхів інсуліну та може спричиняти інсулінорезистентність і порушення толерантності до глюкози [12,13]. Втім, гіперглікемія може мати й зворотний вплив на мікроРНК-126, пригнічуючи її експресію [11,14].

Метааналізи клінічних досліджень циркулюючих мікроРНК при ЦД однозначно свідчать про зменшення експресії мікроРНК-126 у хворих на ЦД 2 типу [15]. Разом із тим, систематичний огляд мікроРНК при ІХС вказує на суперечливість даних про дисрегуляцію мікроРНК126 у пацієнтів і з гострим коронарним синдромом, і зі стабільною ІХС, адже в одних дослідженнях виявили її підвищені рівні, а в інших – знижені [16].

## Мета роботи

Вивчити рівні циркулюючої мікроРНК-126-3р та її взаємозв'язки з глюкометаболічними показниками у хворих на ІХС у поєднанні з ЦД 2 типу.

## Матеріали і методи дослідження

Дослідження здійснили, дотримуючись основних біоетичних положень Конвенції Ради Європи про права людини та біомедицину (від 04.04.1997 р.), Гельсінської декларації Всесвітньої медичної асоціації про етичні принципи здійснення наукових медичних досліджень за участю людини (1964–2008 рр.), а також наказу МОЗ України № 690 від 23.09.2009 р. Усі залучені в дослідження особи підписали інформовану згоду на участь.

Обстежили 68 хворих на стабільну ІХС та ЦД 2 типу, 25 пацієнтів зі стабільною ІХС без діабету, а також 18 практично здорових осіб (контрольна група). Діагноз ІХС верифікували за наявністю в анамнезі інфаркту міокарда або коронарного атеросклерозу (за даними інвазивної коронароангіографії або комп'ютерної ангіографічної томографії). Також усі хворі виконали тест із дозованим фізичним навантаженням (третіміль-тест). Діагноз ЦД 2 типу верифікували за критеріями ВООЗ (1999, 2019 р.) та згідно з наказом МОЗ України від 21.12.2012 р. № 1118 «Про затвердження та впровадження медико-технологічних документів зі стандартизації медичної допомоги при цукровому діабеті типу 2» (зі змінами, що внесені згідно з наказом МОЗ України № 310 від 08.05.2014 р.). Ступінь компенсації вуглеводного обміну у хворих на ЦД 2 типу оцінювали за рівнем глікозильованого гемоглобіну (HbA1c).

Критерії виключення – гострий інфаркт міокарда (ІМ) чи нестабільна стенокардія у термін менше ніж 30 днів до залучення в дослідження, зниження фракції викиду лівого шлуночка  $\leq 40$  %; гемодинамічно значущі вади серця; ревматизм та інші системні захворювання сполучної тканини; тяжка ниркова недостатність (швидкість клубочкової фільтрації (ШКФ) менше ніж 30 мл/хв/1,73 м<sup>2</sup>); печінкова недостатність; обструктивні захворювання легень; онкологічні захворювання та інші патології з поганим прогнозом; цукровий діабет 1 типу або інсулінозалежний; рівень тригліцеридів крові  $\geq 4,5$  ммоль/л; рівень глікозильованого гемоглобіну  $\geq 11$  %.

Не менше ніж 3 місяці всі хворі на ІХС отримували стандартну терапію: ацетилсаліцилову кислоту (75–100 мг) або комбінацію ацетилсаліцилової кислоти з клопидогрелем (75 мг), статини (аторвастатин – 20–40 мг або розувастатин – 10–20 мг), бета-адреноблокатор (біспролол – 2,5–10,0 мг), інгібітори ангіотензинперетворювального ферменту або блокатори рецепторів ангіотензину II. Пацієнти з ЦД 2 типу отримували метформін (500–2000 мг) або його комбінацію з препаратами сульфонілсечовини (гліметірид – 1–4 мг або гліклазид – 30–60 мг).

Лабораторні дослідження здійснили в лабораторії імунобіохімічних і молекулярно-генетичних досліджень і клініко-діагностичній лабораторії ДУ «Національний інститут терапії імені Л. Т. Малої НАМН України». МікроРНК-126-3р визначали в плазмі крові методом полімеразної ланцюгової реакції в режимі реального часу.

Кров для дослідження мікроРНК у пацієнтів брали вранці натще з літкової вени з мінімальним перетягуванням джгутом у вакутайнери VACUTEST з антикоагулянтом К3ЕДТА. Плазму крові зберігали до аналізу при  $-20^{\circ}\text{C}$  не більше ніж 1 місяць.

Виділення та очищення мікроРНК здійснили методом сорбції з плазми крові, використавши набір реактивів «NucleoSpin miRNA plasma» (Macherey-Nagel, Німеччина). Для визначення концентрації мікроРНК на флуорометрі Qubit 3.0 Quantification (Life Technologies Pte Ltd, Сінгапур) використали набір реактивів «Qubit microRNA Assay Kit» (Thermo Fisher Scientific, США) за інструкцією виробника. Зворотну транскрипцію мікроРНК126-3р здійснили, застосувавши набір реактивів «TaqMan Micro RNA Reverse Transcription Kit» (Applied Biosystems, США) і RM праймерів зі складу «TaqMan MicroRNA Assays» (assay ID 002228, Applied Biosystems, США), за допомогою апарату для детекції продуктів полімеразної ланцюгової реакції в реальному часі «Система детекції «CFX96 Touch» (BioRad Laboratories Pte. Ltd., Сінгапур) відповідно до інструкції. Як ендogenous контроль для зворотної транскрипції та ампліфікації використали малу ядерну РНК U6 (U6 snRNA assay ID 001973, Applied Biosystems, США). Контроль та аналіз експресії мікроРНК здійснили, використавши набір реактивів «TaqMan microRNA Assay» (Thermo Fisher Scientific, США) і «TaqMan® Universal PCR Master Mix» (Thermo Fisher Scientific, США). Відносний рівень мікроРНК-126-3р розраховували у відносних одиницях (в. о.) за допомогою програмного забезпечення CFX Manager Software (BioRad Laboratories Pte Ltd, Сінгапур) за стандартною методикою  $\Delta\Delta\text{Ct}$ .

Глюкозу крові натще визначали глюкозооксидазним методом, застосовуючи біохімічний аналізатор Humalyzer 2000 (Німеччина). Рівень HbA1c (%) у крові визначали фотометричним іонообмінним методом з використанням тест-систем фірми Human GmbH (Німеччина). Вміст інсуліну в сироватці крові визначали імуноферментним методом за допомогою набору реактивів «Insulin ELISA» (DRG Instruments GmbH, Німеччина). Індекс інсулінорезистентності (НОМА-IR) розраховували за стандартною формулою:  $\text{НОМА-IR} = (\text{інсулін натще (мкМЕ/мл)} \times \text{глюкоза натще (ммоль/л)}) / 22,5$ . Для визначення рівнів загального холестерину (ЗХС), тригліцеридів (ТГ) і холестерину ліпопротеїнів високої щільності (ХС ЛПВЩ) в крові застосовували ферментативний метод і набори реактивів Corma (Польща). Вміст ХС ЛПНЩ визначали за формулою Фрідвальда:  $\text{ХС ЛПНЩ} = \text{ЗХС} - (\text{ХС ЛПВЩ} + \text{ТГ} / 5)$ . Індекс маси тіла (ІМТ) розраховували за формулою Кетле:  $\text{ІМТ} = \text{вага (кг)} / \text{зріст}^2 (\text{м}^2)$ .

Статистично дані опрацювали за допомогою електронних таблиць Microsoft Excel та програми Statistica 6.0 (StatSoftInc, США, free version). Для перевірки відповідності розподілу кількісних показників нормальному закону використали критерій Шапіро–Вілка. Дані наведено як середнє значення ( $M$ )  $\pm$  середньоквадратичне відхилення ( $\sigma$ ) для нормального розподілу, як медіана ( $Me$ ) з кватильним розмахом (25 і 75 кватили –  $Q_1$ – $Q_3$ ) для розподілів, що відрізнялися від нормального. Для парного порівняння двох груп застосували t-критерій Стьюдента (в разі нормального розподілу) і U-тест Ман-

Таблиця 1. Клініко-лабораторна характеристика груп ( $M \pm \sigma$ ,  $Me$  [Q25; Q75])

Показник, одиниці вимірювання	Контроль (n = 18)	ІХС (n = 25)	ІХС і ЦД 2 типу (n = 68)	p*
Вік, роки	36,67 $\pm$ 9,85	58,84 $\pm$ 9,08	62,07 $\pm$ 8,82	$p_{1-2} < 0,001$ $p_{1-3} < 0,001$
Стать (чоловіки, n (%))	11 (61,11)	18 (72,00)	49 (72,06)	
Куріння, n (%)	5 (27,78)	11 (44,00)	25 (36,76)	
ІМТ, кг/м <sup>2</sup>	23,49 $\pm$ 3,52	27,87 $\pm$ 3,30	33,89 $\pm$ 5,04	$p_{1-2} < 0,001$ $p_{1-3} < 0,001$ $p_{2-3} < 0,001$
Артеріальна гіпертензія, n (%)	0 (0)	24 (96,00)	68 (100,00)	$p_{1-2} < 0,001$ $p_{1-3} < 0,001$
Інфаркт міокарда в анамнезі, n (%)	0 (0)	14 (56,00)	40 (58,82)	$p_{1-2} < 0,001$ $p_{1-3} < 0,001$
ПКВ, n (%)	0 (0)	10 (40,00)	24 (35,29)	$p_{1-2} < 0,001$ $p_{1-3} < 0,001$
ШКФ (СКД-ЕР1), мл/хв/1,73 м <sup>2</sup>	89,06 $\pm$ 19,27	72,73 $\pm$ 17,48	70,57 $\pm$ 17,01	$p_{1-2} = 0,007$ $p_{1-3} < 0,001$
ЗХС, ммоль/л	4,50 [3,82; 4,81]	4,17 [3,38; 5,81]	3,77 [3,13; 4,75]	$p_{1-3} = 0,049$
ХС ЛПВЩ, ммоль/л	1,29 [1,03; 1,39]	1,07 [0,98; 1,30]	0,99 [0,83; 1,18]	$p_{1-3} < 0,001$ $p_{2-3} = 0,027$
ТГ, ммоль/л	1,02 [0,80; 1,31]	1,44 [1,15; 1,76]	1,85 [1,42; 2,61]	$p_{1-2} = 0,004$ $p_{1-3} < 0,001$ $p_{2-3} = 0,029$
ХС ЛПНЩ, ммоль/л	2,67 [2,52; 3,33]	2,40 [1,66; 3,95]	1,89 [1,36; 3,00]	$p_{1-3} = 0,007$ $p_{2-3} = 0,039$

\*: статистично значущі відмінності.

на–Вітні з корекцією безперервності. Для множинного міжгрупового порівняння застосовували тест Краскела–Воліса. Кореляційний аналіз здійснили, визначивши коефіцієнт лінійної кореляції Пірсона та рангової кореляції Спірмена. Метод  $\chi^2$  з поправкою Йетса використали для визначення статистичних відмінностей у категоріальних групах. Здійснили ROC-аналіз. Критичний рівень достовірності нульової статистичної гіпотези (про відсутність відмінностей і впливів) визначили на рівні  $< 0,05$ .

## Результати

Групи пацієнтів не відрізнялися за статтю та фактом куріння на час дослідження або в минулому (табл. 1). Хворі на ІХС і ЦД 2 типу та пацієнти з ІХС без ЦД не відрізнялися за віком, але були старші за осіб із групи контролю. ІМТ у пацієнтів з ІХС і ЦД 2 типу більший, ніж у хворих без ЦД. У контрольній групі ІМТ нижчий, ніж в обох групах хворих. Не виявили відмінностей груп пацієнтів з ІХС і ЦД 2 типу та без нього за наявності гіпертонічної хвороби, перенесеними інфарктом міокарда та перкутанним коронарним втручанням (ПКВ), ШКФ. За даними ліпідного профілю, в пацієнтів із ЦД 2 типу рівні ТГ вищі, а ХС ЛПВЩ і ХС ЛПНЩ нижчі, ніж у хворих на ІХС без ЦД. Щодо контрольної групи в пацієнтів без ЦД і з ЦД 2 типу визначили підвищення рівня ТГ, а у хворих на ЦД 2 типу визначили нижчі показники ЗХС, ХС ЛПВЩ і ХС ЛПНЩ.

Встановили значущо вищі рівні циркулюючої мікроРНК-126-3р у пацієнтів з ІХС і ЦД 2 типу та без нього порівняно з контрольною групою (табл. 2). Разом із цим у хворих на ІХС і ЦД 2 типу експресія мікроРНК126-3р високо вірогідно знижувалася щодо показника пацієнтів без ЦД. Виявлені розбіжності між групами підтверджено під час множинного міжгрупового порівняння з використанням тесту Краскела–Воліса:  $H(2) = 17,635$ ,  $p = 0,001$ .

**Таблиця 2.** Рівні циркулюючої мікроРНК-126-3р і глюкометаболічні показники у пацієнтів із ІХС і ЦД 2 типу та без нього (Ме [Q25; Q75])

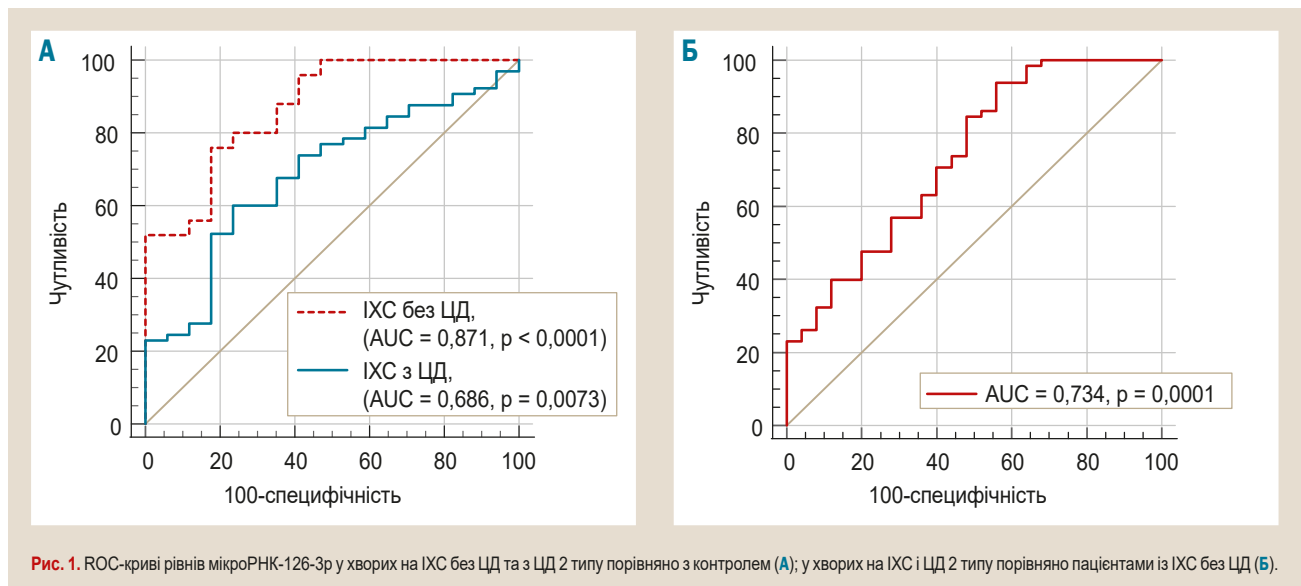
Показник, одиниці вимірювання	Контроль (n = 18)	ІХС (n = 25)	ІХС і ЦД 2 типу (n = 68)	p*
МікроРНК-126-3р, в. о.	17,95 [13,74; 35,01]	109,46 [49,52; 211,11]	50,32 [19,54; 93,82]	$p_{1-2} < 0,001$ $p_{1-3} = 0,018$ $p_{2-3} < 0,001$
Глюкоза крові натще, ммоль/л	4,99 [4,79; 5,57]	5,85 [5,19; 6,30]	7,90 [6,59; 10,74]	$p_{1-2} = 0,002$ $p_{1-3} < 0,001$ $p_{2-3} < 0,001$
НbA1c, %	5,00 [4,70; 5,40]	5,70 [5,46; 6,00]	7,12 [6,02; 7,88]	$p_{1-2} < 0,001$ $p_{1-3} < 0,001$ $p_{2-3} < 0,001$
Інсулін, мкОД/мл	13,31 [11,16; 14,54]	18,64 [15,70; 21,96]	19,34 [13,45; 26,41]	$p_{1-2} = 0,001$ $p_{1-3} = 0,005$
НОМА-IR	2,86 [2,37; 3,68]	4,71 [3,99; 6,30]	7,04 [4,62; 10,53]	$p_{1-2} < 0,001$ $p_{1-3} < 0,001$ $p_{2-3} = 0,026$

\*: статистично значущі відмінності.

**Таблиця 3.** Глюкометаболічні показники у хворих на ІХС і ЦД 2 типу в тертилях за рівнями мікроРНК-126-3р (Ме [Q25; Q75])

Тертилі за мікроРНК-126-3р	Глюкоза крові, ммоль/л	НbA1c, %	Інсулін, мкОД/мл	НОМА-IR
Перша, n = 22	9,57 [7,40; 12,93]	7,20 [6,60; 8,20]	20,72 [14,32; 27,71]	8,66 [4,67; 16,97]
Друга, n = 23	8,75 [6,59; 10,86]	7,30 [6,60; 8,08]	19,55 [13,65; 29,59]	7,71 [4,73; 11,50]
Третя, n = 23	7,01 [6,24; 8,44]	6,40 [5,60; 7,50]	17,08 [10,08; 22,18]	5,32 [4,31; 8,59]
Значущість відмінностей при парному порівнянні	$p_{1-2} = 0,283$ $p_{1-3} = 0,011^*$ $p_{2-3} = 0,134$	$p_{1-2} = 0,916$ $p_{1-3} = 0,079$ $p_{2-3} = 0,061$	$p_{1-2} = 0,728$ $p_{1-3} = 0,166$ $p_{2-3} = 0,242$	$p_{1-2} = 0,627$ $p_{1-3} = 0,041^*$ $p_{2-3} = 0,086$
Тест Краскела-Воліса	$p = 0,037^*$	$p = 0,108$	$p = 0,306$	$p = 0,081$

\*: статистично значущі відмінності.

**Рис. 1.** ROC-криві рівнів мікроРНК-126-3р у хворих на ІХС без ЦД та з ЦД 2 типу порівняно з контролем (А); у хворих на ІХС і ЦД 2 типу порівняно пацієнтами із ІХС без ЦД (Б).

Рівні глюкози натще, НbA1c та індекс НОМА-IR у пацієнтів із ЦД 2 типу порівняно з показниками хворих без ЦД вищі, а рівень інсуліну не відрізнявся (табл. 2). Відповідно до рівнів НbA1c у 32 (47,06 %) хворих ЦД 2 типу був у фазі компенсації (НbA1c становив  $\leq 7,0$  %), у 15 (22,06 %) – у фазі субкомпенсації (НbA1c – 7,1–7,5 %), у 21 (30,88 %) осіб – у фазі декомпенсації (НbA1c –  $> 7,5$  %). В обох групах хворих на ІХС усі показники вуглеводного обміну перевищували значення контрольної групи.

Кореляційний аналіз показав у хворих на ІХС і ЦД 2 типу достовірний зворотний зв'язок мікроРНК-126-3р і рівня глюкози крові натще (коефіцієнт рангової кореля-

ції Спірмена –  $R = -0,259$ ,  $p = 0,037$ ), а також негативні кореляції з глікозильованим гемоглобіном і НОМА-IR, що досягали лише пограничної статистичної значущості ( $R = -0,246$ ,  $p = 0,056$ ;  $R = -0,229$ ,  $p = 0,082$  відповідно). В контрольній групі та у хворих на ІХС без ЦД не визначили статистично підтверджені кореляційні зв'язки рівнів мікроРНК-126-3р і глюкометаболічних показників.

Для детальнішого оцінювання взаємозв'язків рівнів мікроРНК-126-3р із показниками метаболізму глюкози хворих на ІХС і ЦД 2 типу поділили на тертилі залежно від рівнів мікроРНК-126. Тертилі становили: перша –  $\leq 13,26$  в. о. (n = 22); друга – від 13,27 до 30,20 в. о. (n = 23); третя –  $> 30,20$  в. о. (n = 23). У першій тертилі

(найнижчі рівні мікроРНК-126-3р) виявили достовірне підвищення рівнів глюкози та індексу НОМА-ІR порівняно з третьою тертиллю ( $p = 0,011$  і  $p = 0,041$  відповідно) (табл. 3). Підвищення рівнів HbA1c у першій і другій тертилях щодо третьої ( $p = 0,079$  і  $p = 0,061$  відповідно) – у межах пограничної статистичної значущості ( $p = 0,086$ ). Ці розбіжності також виявилися значущими для глюкози крові за результатами тесту Краскепа–Воліса:  $H(2) = 6,604$ ,  $p = 0,037$ , а для індексу НОМА-ІR відмінності міжтертильного порівняння – у пограничній зоні достовірності:  $H(2) = 5,0171$ ,  $p = 0,081$ .

Для оцінювання специфічності та діагностичної значущості змін рівнів мікроРНК126-3р у хворих на ІХС без ЦД і з ним здійснили ROC-аналіз. Виявили значущу здатність мікроРНК-126-3р відрізнити хворих на ІХС і без ЦД, і з ЦД 2 типу від здорових осіб контрольної групи. Для пацієнтів без ЦД площа під кривою (AUC) становила 0,871 (95 % довірчий інтервал (ДІ): 0,731–0,954,  $p < 0,0001$ ) (рис. 1А). Для пацієнтів із ЦД 2 типу AUC була меншою, дорівнювала 0,686 (95 % ДІ: 0,574–0,784,  $p = 0,0073$ ) (рис. 1А). Різниця за AUC для хворих на ІХС без ЦД і з ЦД 2 типу вірогідна, становила 0,185 (95 % ДІ: 0,0121–0,357,  $p = 0,0360$ ). Підкреслимо, що значуще зменшення мікроРНК-126-3р також високо достовірно визначало наявність ЦД 2 типу у хворих на ІХС: AUC для хворих на ІХС і ЦД 2 типу порівняно з пацієнтами без ЦД становила 0,734 (95 % ДІ: 0,631–0,822,  $p = 0,0001$ ); це відповідає критеріям високої якості моделі (рис. 1Б).

## Обговорення

Дослідження, що здійснили, показало істотне підвищення рівнів циркулюючої мікроРНК-126-3р у хворих на ІХС, що може мати певний діагностичний потенціал у скринінгу й ідентифікації ІХС. Поєднання ІХС і ЦД 2 типу призводило до часткового, але значущого зменшення експресії цієї мікроРНК, але її рівні залишались вірогідно вищими, ніж у контрольній групі. Відносно зниження мікроРНК-126-3р у хворих на ІХС та супутній ЦД 2 типу асоціювалося зі значним збільшенням глікемії натще і зростанням індексу інсулінорезистентності НОМА-ІR. За результатами ROC-аналізу, циркулююча мікроРНК-126-3р диференціювала хворих на ІХС із діабетом і пацієнтів з ІХС без діабету з високою діагностичною точністю.

Відомості про підвищення рівнів циркулюючої мікроРНК-126 у хворих на стабільну ІХС, що одержали в цьому дослідженні, збігаються з результатами інших авторів [17–19]. Так, у пацієнтів зі стабільною ІХС рівні мікроРНК-126 зростали при тяжких атеросклеротичних ураженнях коронарних артерій за даними ангіографії, а підвищена експресія мікроРНК-126 асоціювалася з більш вразливим фенотипом бляшок у коронарних артеріях (з ліпідно-некротичним ядром), що виявлені під час внутрішньосудинного ультразвукового дослідження [18,19].

Опубліковані експериментальні дані підтверджують атеропротективні властивості мікроРНК-126, яка на тваринній моделі пригнічувала прогресування коронарного атеросклерозу, знижуючи експресію прозапальних цитокінів (фактора некрозу пухлин- $\alpha$  (ФНП- $\alpha$ , інтерлейкіну (ІЛ)-1 $\beta$ ), ядерного фактора-кВ (NF-кВ) і молекули адгезії

судинних клітин-1 (VCAM-1), а також істотно підвищуючи експресію протизапального ІЛ-10 [8,10,20]. Зважаючи на це, припускають, що підвищені при стабільній ІХС рівні мікроРНК-126 можуть бути проявом компенсаторної відповіді на запалення в умовах гіперліпемії та бути частиною механізму негативного зворотного зв'язку, коли експресія мікроРНК-126 збільшується за наявності вразливих атероматозних бляшок, аби запобігти їхній дестабілізації надалі [18,19].

Зазначимо, що загалом результати досліджень циркулюючої мікроРНК-126 при стабільній ІХС суперечливі. Поряд із наведеними даними щодо підвищення її рівня в циркуляції, є повідомлення і про зниження цього показника [21,22]. У деяких роботах не виявили значущі зміни експресії мікроРНК-126, але встановили прямий зв'язок між мікроРНК-126 і малими щільними ЛПНЩ у пацієнтів з ІХС і без неї [23,24].

Не можна виключати, що неоднозначність даних щодо рівнів циркулюючої мікроРНК-126 при ІХС може бути наслідком коливань її експресії під впливом різних факторів ризику (як-от названих малих щільних ЛПНЩ) залежно від стадії атеросклеротичного процесу або швидкості прогресування судинних уражень. Так, повідомляють: у хворих на ІХС із швидким (за результатами 12-місячного спостереження) ангіографічно підтвердженим прогресуванням стенозу коронарних артерій вихідні рівні циркулюючої мікроРНК-126 значущо нижчі порівняно з пацієнтами без швидкого ангіографічного прогресування стенозу [25].

МікроРНК-126 містить два зрілих ланцюги – мікроРНК-126-3р і мікроРНК-126-5р, що утворюються з 3' і 5' кінців вихідної пре-мікроРНК та різняться за особливостями експресії, регуляторними ефектами [10]. Але у багатьох оригінальних дослідженнях, оглядах не наведено, який ланцюг мікроРНК-126 визначали – 3р або 5р. Це може бути однією з причин неоднорідності оприлюднених даних щодо дисрегуляції цієї мікроРНК у разі судинних захворювань. Отже, суперечливість результатів досліджень вказує на необхідність продовження вивчення циркулюючої мікроРНК-126-3р при ІХС як біомаркера та потенційно атеропротективного модулятора.

Один із факторів ризику, що спричиняє зниження експресії мікроРНК-126, – ЦД. У кількох метааналізах показано зменшення рівнів мікроРНК-126 при ЦД 2 типу у всіх залучених контрольованих дослідженнях, а також наголошено на важливості цієї особливої мікроРНК як потенційного біомаркера для прогнозування ЦД [15,26]. Істотне зниження рівнів мікроРНК-126-3р у хворих на ІХС при приєднанні ЦД 2 типу, що виявили під час нашого дослідження, збігається із цими даними. Зменшення експресії атеропротективної мікроРНК-126 у пацієнтів із ЦД може свідчити про ослаблення, виснаження названих потенційних компенсаторних механізмів її зростання у хворих на ІХС без ЦД, а також зумовлювати прискорене прогресування атеросклеротичних уражень при ЦД.

Мішенями мікроРНК-126 є кілька генів сигнальних шляхів інсуліну (субстрати інсулінового рецептора 1 і 2 (Insulin receptor substrate, IRS) фосфатиділінозитол 3-кіназа (Phosphatidylinositol 3-kinase), АКТ (RAC-alpha serine/threonine-protein kinase, Protein kinase B)). У до-

слідженні на культурах клітин встановили: специфічно спрямована внутрішньоклітинна індукція мікроРНК-126 зменшує синтез відповідних білків у гепатоцитах, призводить до інсулінорезистентності та порушення метаболізму глюкози [12,27]. На тваринній моделі ожиріння показано, що підвищена експресія мікроРНК-126 у жировій тканині спричиняла посилення інсулінорезистентності й порушення толерантності до глюкози на рівні всього тіла тварин [13]. В одному клінічному дослідженні виявили позитивний кореляційний зв'язок між циркулюючою мікроРНК-126 та індексом НОМА-IR при ЦД [28]. У нашому дослідженні в пацієнтів з ІХС і ЦД 2 типу встановили зворотні зв'язки між параметрами метаболізму глюкози і мікроРНК-126: зниження рівнів циркулюючої мікроРНК-126-3р асоціювалося зі збільшенням глікемії та індексу інсулінорезистентності НОМА-IR. Подібні асоціації встановили в кількох дослідженнях, що здійснені за участі хворих на ЦД без серцево-судинних захворювань [10,26,29].

На підставі доведених протизапальних властивостей мікроРНК-126 передбачають, що негативний зв'язок між мікроРНК-126 та індексом НОМА-IR зумовлений тим, що мікроРНК-126 може зменшувати інсулінорезистентність через регуляцію передавання сигналів NF- $\kappa$ B і секреції запальних цитокінів, включаючи ФНП- $\alpha$  та ІЛ-6, і саме через запальні шляхи мікроРНК-126 відіграє вирішальну роль у патофізіології ЦД 2 типу [29]. Зворотний зв'язок між мікроРНК-126 і глікемією може бути наслідком прямого пригнічувального впливу гіперглікемії на експресію мікроРНК-126. Так, у дослідженнях на культурах клітин високий вміст глюкози в середовищі призводив до істотного зниження рівнів мікроРНК-126 [11,14]. Враховуючи підтверджені антиатерогенні, васкулопротективні властивості мікроРНК-126, зниження її експресії через гіперглікемію може мати ключове значення в патогенезі судинних ускладнень діабету.

Побудовані ROC-криві показали, що мікроРНК-126-3р має суттєву предикативну здатність відокремлювати хворих на ІХС від здорових осіб контролю. Проте супутній ЦД 2 типу істотно зменшував цінність мікроРНК-126-3р як біомаркера розвитку ІХС. Площа під кривою при поєднанні ІХС і ЦД 2 типу значущо менша, ніж при ІХС без ЦД, але все ж зберігала відповідність статистичним критеріям діагностичної ефективності. МікроРНК-126-3р мала високу діагностичну цінність у диференціюванні хворих на ІХС і ЦД 2 типу і пацієнтів без ЦД. Результат ROC-аналізу свідчить, що мікроРНК-126-3р може бути корисним біомаркером для скринінгу і ранньої діагностики ЦД 2 типу у хворих на ІХС. Звісно, цей висновок потребує підтвердження у проспективних порівняльних дослідженнях на більших когортах пацієнтів із різних популяцій.

Отже, у нашому дослідженні встановили підвищення рівнів мікроРНК-126-3р у пацієнтів з ІХС щодо показників групи здорових осіб незалежно від наявності супутнього ЦД 2 типу. Це можна вважати захисним компенсаторним механізмом, що спрямований на зменшення активності атерогенних процесів. У пацієнтів з ІХС у поєднанні з ЦД 2 типу визначили достовірне часткове зниження експресії мікроРНК-126-3р, асоційоване з гіперглікемією та інсулінорезистентністю. Отже, наші дані свідчать про прямий пригнічувальний вплив ЦД 2 типу на секрецію

мікроРНК-126 при ІХС; це може бути одним із вагомих чинників агресивного перебігу коронарного атеросклерозу, що швидко прогресує, при ЦД 2 типу.

Безперечно, потрібні наступні дослідження для чіткого визначення функціональної ролі циркулюючої мікроРНК-126-3р при ЦД 2 типу і його серцево-судинних ускладненнях. Залишаються також остаточно невизначеними механізми дисрегуляції експресії циркулюючої мікроРНК-126-3р при ЦД і серцево-судинних захворюваннях. Встановлене відносно специфічне зниження рівнів мікроРНК-126-3р маркує наявність ЦД 2 типу у хворих на стабільну ІХС і свідчить про користь використання цієї мікроРНК як біомаркера для раннього виявлення глюкометаболічних порушень при ІХС. Необідні масштабніші когортні дослідження для ширшого оцінювання можливостей мікроРНК-126 у скринінгу, прогнозуванні ризиків і діагностиці ЦД при ІХС.

## Висновки

1. У пацієнтів з ІХС і ЦД 2 типу та без нього рівні циркулюючої мікроРНК-126-3р значущо підвищувалися порівняно з контролем, імовірно, внаслідок компенсаторних механізмів. Але в пацієнтів із ЦД 2 типу експресія мікроРНК-126-3р вірогідно нижча, ніж у хворих без ЦД.

2. На відміну від хворих на ІХС без ЦД, у пацієнтів з ЦД 2 типу визначили зворотні взаємозв'язки між циркулюючою мікроРНК-126-3р і глюкометаболічними параметрами: нижчі рівні мікроРНК-126-3р асоціювалися зі зростанням глікемії та індексу інсулінорезистентності НОМА-IR.

3. ROC-крива для мікроРНК-126-3р чітко відокремлювала пацієнтів з ІХС і ЦД 2 типу від хворих без ЦД. Це свідчить про перспективність використання цієї мікроРНК для моніторингу глюкометаболічних порушень у комплексній стратегії скринінгу і стратифікації ризику ЦД 2 типу у хворих на ІХС.

**Перспективи подальших досліджень.** Одержані результати й аналіз попередніх досліджень обґрунтовують доцільність наступного вивчення циркулюючої мікроРНК-126-3р при ІХС і ЦД 2 типу як потенційного васкулопротективного модулятора та високоінформативного біомаркера. Важливим є визначення точних механізмів і факторів дисрегуляції мікроРНК-126-3р, з'ясування патофізіологічного й фізіологічного значення посилення або пригнічення її експресії, дослідження ефектів медикаментозної терапії, оцінювання можливої ролі мікроРНК-126-3р як терапевтичної мішені в разі поєднання ІХС і ЦД 2 типу. Ефективність циркулюючої мікроРНК-126-3р у прогнозуванні ризику та діагностиці ЦД 2 типу при ІХС потребує валідації порівняно з іншими відомими біомаркерами.

## Фінансування

Дослідження виконане в рамках НДР ДУ «Національний інститут терапії імені Л. Т. Малої НАМН України»: «Вивчити епігенетичні чинники метаболічного запалення при поєднанні шемічної хвороби серця з цукровим діабетом 2 типу», № держреєстрації 0120U000068.

**Конфлікт інтересів:** відсутній.

**Conflicts of interest:** authors have no conflict of interest to declare.

Надійшла до редакції / Received: 25.05.2022  
Після доопрацювання / Revised: 08.06.2022  
Прийнято до друку / Accepted: 16.06.2022

### Відомості про авторів:

Серік С. А., д-р мед. наук, старший науковий співробітник, зав. відділу ішемічної хвороби серця, метаболічних і кардіопульмональних порушень, ДУ «Національний інститут терапії імені Л. Т. Малої НАМН України», м. Харків.  
ORCID ID: [0000-0001-6257-3566](https://orcid.org/0000-0001-6257-3566)

Мавричева Н. Р., молодший науковий співробітник відділу ішемічної хвороби серця, метаболічних і кардіопульмональних порушень, ДУ «Національний інститут терапії імені Л. Т. Малої НАМН України», м. Харків.  
ORCID ID: [0000-0001-7967-4179](https://orcid.org/0000-0001-7967-4179)

Бондар Т. М., канд. біол. наук, старший науковий співробітник лабораторії імунно-біохімічних і молекулярно-генетичних досліджень, ДУ «Національний Інститут терапії імені Л. Т. Малої НАМН України», м. Харків.  
ORCID ID: [0000-0002-2501-317X](https://orcid.org/0000-0002-2501-317X)

### Information about authors:

Serik S. A., MD, PhD, DSc, Senior Researcher, Head of the Department of Ischemic Heart Disease, Metabolic and Cardiopulmonary Disorders, GI "L. T. Malaya Therapy National Institute of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Kharkiv.

Mavrycheva N. R., MD, Junior Researcher of the Department of Ischemic Heart Disease, Metabolic and Cardiopulmonary Disorders, GI "L. T. Malaya Therapy National Institute of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Kharkiv.

Bondar T. M., PhD, Senior Researcher of the Laboratory of Immuno-Biochemical and Molecular-Genetic Research, GI "L. T. Malaya Therapy National Institute of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Kharkiv.

### Список літератури

- Heart Disease and Stroke Statistics-2022 Update: A Report From the American Heart Association / C. W. Tsao et al. *Circulation*. 2022. Vol. 145. Issue 8. P. e153-e639. <https://doi.org/10.1161/CIR.0000000000001052>
- World Health Organization. The top 10 causes of death [Internet] // World Health Organization. 9 December 2020. URL : <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death>
- Screening for Glucose Perturbations and Risk Factor Management in Dysglycemic Patients With Coronary Artery Disease-A Persistent Challenge in Need of Substantial Improvement: A Report From ESC EORP EUROASPIRE V / G. Ferrannini et al. *Diabetes Care*. 2020. Vol. 43. Issue 4. P. 726-733. <https://doi.org/10.2337/dc19-2165>
- Prevalence of diabetes and impact on cardiovascular events and mortality in patients with chronic coronary syndromes, across multiple geographical regions and ethnicities / K. H. Mak et al. *European journal of preventive cardiology*. 2022. Vol. 28. Issue 16. P. 1795-1806. <https://doi.org/10.1093/eurjpc/zwab011>
- Impact of Diabetes Mellitus on Hospitalization for Heart Failure, Cardiovascular Events, and Death: Outcomes at 4 Years From the Reduction of Atherothrombosis for Continued Health (REACH) Registry / M. A. Cavender et al. *Circulation*. 2015. Vol. 132. Issue 10. P. 923-931. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.114.014796>
- Noncoding RNAs as therapeutic targets in atherosclerosis with diabetes mellitus / N. Tang et al. *Cardiovascular therapeutics*. 2018. Vol. 36. Issue 4. P. e12436. <https://doi.org/10.1111/1755-5922.12436>
- Targeting the microRNAs in exosome: A potential therapeutic strategy for alleviation of diabetes-related cardiovascular complication / S. Zhao et al. *Pharmacological research*. 2021. Vol. 173. Article ID 105868. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2021.105868>
- Extracellular miRNAs: From Biomarkers to Mediators of Physiology and Disease / M. A. Mori et al. *Cell metabolism*. 2019. Vol. 30. Issue 4. P. 656-673. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2019.07.011>
- Chang Y. J., Wang K. C. Therapeutic perspectives of extracellular vesicles and extracellular microRNAs in atherosclerosis. *Current topics in membranes*. 2021. Vol. 87. P. 255-277. <https://doi.org/10.1016/bs.ctm.2021.08.005>
- An integrated hypothesis for miR-126 in vascular disease / B. Yu, Y. Jiang, X. Wang, S. Wang. *Medical research archives*. 2020. Vol. 8. Issue 5. P. 2133. <https://doi.org/10.18103/mra.v8i5.2133>

- MicroRNA-126 suppresses inflammation in endothelial cells under hyperglycemic condition by targeting HMGB1 / S. T. Tang et al. *Vascular pharmacology*. 2017. Vol. 88. P. 48-55. <https://doi.org/10.1016/j.vph.2016.12.002>
- MicroRNAs as Regulators of Insulin Signaling: Research Updates and Potential Therapeutic Perspectives in Type 2 Diabetes / L. Nigi et al. *International journal of molecular sciences*. 2018. Vol. 19. Issue 12. P. 3705. <https://doi.org/10.3390/ijms19123705>
- Maternal obesity during pregnancy leads to adipose tissue ER stress in mice via miR-126-mediated reduction in Lunapark / J. de Almeida-Faria et al. *Diabetologia*. 2021. Vol. 64. Issue 4. P. 890-902. <https://doi.org/10.1007/s00125-020-05357-4>
- miR-126 Mimic Counteracts the Increased Secretion of VEGF-A Induced by High Glucose in ARPE-19 Cells / R. Sanguinetti et al. *Journal of diabetes research*. 2021. Vol. 2021. Article ID 6649222. <https://doi.org/10.1155/2021/6649222>
- Circulatory miR-126 expression as an epigenetic marker in diabetes mellitus; a systematic review & meta-analysis / S. V. Athira, A. Bhaskar, P. Misra, M. K. Sabin. *Gene Reports*. 2022. Vol. 26. ArticleID 101502. <https://doi.org/10.1016/j.genrep.2022.101502>
- Systematic review of microRNA biomarkers in acute coronary syndrome and stable coronary artery disease / A. Kaur et al. *Cardiovascular research*. 2020. Vol. 116. Issue 6. P. 1113-1124. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvz302>
- Independent and combined effects of environmental factors and miR-126, miR-143, and miR-145 on the risk of coronary heart disease / D. C. Lin et al. *Journal of geriatric cardiology*. 2017. Vol. 11. P. 688-695. <https://doi.org/10.11909/j.issn.1671-5411.2017.11.004>
- Plasma circulating microRNAs in patients with stable coronary artery disease – Impact of different cardiovascular risk profiles and glomerular filtration rates / K. Trusinskis et al. *Journal of clinical and translational research*. 2021. Vol. 7. Issue 2. P. 270-276. <https://doi.org/10.18053/jctres.07.202102.014>
- Circulating plasma microRNA-126, microRNA-145, and microRNA-155 and their association with atherosclerotic plaque characteristics / E. Knoka et al. *Journal of clinical and translational research*. 2020. Vol. 5. Issue 2. P. 60-67. <https://doi.org/10.18053/jctres.05.201902.002>
- MiR-126 on mice with coronary artery disease by targeting S1PR2 / J. L. Fan, L. Zhang, X. H. Bo. *European review for medical and pharmacological sciences*. 2020. Vol. 24. Issue 2. P. 893-904. [https://doi.org/10.26355/eurrev\\_202001\\_20074](https://doi.org/10.26355/eurrev_202001_20074)
- Overexpression of miR-126 Protects Hypoxic-Reoxygenation-Exposed HUVEC Cellular Injury through Regulating LRP6 Expression / M. S. A. Sheikh et al. *Oxidative medicine and cellular longevity*. 2022. Vol. 2022. Article ID 3647744. <https://doi.org/10.1155/2022/3647744>
- Circulating microRNA-126 as an Independent Risk Predictor of Coronary Artery Disease: A Case-Control Study / W. Ali et al. *The electronic Journal of the International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*. 2021. Vol. 32. Issue 3. P. 347-362.
- Circulating microRNA-126 & 122 in patients with coronary artery disease: Correlation with small dense LDL / S. Mishra S et al. *Prostaglandins & other lipid mediators*. 2021. Vol. 153. Article ID 106536. <https://doi.org/10.1016/j.prostaglandins.2021.106536>
- Circulating Extracellular miRNA Analysis in Patients with Stable CAD and Acute Coronary Syndromes / A. V. Zhelankin et al. *Biomolecules*. 2021. Vol. 11. Issue 7. P. 962. <https://doi.org/10.3390/biom11070962>
- Potential of circulating pro-angiogenic microRNA expressions as biomarkers for rapid angiographic stenotic progression and restenosis risks in coronary artery disease patients underwent percutaneous coronary intervention / R. Dai et al. *Journal of clinical laboratory analysis*. 2020. Vol. 34. Issue 1. P. e23013. <https://doi.org/10.1002/jcla.23013>
- MicroRNA Signatures as Future Biomarkers for Diagnosis of Diabetes States / S. Vasu et al. *Cells*. 2019. Vol. 8. Issue 12. P. 1533. <https://doi.org/10.3390/cells8121533>
- The Destiny of Glucose from a MicroRNA Perspective / P. Mirra et al. *Frontiers in endocrinology*. 2018. Vol. 9. Article ID 46. <https://doi.org/10.3389/fendo.2018.00046>
- Determination of 14 circulating microRNAs in Swedes and Iraqis with and without diabetes mellitus type 2 / X. Wang et al. *PLoS one*. 2014. Vol. 9. Issue 1. P. e86792. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0086792>
- Circulating microRNA-122, microRNA-126-3p and microRNA-146a are associated with inflammation in patients with pre-diabetes and type 2 diabetes mellitus: A case control study / F. Zeinali et al. *PLoS one*. 2021. Vol. 16. Issue 6. P. e0251697. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0251697>

### References

- Tsao, C. W., Aday, A. W., Almarazooq, Z. I., Alonso, A., Beaton, A. Z., Bittencourt, M. S., Boehme, A. K., Buxton, A. E., Carson, A. P., Commodore-Mensah, Y., Elkind, M., Evenson, K. R., Eze-Nliam, C., Ferguson, J. F., Generoso, G., Ho, J. E., Kalani, R., Khan, S. S.,

- Kissela, B. M., Knutson, K. L., ... Martin, S. S. (2022). Heart Disease and Stroke Statistics-2022 Update: A Report From the American Heart Association. *Circulation*, 145(8), e153-e639. <https://doi.org/10.1161/CIR.0000000000001052>
- [2] *The top 10 causes of death*. (2020, December 9). Retrieved May 23, 2022, from <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death>
- [3] Ferrannini, G., De Bacquer, D., De Backer, G., Kotseva, K., Mellbin, L., Wood, D., Rydén, L., & EUROASPIRE V collaborators (2020). Screening for Glucose Perturbations and Risk Factor Management in Dysglycemic Patients With Coronary Artery Disease-A Persistent Challenge in Need of Substantial Improvement: A Report From ESC EORP EUROASPIRE V. *Diabetes care*, 43(4), 726-733. <https://doi.org/10.2337/dc19-2165>
- [4] Mak, K. H., Vidal-Petiot, E., Young, R., Sorbets, E., Greenlaw, N., Ford, I., Tenders, M., Ferrari, R., Tardif, J. C., Udell, J. A., Escobedo, J., Fox, K. M., Steg, P. G., & CLARIFY Investigators (2022). Prevalence of diabetes and impact on cardiovascular events and mortality in patients with chronic coronary syndromes, across multiple geographical regions and ethnicities. *European journal of preventive cardiology*, 28(16), 1795-1806. <https://doi.org/10.1093/eurpc/zwab011>
- [5] Cavender, M. A., Steg, P. G., Smith, S. C., Jr, Eagle, K., Ohman, E. M., Goto, S., Kuder, J., Im, K., Wilson, P. W., Bhatt, D. L., & REACH Registry Investigators (2015). Impact of Diabetes Mellitus on Hospitalization for Heart Failure, Cardiovascular Events, and Death: Outcomes at 4 Years from the Reduction of Atherothrombosis for Continued Health (REACH) Registry. *Circulation*, 132(10), 923-931. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.114.014796>
- [6] Tang, N., Jiang, S., Yang, Y., Liu, S., Ponnusamy, M., Xin, H., & Yu, T. (2018). Noncoding RNAs as therapeutic targets in atherosclerosis with diabetes mellitus. *Cardiovascular therapeutics*, 36(4), e12436. <https://doi.org/10.1111/1755-5922.12436>
- [7] Zhao, S., Wang, H., Xu, H., Tan, Y., Zhang, C., Zeng, Q., Liu, L., & Qu, S. (2021). Targeting the microRNAs in exosome: A potential therapeutic strategy for alleviation of diabetes-related cardiovascular complication. *Pharmacological research*, 173, 105868. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2021.105868>
- [8] Mori, M. A., Ludwig, R. G., Garcia-Martin, R., Brandão, B. B., & Kahn, C. R. (2019). Extracellular miRNAs: From Biomarkers to Mediators of Physiology and Disease. *Cell metabolism*, 30(4), 656-673. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2019.07.011>
- [9] Chang, Y. J., & Wang, K. C. (2021). Therapeutic perspectives of extracellular vesicles and extracellular microRNAs in atherosclerosis. *Current topics in membranes*, 87, 255-277. <https://doi.org/10.1016/bs.ctm.2021.08.005>
- [10] Yu, B., Jiang, Y., Wang, X., & Wang, S. (2020). An integrated hypothesis for miR-126 in vascular disease. *Medical research archives*, 8(5), 2133. <https://doi.org/10.18103/mra.v8i5.2133>
- [11] Tang, S. T., Wang, F., Shao, M., Wang, Y., & Zhu, H. Q. (2017). MicroRNA-126 suppresses inflammation in endothelial cells under hyperglycemic condition by targeting HMGB1. *Vascular pharmacology*, 88, 48-55. <https://doi.org/10.1016/j.vph.2016.12.002>
- [12] Nigi, L., Grieco, G. E., Ventriglia, G., Brusco, N., Mancarella, F., Formichi, C., Dotta, F., & Sebastiani, G. (2018). MicroRNAs as Regulators of Insulin Signaling: Research Updates and Potential Therapeutic Perspectives in Type 2 Diabetes. *International journal of molecular sciences*, 19(12), 3705. <https://doi.org/10.3390/ijms19123705>
- [13] De Almeida-Faria, J., Duque-Guimarães, D. E., Ong, T. P., Pantaleão, L. C., Carpenter, A. A., Loche, E., Kusinski, L. C., Ashmore, T. J., Antrobus, R., Bushnell, M., Fernandez-Twinn, D. S., & Ozanne, S. E. (2021). Maternal obesity during pregnancy leads to adipose tissue ER stress in mice via miR-126-mediated reduction in Lunapark. *Diabetologia*, 64(4), 890-902. <https://doi.org/10.1007/s00125-020-05357-4>
- [14] Sanguineti, R., Puddu, A., Nicolò, M., Traverso, C. E., Cordera, R., Viviani, G. L., & Maggi, D. (2021). miR-126 Mimic Counteracts the Increased Secretion of VEGF-A Induced by High Glucose in ARPE-19 Cells. *Journal of diabetes research*, 2021, 6649222. <https://doi.org/10.1155/2021/6649222>
- [15] Athira, S., Bhaskar, A., Misra, P., & Sabin, M. (2022). Circulatory miR-126 expression as an epigenetic marker in diabetes mellitus; a systematic review & meta-analysis. *Gene Reports*, 26, 101502. <https://doi.org/10.1016/j.genrep.2022.101502>
- [16] Kaur, A., Mackin, S. T., Schlosser, K., Wong, F. L., Elharram, M., Delles, C., Stewart, D. J., Dayan, N., Landry, T., & Pilote, L. (2020). Systematic review of microRNA biomarkers in acute coronary syndrome and stable coronary artery disease. *Cardiovascular research*, 116(6), 1113-1124. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvz302>
- [17] Lin, D. C., Lin, J. B., Chen, Z., Chen, R., Wan, C. Y., Lin, S. W., Ruan, Q. S., Li, H. Y., & Wu, S. Y. (2017). Independent and combined effects of environmental factors and miR-126, miR-143, and miR-145 on the risk of coronary heart disease. *Journal of geriatric cardiology: JGC*, 14(11), 688-695. <https://doi.org/10.11909/j.issn.1671-5411.2017.11.004>
- [18] Trusinskis, K., Lapsovs, M., Paeglite, S., Knoka, E., Caunite, L., Mazule, M., Briede, I., Jegere, S., Kumsars, I., Narbutė, I., Konrade, I., Erglis, A., & Lejnieks, A. (2021). Plasma circulating microRNAs in patients with stable coronary artery disease – Impact of different cardiovascular risk profiles and glomerular filtration rates. *Journal of clinical and translational research*, 7(2), 270-276. <https://doi.org/10.18053/jctres.07.202102.014>
- [19] Knoka, E., Trusinskis, K., Mazule, M., Briede, I., Crawford, W., Jegere, S., Kumsars, I., Narbutė, I., Sondore, D., Lejnieks, A., & Erglis, A. (2020). Circulating plasma microRNA-126, microRNA-145, and microRNA-155 and their association with atherosclerotic plaque characteristics. *Journal of clinical and translational research*, 5(2), 60-67. <https://doi.org/10.18053/jctres.05.201902.002>
- [20] Fan, J. L., Zhang, L., & Bo, X. H. (2020). miR-126 on mice with coronary artery disease by targeting S1PR2. *European review for medical and pharmacological sciences*, 24(2), 893-904. [https://doi.org/10.26355/eurev.202001\\_20074](https://doi.org/10.26355/eurev.202001_20074)
- [21] Sheikh, M., Almaeen, A., Alduraywish, A., Alomair, B. M., Salma, U., Fei, L., & Yang, T. L. (2022). Overexpression of miR-126 Protects Hypoxic-Reoxygenation-Exposed HUVEC Cellular Injury through Regulating LRP6 Expression. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2022, 3647744. <https://doi.org/10.1155/2022/3647744>
- [22] Ali, W., Mishra, S., Rizvi, A., Pradhan, A., & Perrone, M. A. (2021). Circulating microRNA-126 as an Independent Risk Predictor of Coronary Artery Disease: A Case-Control Study. *EJIFCC*, 32(3), 347-362.
- [23] Mishra, S., Rizvi, A., Pradhan, A., Perrone, M. A., & Ali, W. (2021). Circulating microRNA-126 & 122 in patients with coronary artery disease: Correlation with small dense LDL. *Prostaglandins & other lipid mediators*, 153, 106536. <https://doi.org/10.1016/j.prostaglandins.2021.106536>
- [24] Zhelankin, A. V., Stonogina, D. A., Vasiliev, S. V., Babalyan, K. A., Sharova, E. I., Doludin, Y. V., Shchekochikhin, D. Y., Generozov, E. V., & Akselrod, A. S. (2021). Circulating Extracellular miRNA Analysis in Patients with Stable CAD and Acute Coronary Syndromes. *Biomolecules*, 11(7), 962. <https://doi.org/10.3390/biom11070962>
- [25] Dai, R., Liu, Y., Zhou, Y., Xiong, X., Zhou, W., Li, W., Zhou, W., & Chen, M. (2020). Potential of circulating pro-angiogenic microRNA expressions as biomarkers for rapid angiographic stenotic progression and restenosis risks in coronary artery disease patients underwent percutaneous coronary intervention. *Journal of clinical laboratory analysis*, 34(1), e23013. <https://doi.org/10.1002/jcla.23013>
- [26] Vasu, S., Kumano, K., Darden, C. M., Rahman, I., Lawrence, M. C., & Naziruddin, B. (2019). MicroRNA Signatures as Future Biomarkers for Diagnosis of Diabetes States. *Cells*, 8(12), 1533. <https://doi.org/10.3390/cells8121533>
- [27] Mirra, P., Nigro, C., Prevezano, I., Leone, A., Raciti, G. A., Formisano, P., Beguinot, F., & Miele, C. (2018). The Destiny of Glucose from a MicroRNA Perspective. *Frontiers in endocrinology*, 9, 46. <https://doi.org/10.3389/fendo.2018.00046>
- [28] Wang, X., Sundquist, J., Zöller, B., Memon, A. A., Palmér, K., Sundquist, K., & Bennet, L. (2014). Determination of 14 circulating microRNAs in Swedes and Iraqis with and without diabetes mellitus type 2. *PLoS one*, 9(1), e86792. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0086792>
- [29] Zeinali, F., Aghaei Zarch, S. M., Jahan-Mihan, A., Kalantar, S. M., Vahidi Mehrjardi, M. Y., Fallahzadeh, H., Hosseinzadeh, M., Rahmani, M., & Mozaffari-Khosravi, H. (2021). Circulating microRNA-122, microRNA-126-3p and microRNA-146a are associated with inflammation in patients with pre-diabetes and type 2 diabetes mellitus: A case control study. *PLoS one*, 16(6), e0251697. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0251697>