

Ассоциации уровней циркулирующих miR-145-5p, -181b-5p и -195-5p с кальцинозом коронарных артерий

Рожков А. Н., Щекочихин Д. Ю., Безлюдский А. Л., Ершова Н. А., Копылов Ф. Ю., Сыркин А. Л.

ФГАОУ ВО "Первый Московский государственный медицинский университет им. И. М. Сеченова" Минздрава России (Сеченовский Университет). Москва, Россия

Цель. Изучить ассоциации уровней циркулирующих микроРНК — miR-145-5p, -181b-5p и -195-5p с кальцинозом коронарных артерий.

Материал и методы. Проанализированы данные, собранные авторами ранее в зарегистрированной базе данных (патент № RU 2024622531). База данных представляет собой dbf — файл (dBSAE IV) и содержит 62 уникальных профиля циркулирующих микроРНК (малые некодирующие молекулы рибонуклеиновой кислоты) у пациентов Клинического центра ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И. М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

Результаты. Анализ базы данных 62 пациентов выявил значимую ассоциацию сниженного уровня циркулирующей miR-145-5p с наличием коронарного кальциноза — при кальциевом индексе (КИ) >0 единиц Агатсона (AU — agatston unit) ($p=0,005$). В ROC-анализе комбинированные модели, включающие miR-145-5p, miR-181b-5p, miR-195-5p и клинико-демографические факторы (пол, курение, уровень холестерина, не входящего в состав липопротеинов высокой плотности), продемонстрировали высокую диагностическую эффективность: AUC (площадь под ROC-кривой) составила 0,85 для выявления любого кальциноза (КИ >0), 0,82 для КИ ≥ 10 AU и 0,84 для значимого кальциноза (КИ ≥ 100 AU). Наилучшая чувствительность (87,2%) и специфичность (70%) при КИ ≥ 10 AU были достигнуты при использовании всех трёх микроРНК с ковариатами, в то время как для КИ ≥ 100 AU оптимальной оказалась модель с miR-145-5p и клинико-демографическими показателями (чувствительность 75%, специфичность 90%).

Заключение. Впервые выявлена значимая ассоциация сниженного уровня циркулирующей miR-145-5p с наличием кальциноза. Диагностические модели, комбинирующие уровни исследуемых

микроРНК с клинико-демографическими факторами, продемонстрировали высокую эффективность в выявлении различных стадий заболевания: модель со всеми тремя микроРНК показала максимальную чувствительность для начального кальциноза, а модель на основе miR-145-5p оказалась оптимальной для значимого кальциноза. Таким образом, профилирование циркулирующих микроРНК, особенно miR-145-5p, представляет собой перспективный неинвазивный подход для ранней диагностики и персонализированной стратификации риска, успешно реализуя поставленную цель исследования.

Ключевые слова: микроРНК, miR-195-5p, miR-145-5p, miR-181b-5p, коронарный кальций, атеросклероз.

Отношения и деятельность. Работа выполнена при финансовой поддержке программы "Приоритет 2030", проект "Технологии регенеративной кардиологии". Шифр: 01.000.Б.133.

Поступила 26/05-2025

Рецензия получена 19/06-2025

Принята к публикации 28/01-2026



Для цитирования: Рожков А. Н., Щекочихин Д. Ю., Безлюдский А. Л., Ершова Н. А., Копылов Ф. Ю., Сыркин А. Л. Ассоциации уровней циркулирующих miR-145-5p, -181b-5p и -195-5p с кальцинозом коронарных артерий. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2026;25(4):4456. doi: 10.15829/1728-8800-2026-4456. EDN: RDPWVK

Associations of circulating miR-145-5p, -181b-5p, and -195-5p levels with coronary artery calcification

Rozhkov A. N., Shchekochikhin D. Yu., Bezlyudsky A. L., Ershova N. A., Kopylov F. Yu., Syrkin A. L.
I. M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russia

Aim. To study the associations of circulating microRNA levels — miR-145-5p, -181b-5p, and -195-5p — with coronary artery calcification.

Material and methods. We analyzed data previously collected in a registered database (patent № RU 2024622531). The database is a dbf file (dBSAE IV) and contains 62 unique circulating microRNA

profiles from patients at the Clinical Center of the I. M. Sechenov First Moscow State Medical University.

Results. Analysis of the 62 patient database revealed a significant association between reduced circulating miR-145-5p levels and coronary artery calcification, with an Agatston score >0 ($p=0,005$). In

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):

e-mail: rozhkov_a_n@staff.sechenov.ru

[Рожков А. Н.* — врач-кардиолог, н.с. института персонализированной кардиологии Центра "Цифрового биодизайна и персонализированного здравоохранения" Научно-технологического парка биомедицины, ORCID: 0000-0002-2735-076X, Щекочихин Д. Ю. — к.м.н., доцент кафедры кардиологии, функциональной и ультразвуковой диагностики, зав. отделом НИО Кардиологии, ORCID: 0000-0002-8209-2791, Безлюдский А. Л. — студент, ORCID: 0009-0005-9593-5339, Ершова Н. А. — студент, ORCID: 0009-0007-6667-1287, Копылов Ф. Ю. — д.м.н., профессор кафедры кардиологии, функциональной и ультразвуковой диагностики, директор института персонализированной кардиологии Центра "Цифрового биодизайна и персонализированного здравоохранения" Научно-технологического парка биомедицины, ORCID: 0000-0001-5124-6383, Сыркин А. Л. — д.м.н., профессор кафедры кардиологии, функциональной и ультразвуковой диагностики, ORCID: 0000-0002-6452-1222].

Адреса организации авторов: ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И. М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2, Москва, 119991, Россия.
Addresses of the authors' institutions: I. M. Sechenov First Moscow State Medical University, Trubetskaya str., 8, Moscow, 119991, Russia.

ROC analysis, combined models including miR-145-5p, miR-181b-5p, miR-195-5p and clinical and demographic factors (sex, smoking, non-HDL cholesterol) demonstrated high diagnostic performance as follows: area under the ROC curve (AUC) was 0,85 for detecting any calcification (Agatston score >0), 0,82 for Agatston score ≥ 10 and 0,84 for significant calcification (Agatston score ≥ 100). The highest sensitivity (87,2%) and specificity (70%) for an Agatston score ≥ 10 were achieved using all three miRNAs with covariates, while for an Agatston score ≥ 100 , the model combining miR-145-5p and clinical and demographic parameters was found to be optimal (sensitivity 75%, specificity 90%).

Conclusion. For the first time, a significant association between reduced circulating miR-145-5p levels and calcinosis was identified. Diagnostic models combining the levels of the studied miRNAs with clinical and demographic factors demonstrated high efficiency in identifying various disease stages as follows: the model combining all three miRNAs demonstrated maximum sensitivity for early calcinosis, and the miR-145-5p-based model was optimal for significant calcinosis. Thus, profiling circulating microRNAs, particularly miR-145-5p, represents a promising noninvasive approach for early diagnosis and personalized risk stratification.

Keywords: microRNA, miR-195-5p, miR-145-5p, miR-181b-5p, coronary calcium, atherosclerosis.

Relationships and Activities. The work was carried out with the financial support of the Priority 2030 program, the Regenerative Cardiology Technologies project. Code: 01.000.B.133.

Rozhkov A. N.* ORCID: 0000-0002-2735-076X, Shchekochikhin D. Yu. ORCID: 0000-0002-8209-2791, Bezlyudsky A. L. ORCID: 0009-0005-9593-5339, Ershova N. A. ORCID: 0009-0007-6667-1287, Kopylov F. Yu. ORCID: 0000-0001-5124-6383, Syrkin A. L. ORCID: 0000-0002-6452-1222.

*Corresponding author:

rozhkov_a_n@staff.sechenov.ru

Received: 26/05-2025

Revision Received: 19/06-2025

Accepted: 28/01-2026

For citation: Rozhkov A. N., Shchekochikhin D. Yu., Bezlyudsky A. L., Ershova N. A., Kopylov F. Yu., Syrkin A. L. Associations of circulating miR-145-5p, -181b-5p, and -195-5p levels with coronary artery calcification. *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2026;25(4):4456. doi: 10.15829/1728-8800-2026-4456. EDN: RDPVWK

ИМТ — индекс массы тела, КИ — кальциевый индекс, ККА — кальциноз коронарных артерий, КТ — компьютерная томография, РНК — рибонуклеиновая кислота, ХС неЛВП — холестерин, не входящий в состав липопротеинов высокой плотности, AU — agatston unit (единица Агатсона), AUC — area under curve (площадь под кривой), miR — microRNA (микроРНК — малые некодирующие молекулы рибонуклеиновой кислоты).

Ключевые моменты

Что известно о предмете исследования?

- Малые некодирующие молекулы рибонуклеиновой кислоты (микроРНК) — miR-195-5p, miR-145-5p, miR-181b-5p, участвуют в патогенезе атеросклероза, регулируя эндотелиальную дисфункцию, воспаление, апоптоз и ремоделирование сосудистой стенки.
- Повышенная экспрессия miR-195-5p ассоциирована с прогрессированием атеросклеротического поражения и кальцификацией сосудов.

Что добавляют результаты исследования?

- Впервые выявлена значимая ассоциация сниженного уровня циркулирующей miR-145-5p с наличием коронарного кальциноза.
- Показано, что модель с использованием miR-195-5p, miR-145-5p и miR-181b-5p обеспечивает максимальную чувствительность при диагностике начального кальциноза, тогда как для выявления значимого кальциноза оптимальной оказалась модель на основе miR-145-5p и клинических параметров.

Key messages

What is already known about the subject?

- MicroRNAs miR-195-5p, miR-145-5p, and miR-181b-5p are involved in atherogenesis by regulating endothelial dysfunction, inflammation, apoptosis, and vascular remodeling.
- Elevated expression of miR-195-5p is associated with the atherosclerotic progression and vascular calcification.

What might this study add?

- For the first time, a significant association between reduced circulating miR-145-5p levels and coronary calcification was identified.
- A model using miR-195-5p, miR-145-5p, and miR-181b-5p provided the highest sensitivity for diagnosing early calcification, while a model based on miR-145-5p and clinical parameters was optimal for detecting significant calcification.

Введение

Кальциноз коронарных артерий (ККА) представляет собой патологическое отложение кальция в стенках коронарных сосудов и является важным маркером атеросклероза и сердечно-сосудистого риска [1]. Его наличие коррелирует с повышенной вероятностью острых коронарных синдромов, инфарк-

тов миокарда и смерти, даже при отсутствии явных симптомов [2]. Традиционные методы диагностики, такие как компьютерная томография с определением коронарного кальциевого индекса (КИ) в единицах Агатсона (AU), позволяют визуализировать и количественно оценить степень кальциноза, однако они описывают только результат активности множе-

ства процессов, лежащих в основе атерогенеза. Поиск чувствительных и специфических биомаркеров, отражающих активность патогенетических путей, остаётся актуальной задачей для ранней диагностики и персонализированного лечения.

МикроРНК (miR) — малые некодирующие молекулы рибонуклеиновой кислоты (РНК), регулирующие экспрессию генов на посттранскрипционном уровне — всё чаще рассматриваются как ключевые участники патофизиологических процессов в сердечно-сосудистой системе. Циркулирующие микроРНК, стабильно присутствующие в крови и других биологических жидкостях, демонстрируют высокий потенциал как неинвазивные биомаркеры. Их профиль может отражать динамику воспаления, окислительного стресса, апоптоза и ремоделирования сосудистой стенки, процессов, тесно связанных с развитием коронарного кальциноза [3]. Однако роль конкретных микроРНК в патогенезе ККА и их диагностическая ценность до сих пор изучены недостаточно полно.

Настоящее исследование направлено на анализ профиля циркулирующих микроРНК у пациентов с различной степенью выраженности ККА с целью выявления потенциальных молекулярных мишеней и разработки новых подходов к прогнозированию и терапии. Полученные данные могут способствовать пониманию механизмов, лежащих в основе сосудистого кальциевого ремоделирования, а также созданию персонализированных стратегий снижения сердечно-сосудистого риска у пациентов.

Цель исследования — изучение ассоциаций уровней циркулирующих miR-145-5p, -181b-5p и -195-5p с ККА.

Материал и методы

Были проанализированы данные, собранные нами ранее в зарегистрированной базе данных (патент № RU 2024622531)¹ База данных представляет собой dbf — файл (dBSAE IV) и содержит 62 уникальных профили циркулирующих микроРНК (hsa-miR-16-5p, -195-5p, -205-5p, -126-3p, -126-5p, -21-5p, -143-3p, -223-3p, -145-5p, -29b-3p, -146a-5p, -92a-3p, -150-5p, -23a-3p, -181b-5p, -451a), сведения о степени выраженности атеросклероза, определённого с помощью компьютерной томографии (КТ), расчётные значения рисков сердечно-сосудистых осложнений, определённых согласно популяционным инструментам оценки (шкалам) SCORE2 (Systematic Coronary Risk Evaluation2), ACC/ANA (American College of Cardiology/American Heart Association), Framingham

(АТР-III — Adult Treatment Panel III), MESA (The Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis), стандартные клинико-демографические и лабораторные данные пациентов.

Исследование проводилось на базе Клинического центра ФГАОУ ВО "Первый Московский государственный медицинский университет им. И. М. Сеченова" Минздрава России (Сеченовский Университет).

Количество пациентов исследуемой популяции составило 62 человека.

КТ коронарных артерий осуществлялась при помощи 640-срезового компьютерного томографа Aquilion ONE (Canon, Япония). Количественный анализ уровня ККА по шкале Агатсона проводился с использованием программного пакета Vitrea (Canon Medical Informatics, Inc., Миннетонка, Миннесота, США). Одновременно с подготовкой к проведению КТ проводили взятие венозной крови в пробирки с ЭДТА-К₂ (двукальциевой солью этилендиаминтетрауксусной кислоты) объёмом до 10-15 мл. На начальном этапе подготовки биоматериала проводили серию из трёх центрифугирований с отбором двух третей плазмы крови. После этого образцы плазмы переносили в пробирки типа эппендорф и замораживались при -20 °С. В дальнейшем происходила транспортировка в специализированную лабораторию для выделения тромбоцитарного супернатанта в объёме до 300 мкл. Анализ уровней циркулирующих микроРНК проводился с помощью количественной полимеразной цепной реакции в реальном времени с обратной транскрипцией с использованием наборов TaqMan AdvancedmiRNA и TaqMan Fast AdvancedMasterMix (Thermo Fisher Scientific, Уолтем, Массачусетс, США) в соответствии с протоколом производителя на аппарате QuantStudio 5 Real-Time PCR system (Thermo Fisher Scientific, США) с нормализацией по уровню эндогенной miR-16-5p. Методология сбора и анализа данных более подробно описана нами в предыдущей публикации [4].

На основании результатов наших прошлых исследований [4, 5] в качестве кандидатов на более детальное изучение ассоциаций с ККА были отобраны miR-195-5p, -145-5p и -181b-5p. Для удобства анализа пациенты были разделены на подгруппы по значениям ККА с КИ =0 AU (n=20); КИ =1-10 AU (n=3), КИ =11-99 AU (n=22), КИ =100-299 (N=8) и КИ ≥300 AU (n=9). Краткие клинические и демографические характеристики исследуемой выборки отражены в таблице 1. У двух пациентов с КИ =0 были начальные признаки атеросклероза коронарных артерий, они были отнесены в группу с атеросклерозом.

Данная работа соответствует принципам Хельсинкской декларации. Одобрена локальным этическим комитетом ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), протокол № 12-23, от 06.07.2023.

Статистический анализ. Сравнение выборок было реализовано методами непараметрической статистики, дисперсионного анализа, для сравнения независимых переменных использовались критерии χ^2 , критерий равенства дисперсий Ливиня, t-критерий Стьюдента с оценкой их значимости p. Анализ связи уровней циркулирующих микроРНК со значениями ККА рассчитывались методом множественной линейной регрессии с учетом ковариат: возраст, пол, курение, индекс массы тела (ИМТ), уровень холестерина, не входящего в состав липопротеинов высокой плотности (ХС нЛВП). Нормальность остатков

¹ Рожков А. Н., Щекочихин Д. Ю., Гогниева Д. Г., Беставашвили А. А., Генерозов Э. В., Н. М., Н. А., Фаворова О. О., Копылов Ф. Ю. База данных результатов анализа уровней циркулирующих регуляторных РНК у пациентов с атеросклерозом коронарных артерий: пат. № 2024622531 Российская Федерация. № 2024622297: заяв. 05.06.2024; опубл. 07.06.2024. Бюлл. № 6. Режим доступа: https://www1.fips.ru/fips_servl/fips_servlet?DВ=DB&DocNumber=2024622531.

Таблица 1

Клинические и демографические характеристики исследуемой выборки

Показатель	Общая группа (n=62)	Группа 1 (n=44)	Группа 2 (n=18)	p
Женский пол, %	72,6	70,5	77,8	0,565
Курение, %	12,9	15,9	5,6	0,195
Артериальная гипертензия, %	88,7	88,6	94,4	0,978
Возраст, лет, M±SD	65,03±9,70	64,30±9,06	66,83±11,19	0,354
ИМТ, кг/м ² , M±SD	28,71±4,14	28,74±4,19	28,62±4,15	0,921
Общий ХС, ммоль/л, M±SD	5,66±1,29	5,62±1,20	5,77±1,48	0,675
ХС ЛВП, ммоль/л, M±SD	1,43±0,38	1,38±0,41	1,53±0,27	0,152
ХС ЛНП, ммоль/л, M±SD	3,57±1,16	3,53±1,05	3,66±1,43	0,710

Примечание: ЛВП — липопротеины высокой плотности, ЛНП — липопротеины низкой плотности, ХС — холестерин, M±SD — среднее значение ± стандартное отклонение; Группа 1 — пациенты с атеросклерозом коронарных артерий, Группа 2 — пациенты без атеросклероза коронарных артерий.

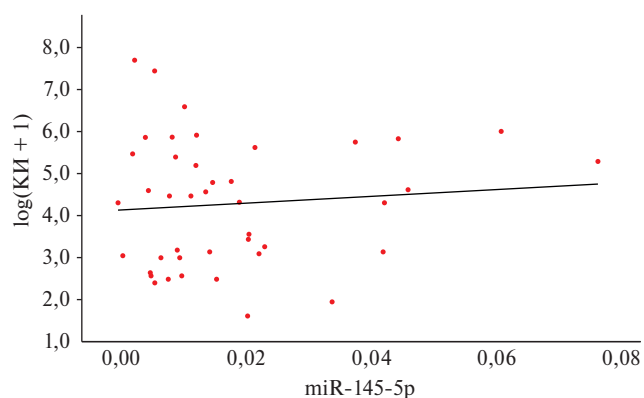


Рис. 1 Линейные взаимоотношения уровня miR-145-5p у пациентов с различными значениями коронарного КИ >0 AU.

Примечание: КИ — кальциевый индекс, AU — agatson unit (единица Агатсона). По оси абсцисс указано нормализованное значение экспрессии EXP, рассчитанное на основе $\Delta\Delta Ct$.

оценивалась с помощью теста Шапиро-Уилка, гомоскедастичность — с помощью теста Бройша-Пагана, автокорреляция — с помощью теста Дарбина-Уотсона. Для оценки связи с дихотомическими показателями (наличие/отсутствие ККА, включая КИ ≥ 10 AU и КИ ≥ 100 AU) проводилась логистическая регрессия с последующим ROC-анализом и сравнением площади под кривой (AUC — area under curve) при помощи теста ДеЛонга. Статистически значимыми считались результаты при $p < 0,05$. Для оценки диагностической эффективности использовался ROC-анализ со определением AUC. В качестве проверяемой переменной использовались значения уровней циркулирующей микроРНК, в качестве переменной состояния — групповая принадлежность пациента. Качество модели с AUC = 0,6–0,7 считалось средним, с AUC = 0,7–0,8 — хорошим, с AUC > 0,8 — очень хорошим. Статистическая обработка данных производилась в программном обеспечении IBM SPSS Statistics версии 27, MedCalc Statistical версии 23.4.4.

Результаты

На первом этапе исследования была выполнена множественная линейная регрессия, где в качестве независимых переменных рассматривались отно-

сительные уровни циркулирующих miR-195, -145, 181b, а также стандартные ковариаты: возраст, пол, курение, ИМТ, уровень ХС-нЛВП. Диагностически значимый уровень был отмечен для miR-145 ($p = 0,005$) при общей значимости модели $F = 2,077$ ($p < 0,05$).

Однако анализ качества модели выявил существенные недостатки. Так, за счет сильно коррелирующих предикторов (ИМТ и возраст) отмечалось высокое значение мультиколлинеарности (взаимозависимости объясняющих переменных), а также отсутствовало нормальное распределение значений КИ. Кроме того, модель описывала низкую долю дисперсии за счёт большого числа пациентов с КИ = 0 (32,3%).

С учётом выявленных критически значимых факторов была построена новая модель множественной логистической регрессии только для пациентов с КИ > 0 без учёта возраста и ИМТ в качестве ковариат, а также с логистическим преобразованием значений КИ для нормализации распределения. Такая модель показала более высокую значимость $F = 2,95$ ($p = 0,11$). При этом мультиколлинеарность отсутствовала, нормальность остатков была соблюдена, гомоскедастичность не нарушена, а автокорреляция отсутствовала.

Значимым предиктором наличия ККА ($p = 0,005$) также остался уровень miR-145-5p (рисунок 1).

На втором этапе исследования было принято решение о проведении логистической регрессии для miR-145, а также комбинированных маркеров на основе miR-195 + miR181b и всех трёх исследуемых микроРНК для выявления ККА в принципе (КИ > 0 AU), ККА без учёта минимальных изменений (КИ > 10 AU) и значимого ККА (КИ > 99 AU). Для этого значения относительных уровней микроРНК были стандартизированы через z-оценку. Для комбинированного маркера из трёх микроРНК значения z-оценки miR-145 были инвертированы, поскольку её снижение было ассоциировано с повышением значений КИ.

Таблица 2

Диагностическая эффективность моделей, учитывающих уровни miR-145-5p, -181b-5p, -195-5p, а также ряда клинично-демографических данных для выявления наличия ККА

Модель	AUC	95% ДИ	Чувствительность, %	Специфичность, %	p
miR-145-5p + ковариаты	0,825	0,707-0,910	59,5	95	<0,001
miR-181b-5p/195-5p + ковариаты	0,829	0,712-0,912	71,4	90	<0,001
Все микроРНК + ковариаты	0,854	0,741-0,931	59,5	100	<0,001
Только ковариаты	0,780	0,656-0,875	54,8	95	<0,001
Только miR-145-5p	0,827	0,710-0,912	61,9	95	<0,001

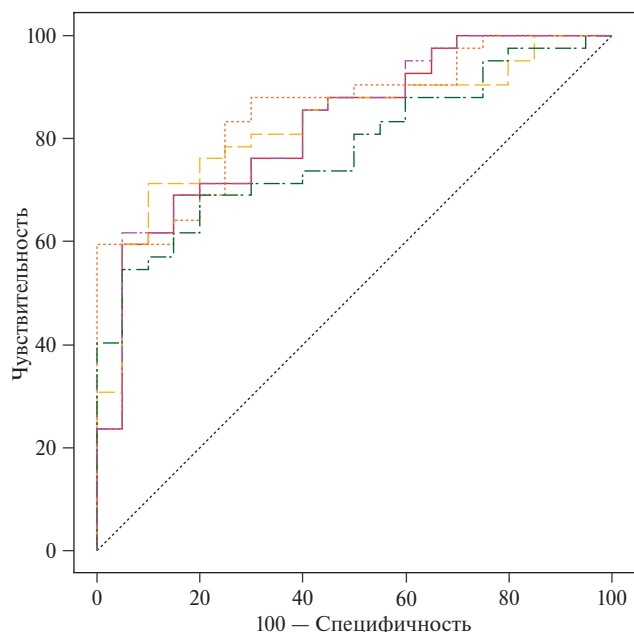
Примечание: ДИ — доверительный интервал, ИМТ — индекс массы тела, ККА — кальциноз коронарных артерий, микроРНК — малые некодирующие молекулы рибонуклеиновой кислоты, ХС нЛВП — холестерин, не входящий в состав липопротеинов высокой плотности, AUC — area under curve (площадь под кривой), ковариаты: возраст, пол, курение, ИМТ, уровень ХС нЛВП, miR — microRNA (микроРНК).

Таблица 3

Диагностическая эффективность моделей, учитывающих уровни miR-145-5p, -181b-5p, -195-5p, а также ряда клинично-демографических данных для выявления ККА на уровне ≥ 10

Модель	AUC	95% ДИ	Чувствительность, %	Специфичность, %	p
miR-145-5p + ковариаты	0,805	0,685-0,895	66,7	87	<0,001
miR-181b-5p/195-5p + ковариаты	0,804	0,683-0,894	61,5	91	<0,001
Все микроРНК + ковариаты	0,819	0,701-0,906	87,2	70	<0,001
Только ковариаты	0,758	0,633-0,858	56,41	87	<0,001
Только miR-145-5p	0,653	0,521-0,769	64,1	70	0,038

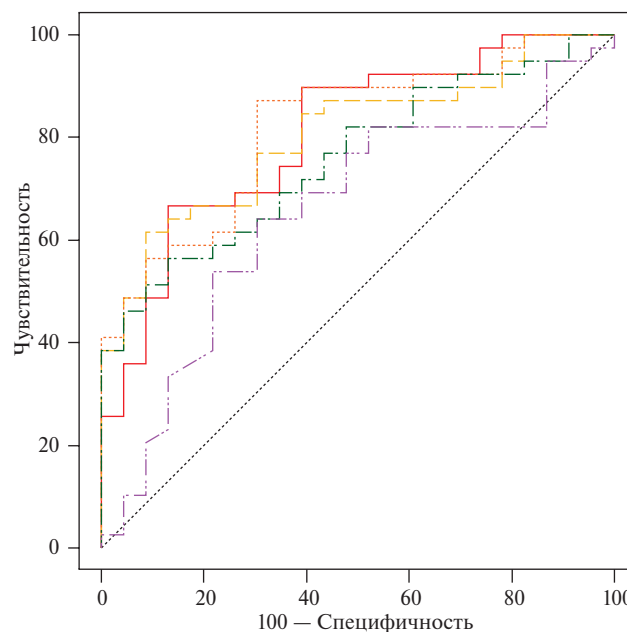
Примечание: ДИ — доверительный интервал, ИМТ — индекс массы тела, ККА — кальциноз коронарных артерий, микроРНК — малые некодирующие молекулы рибонуклеиновой кислоты, ХС нЛВП — холестерин, не входящий в состав липопротеинов высокой плотности, AUC — area under curve (площадь под кривой), ковариаты: возраст, пол, курение, ИМТ, уровень ХС нЛВП, miR — microRNA (микроРНК).



— Модель с miR-145-5p
 - - - Модель с miR-181b-5p/195-5p
 . . . Модель все miRNA
 - . - . Модель без miRNA
 - - - - Только miR-145-5p

Рис. 2 ROC-кривые моделей, учитывающих уровни miR-145-5p, -181b-5p, -195-5p, а также ряда клинично-демографических данных для выявления наличия ККА.

Примечание: ККА — кальциноз коронарных артерий, miR — microRNA (микроРНК — малые некодирующие молекулы рибонуклеиновой кислоты). Цветное изображение доступно в электронной версии журнала.



— Модель с miR-145-5p
 - - - Модель с miR-181b-5p/195-5p
 . . . Модель все miRNA
 - . - . Модель без miRNA
 - - - - Только miR-145-5p

Рис. 3 ROC-кривые моделей, учитывающих уровни miR-145-5p, -181b-5p, -195-5p, а также ряда клинично-демографических данных для выявления ККА на уровне ≥ 10 AU.

Примечание: ККА — кальциноз коронарных артерий, AU — agatson unit (единица Агатсона), miR — microRNA (микроРНК — малые некодирующие молекулы рибонуклеиновой кислоты). Цветное изображение доступно в электронной версии журнала.

Таблица 4

Диагностическая эффективность моделей, учитывающих уровни miR-145-5p, -181b-5p, -195-5p, а также ряда клиничко-демографических данных для выявления значимого ККА ≥ 100 AU

Модель	AUC	95% ДИ	Чувствительность, %	Специфичность, %	p
miR-145-5p + ковариаты	0,842	0,727-0,922	75,0	90	<0,001
miR-181b-5p/195-5p + ковариаты	0,826	0,709-0,911	75,0	83	<0,001
Все микроРНК + ковариаты	0,835	0,718-0,917	80,0	79	<0,001
Только ковариаты	0,831	0,714-0,914	75,0	83	<0,001
Только miR-181b-5p/195-5p	0,527	0,396-0,655	50,0	64	0,739

Примечание: ДИ — доверительный интервал, ИМТ — индекс массы тела, ККА — кальциноз коронарных артерий, микроРНК — малые некодирующие молекулы рибонуклеиновой кислоты, ХС нЛВП — холестерин, не входящий в состав липопротеинов высокой плотности, AUC — area under curve (площадь под кривой), ковариаты: возраст, пол, курение, ИМТ, уровень ХС нЛВП, miR — microRNA (микроРНК).

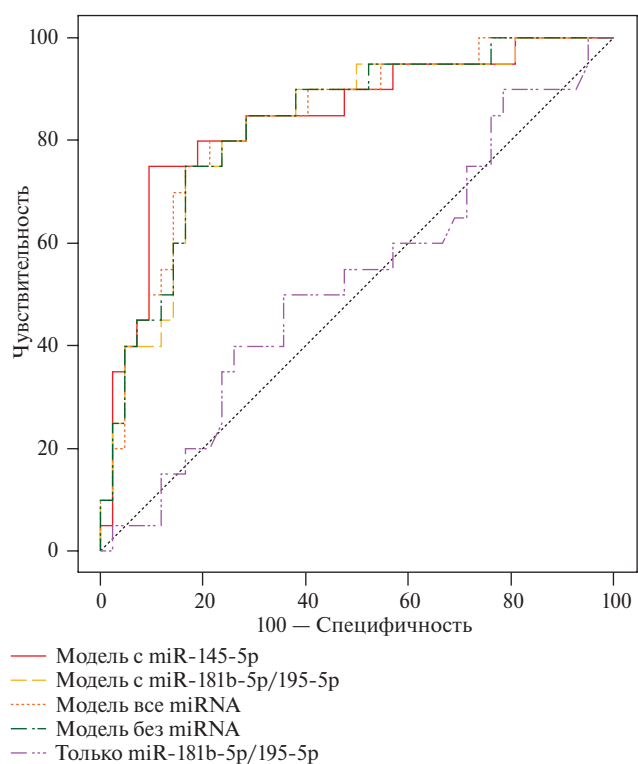


Рис. 4 ROC-кривые моделей, учитывающих уровни miR-145-5p, -181b-5p, -195-5p, а также ряда клиничко-демографических данных для выявления ККА на уровне ≥ 10 AU.

Примечание: ККА — кальциноз коронарных артерий, AU — agatson unit (единица Агатсона), AUC — area under curve (площади под кривой), miR — microRNA (микроРНК — малые некодирующие молекулы рибонуклеиновой кислоты). Цветное изображение доступно в электронной версии журнала.

Результаты оценки диагностической эффективности описанных моделей для выявления ККА представлены на рисунке 2 и в таблице 2. Все исследуемые варианты моделей показали очень хорошие значения AUC за исключением модели без учета микроРНК, где AUC составила 0,78. При сравнении AUC всех вариантов ROC-кривых значимых различий получено не было. Обращает на себя внимание то, что использование оценки только уровня miR-145-5p без учета ковариат позволяет с очень высокой специфичностью выявлять факт наличия

атеросклероза, однако чувствительность составляет ~62%. Наиболее эффективной в отношении чувствительности и специфичности была модель с учетом уровней miR-181b-5p и -195-5p и клиничко-демографических данных.

Результаты оценки диагностической эффективности описанных моделей для выявления ККА без учёта минимальных повышений (КИ ≥ 10 AU) представлены на рисунке 3 и в таблице 3. Наилучшие результаты продемонстрировала модель с учётом всех исследуемых микроРНК и клиничко-демографических данных, при этом очень хорошие значения AUC имели модели miR-145-5p + ковариаты, а также miR-181b-5p, -195-5p + ковариаты, однако, они обладали невысокой чувствительностью. Наименее эффективной была модель, учитывающая только уровни miR-145-5p. При сравнении AUC всех вариантов ROC-кривых использование только оценки miR-145-5p было значимо слабее по сравнению с моделями, учитывающими miR-145-5p и клиничко-демографические факторы ($p=0,037$) и все три микроРНК с указанными ковариатами ($p=0,047$).

Результаты оценки диагностической эффективности описанных моделей для выявления значимого ККА (КИ ≥ 100 AU) представлены на рисунке 4 и в таблице 4. Модель miR-145-5p + ковариаты показала максимальные значения AUC, а также чувствительности и специфичности. Остальные модели за исключением модели с оценкой только уровней miR-181b-5p и -195-5p также демонстрировали высокую диагностическую эффективность. Стоит отметить, что при сравнении AUC всех вариантов ROC-кривых использование оценки только комбинации miR-181b-5p и -195-5p было значимо слабее по сравнению с моделями, учитывающими комбинацию miR-181b-5p и -195-5p и клиничко-демографические факторы ($p=0,003$), miR-145-5p с ковариатами ($p=0,001$) и все три микроРНК с ковариатами ($p=0,001$) и даже по сравнению с моделью, не учитывающей уровни микроРНК ($p=0,002$). Таким образом, добавление уровней исследуемых циркулирующих микроРНК к клиничко-демографическим

показателям позволило улучшить чувствительность всего на 5% и специфичность всего на 7%.

Обсуждение

Недавние исследования циркулирующих микроРНК выявили их значительный потенциал в качестве биомаркеров и терапевтических мишеней при сердечно-сосудистых заболеваниях, в частности при атеросклерозе и процессах кальцификации сосудов. Ряд данных указывает на критическую роль miR-195-5p в патогенезе атеросклероза и механизмах кальцификации сосудов [5-7]. Отмечается, что уровень экспрессии miR-195-5p повышен у пациентов с атеросклерозом по сравнению со здоровыми людьми, что позволяет предположить его участие в прогрессировании заболевания посредством множества молекулярных путей, включая дисфункцию эндотелия, клеточную пролиферацию и регуляцию апоптоза, что согласуется с полученными нами результатами.

В недавно проведенных клинических исследованиях была установлена четкая связь между уровнем в крови miR-195-5p и прогрессированием атеросклеротического заболевания. Так, исследование Tang H, et al. показало, что экспрессия miR-195-5p значительно повышена в сыворотке крови пациентов с атеросклерозом сонных артерий по сравнению со здоровыми добровольцами [8]. Авторы указывают на потенциальную возможность использования miR-195-5p в качестве биомаркера для выявления и мониторинга атеросклеротических заболеваний. Настоящее исследование позволяет уточнить потенциальную предиктивную способность miR-195-5p в отношении атеросклероза, поскольку демонстрирует не просто положительную корреляцию с наличием атеросклероза коронарных артерий, причем, что важно, с большей чувствительностью и специфичностью в отношении начальных сосудистых изменений, но и отрицательную корреляцию с нулевым значением КИ. Корреляция между уровнями в сыворотке крови и паттернами клеточной экспрессии позволяет предположить, что уровень miR-195-5p может отражать наличие текущей сосудистой патологии и служить неинвазивным индикатором тяжести заболевания.

Патофизиологическая роль miR-195-5p в развитии атеросклероза связана со сложными взаимодействиями с биологией эндотелиальных клеток, в частности с эндотелиальными клетками аорты человека [8]. Экспериментальные данные свидетельствуют о том, что экспрессия miR-195-5p значительно увеличивается в ответ на воздействие окисленных липопротеинов низкой плотности, повышенный уровень холестерина в которых считается ключевым атерогенным фактором [9, 10].

Помимо стимуляции эндотелиальной дисфункции, роль miR-195-5p описана и в процессе каль-

цификации аортального клапана, который имеет патофизиологическое сходство с кальцификацией коронарных артерий [11]. Авторы указывают, что miR-195-5p является ключевой регуляторной молекулой в прогрессировании кальцификации благодаря взаимодействию с осью RMST/miR-195-5p/SMAD7. В этом процессе длинная некодирующая РНК RMST действует в качестве молекулярной губки, связывая и изолируя miR-195-5p, тем самым снижая ее доступность для подавления мишени SMAD7 — важного регулятора сигнального пути трансформирующего фактора роста бета и костного морфогенного белка. Это способствует остеогенной дифференцировке и отложению кальция в аортальном клапане.

Другим возможным путём воздействия miR-195-5p на клеточном уровне является индукция апоптоза путём снижения экспрессии гена никотинамид-адениндинуклеотид (НАД)-зависимой деацетилазы сиртуина-1 (SIRT1), обладающего протективной функцией [12]. Терапевтическое значение этого пути весьма существенно, поскольку исследования ингибиторов SIRT1 показали, что защитное действие подавления эффектов miR-195-5p может быть обратимым при блокировании активности SIRT1.

В процессах апоптоза и аутофагии гладкомышечных клеток сосудов в качестве одного из важнейших регуляторов отмечалась и роль miR-145-5p. Так, в исследовании Zhang X, et al. было показано, что данная микроРНК воздействует на кальций/кальмодулин-зависимую протеинкиназу II дельта (CaMKII δ), ключевой медиатор аутофагии в гладкомышечных клетках аорты человека и компонент, ассоциированный со стабильностью атеросклеротической бляшки [13]. Снижение уровня miR-145-5p в плазме пациентов с атеросклерозом и в тканях артерий коррелировало с повышением экспрессии CaMKII δ , что впоследствии активировало сигнальный путь AMPK/mTOR/ULK1, как механизм регуляции аутофагии. Этот сдвиг в пути передачи сигнала способствовал образованию аутофагосом, в то время как оверэкспрессия miR-145-5p в эндотелиоцитах нивелировала эти эффекты, восстанавливая экспрессию маркеров сократимости (α -SMA, SM22 α) и снижая накопление липидов. В нашем исследовании более высокие уровни данной микроРНК ассоциировались с нулевым уровнем коронарного кальция, что позволяет рассматривать снижение уровня miR-145-5p как один из патологических факторов атерогенеза.

Хотя прямые доказательства связи miR-181b-5p с ККА остаются ограниченными, функциональные исследования выявляют регуляторную роль указанной микроРНК в сосудистом воспалении. МикроРНК семейства miR-181, включая miR-181a-5p и miR-181b-5p, модулируют передачу сигналов

ядерного фактора каппа В (NF-κB) через различные мишени. В эндотелиальных клетках пупочной вены человека гиперэкспрессия miR-181b-5p снижает экспрессию молекул межклеточной адгезии 1-го типа (ICAM-1) и молекул адгезии сосудистого эндотелия 1-го типа (VCAM-1) на 40-60% при стимуляции фактора некроза опухоли-α (TNF-α), ослабляя адгезию моноцитов [14].

Анализ децидуализированных стромальных клеток эндометрия выявил способность miR-181b-5p подавлять экспрессию аннексина А2 и тканевого ингибитора металлопротеиназы-3 (TIMP-3), которые являются важнейшими медиаторами клеточной миграции и ремоделирования матрикса. Хотя это исследование было посвящено репродуктивной биологии, оказалось, что выявленные мишени играют важную роль в патофизиологии сосудов. Аннексин А2 способствует миграции сосудистых гладкомышечных клеток посредством активации плазминогена, в то время как TIMP-3 ингибирует матриксные металлопротеиназы, участвующие в разрыве бляшки [15]. Эти результаты указывают на то, что miR-181b-5p может влиять на ремоделирование атеросклеротических бляшек.

В нашем предыдущем исследовании уровень miR-181b-5p был выше у пациентов со стабильными атеросклеротическими бляшками. Однако, значения чувствительности и специфичности данной микроРНК в выявлении стабильных атеросклеротических бляшек по данным ROC анализа были посредственными. Кроме того, уровни данной микроРНК были выше у пациентов с КИ >100 AU [4]. Таким образом, хотя miR-181b-5p демонстрирует потенциал как регулятор стабильности атеросклеротических бляшек, её ограниченная диагностическая точность указывает на необходимость изучения этой микроРНК в составе мультипараметрических панелей или в сочетании с визуализационными маркерами для повышения прогностической ценности.

Ограничения исследования. Основным ограничением исследования является малый размер выборки. Исходя из небольшого размера выборки не представлялось возможным более детальное ранжирование пациентов по группам с различными уровнями, ККА особенно в группах с КИ ≥100, 300 и 1000 AU. В исследование не входили пациенты с сахарным диабетом 2 типа, который существенно повышает риск развития атеросклероза. Кроме то-

го, исследование носит ретроспективный характер, что не позволяет оценить влияние уровней циркулирующих микроРНК на исходы у пациентов с атеросклерозом.

Заключение

Проведённое исследование подтвердило значимую ассоциацию уровней циркулирующих микроРНК — в частности miR-145-5p, miR-181b-5p и miR-195-5p — с наличием и степенью выраженности ККА. Наиболее убедительные данные получены для miR-145-5p, уровень которой был достоверно ниже у пациентов с выявленным коронарным кальциозом и демонстрировал высокую эффективность выявления ККА как в качестве независимого биомаркера, так и в комбинации с клинико-демографическими факторами.

Комбинированные модели, включающие несколько микроРНК и ковариаты (пол, курение, уровень ХС-неЛВП), продемонстрировали высокую диагностическую эффективность (AUC >0,8) для выявления как начальных, так и значимых форм кальциоза (КИ ≥10 AU и КИ ≥100 AU, соответственно). Особенно высокую чувствительность и специфичность показала модель на основе всех трёх микроРНК в сочетании с клиническими параметрами при диагностике ККА без учёта минимальных изменений (КИ ≥10 AU). В то же время при оценке значимого кальциоза (КИ ≥100 AU) наилучшие результаты продемонстрировала модель с miR-145-5p и клинико-демографическими показателями.

Полученные данные согласуются с современными представлениями о роли указанных микроРНК в патогенезе атеросклероза и сосудистой кальцификации, подтверждая их участие в регуляции воспаления, апоптоза, эндотелиальной дисфункции и ремоделирования сосудистой стенки. Таким образом, профилирование циркулирующих микроРНК представляет собой перспективный неинвазивный подход к ранней диагностике, стратификации риска и, в перспективе, персонализированному управлению пациентами с атеросклеротическим поражением коронарных артерий

Отношения и деятельность. Работа выполнена при финансовой поддержке программы "Приоритет 2030", проект "Технологии регенеративной кардиологии". Шифр: 01.000.Б.133.

Литература/References

1. Tsydenova AY, Baranov AA, Naydenov RA, et al. Coronary Artery Calcification: Intracoronary Imaging, Contemporary Technologies of Treatment. *Complex Issues of Cardiovascular Diseases*. 2024;13(2):101-15. (In Russ.) Цыденова А. Ю., Баранов А. А., Найденов Р. А. и др. Кальциоз Коронарных Артерий: Роль Визуализирующих Методов Диагностики, Современные Методы Лечения. *Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний*. 2024;13(2):101-15. doi:10.17802/2306-1278-2024-13-2-101-115.
2. Mayorov GB, Kurbanov SK, Vlasova EE, et al. Calcification in coronary heart disease: issues of diagnosis, prognosis and choice of treatment. *Russian Cardiology Bulletin*. 2018;13(4):4-10.

- (In Russ.) Майоров Г. Б., Курбанов С. К., Власова Э. Е. и др. Проблема кальциноза при коронарной болезни сердца: вопросы диагностики, прогноза и выбора лечения. Кардиологический вестник. 2018;13(4):4-10. doi:10.17116/Cardiobulletin2018130414.
3. Ibragimova AG, Shakhmaeva KR, Stanishevskaya IE, et al. The potential role of miRNAs in calcification of cardiovascular diseases. Russian Journal of Cardiology. 2019;(10):118-25. (In Russ.) Ибрагимова А. Г., Шахмаева Е. Р., Станишевская И. Е. и др. Потенциальная роль микроРНК при кальцинозе сосудов. Российский кардиологический журнал. 2019;(10):118-25. doi:10.15829/1560-4071-2019-10-118-125.
 4. Rozhkov AN, Shchekochikhin DY, Ashikhmin YI, et al. The Profile of Circulating Blood microRNAs in Outpatients with Vulnerable and Stable Atherosclerotic Plaques: Associations with Cardiovascular Risks. Noncoding RNA. 2022;8(4):47. doi:10.3390/ncrna8040047.
 5. Rozhkov AN, Shchekochikhin DY, Baulina NM, et al. Analysis of circulating miRNA levels in coronary heart disease patients with varying degrees of cardiovascular complications risk. Correlations with the MSCT-CA data. Annals of the Russian academy of medical sciences. 2020;75(4):283-91. (In Russ.) Рожков А. Н., Щечокчихин Д. Ю., Баулина Н. М. и др. Анализ уровней циркулирующих микро-РНК у пациентов с коронарной болезнью сердца при различной степени риска развития сердечно-сосудистых осложнений. Корреляция с данными МСКТ-КА. Вестник Российской академии медицинских наук. 2020;75(4):283-91. doi:10.15690/vramn1325.
 6. Xiong J, Ma F, Ding N, et al. miR-195-3p alleviates homocysteine-mediated atherosclerosis by targeting IL-31 through its epigenetics modifications. Aging Cell. 2021;20(10):e13485. doi:10.1111/ace1.13485.
 7. Choudhury RR, Gupta H, Bhushan S, et al. Role of miR-128-3p and miR-195-5p as biomarkers of coronary artery disease in Indians: a pilot study. Sci Rep. 2024;14(1):11881. doi:10.1038/s41598-024-61077-4.
 8. Tang H, Sun S, Zhang Y, et al. LINC01088 Targets miR-195-5p to Promote Proliferation and Migration and Reduce Apoptosis in the Inhibition of Carotid Artery Stenosis. Clin Appl Thromb Hemost. 2025;31:10760296251319281. doi:10.1177/10760296251319281.
 9. Lin N, Wu Y, Huang D, et al. Effects of miR-195-5p on ox-LDL-induced vascular endothelial cell injury through regulating FBXW7. Chin J Clin Pharmacol Ther. 2022;27(2):163-70. doi:10.12092/j.issn.1009-2501.2022.02.006.
 10. Wang Y, Zhang CX, Ge SL, et al. CTBP1-AS2 inhibits proliferation and induces autophagy in ox-LDL-stimulated vascular smooth muscle cells by regulating miR-195-5p/ATG14. Int J Mol Med. 2020;46(2):839-48. doi:10.3892/ijmm.2020.4624.
 11. Zheng R, Bian J, Gu J, et al. LncRNA RMST Promotes Progression of Calcification of Aortic Valve Via the miR-195-5p/Smad7 Axis. SSRN. 2021;1-42. doi:10.2139/ssrn.3878086.
 12. Yuan T, Zhang L, Yao S, et al. miR-195 promotes LPS-mediated intestinal epithelial cell apoptosis via targeting SIRT1/eIF2a. Int J Mol Med. 2020;45(2):510-8. doi:10.3892/ijmm.2019.4431.
 13. Zhang X, Zai L, Tao Z, et al. miR-145-5p affects autophagy by targeting CaMKII δ in atherosclerosis. Int J Cardiol. 2022;360:68-75. doi:10.1016/j.ijcard.2022.05.039.
 14. Su Y, Yuan J, Zhang F, et al. MicroRNA-181a-5p and microRNA-181a-3p cooperatively restrict vascular inflammation and atherosclerosis. Cell Death Dis. 2019;10(5):365. doi:10.1038/s41419-019-1599-9.
 15. Graham A, Holbert J, Nothnick WB. miR-181b-5p Modulates Cell Migratory Proteins, Tissue Inhibitor of Metalloproteinase 3, and Annexin A2 During In Vitro Decidualization in a Human Endometrial Stromal Cell Line. Reprod Sci. 2017;24(9):1264-74. doi:10.1177/1933719116682877.