

Циркулирующие микроРНК у больных ишемической болезнью сердца и сахарным диабетом 2 типа

С. А. Серик  *A,C,D,E,F, Э. Н. Сердобинская-Канивец  B,C,D, Т. Н. Бондарь  C,B,E

ГУ «Национальный институт терапии имени Л. Т. Малой НАМН Украины», г. Харьков

A – концепция и дизайн исследования; B – сбор данных; C – анализ и интерпретация данных; D – написание статьи; E – редактирование статьи; F – окончательное утверждение статьи

Цель работы – изучить уровни циркулирующих микроРНК-27а, -221 и их связь с гликемией и инсулинорезистентностью у больных ишемической болезнью сердца (ИБС) с сахарным диабетом 2 типа.

Материалы и методы. В исследование включены 58 больных стабильной ИБС с сахарным диабетом 2 типа, 22 больных ИБС без диабета. Группу контроля составили 19 здоровых лиц. МикроРНК-27а и -221 определяли в плазме крови методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени. Результаты представлены в относительных единицах (о.е.) по отношению к референсной микроРНК U6.

Результаты. У больных ИБС с диабетом уровни циркулирующих микроРНК-27а (0,69 [0,32; 1,40] о.е.) и -221 (0,54 [0,33; 0,91] о.е.) были ниже, чем в группе контроля ($p = 0,024$, $p = 0,006$ соответственно) и в группе ИБС без диабета ($p = 0,011$, $p = 0,001$ соответственно).

У больных ИБС без диабета уровни микроРНК-27а (1,37 [0,63; 2,86] о.е.) и микроРНК-221 (1,07 [0,62; 2,70] о.е.) оказались незначимо выше, чем в контрольной группе (0,90 [0,61; 2,62] о.е. и 1,05 [0,53; 1,77] о.е. соответственно, $p > 0,05$). У больных ИБС с диабетом позитивная корреляция между микроРНК ($R = 0,319$, $p = 0,027$) достоверно слабее, чем в контрольной группе ($R = 0,889$, $p < 0,001$) ($p < 0,001$) и у больных ИБС без диабета ($R = 0,772$, $p < 0,001$) ($p = 0,020$). У пациентов с диабетом микроРНК-27а негативно коррелировала с гликозилированным гемоглобином ($R = -0,339$, $p = 0,030$), а микроРНК-221 – с индексом HOMA-IR ($R = -0,362$, $p = 0,006$).

По результатам ROC-анализа, снижение обеих микроРНК достоверно ассоциировалось с наличием диабета у больных ИБС. AUC для микроРНК-27а составила 0,692 (ДИ: 0,575–0,793, $p = 0,009$), AUC для микроРНК-221 – 0,728 (ДИ: 0,617–0,821, $p = 0,001$).

Выводы. У больных ИБС с сахарным диабетом 2 типа уровни циркулирующих микроРНК-27а и -221 достоверно снижались по сравнению и с контролем, и с больными ИБС без диабета. Снижение микроРНК-27а ассоциировалось с гипергликемией, а микроРНК-221 – с нарастанием инсулинорезистентности. У больных ИБС без диабета уровни этих микроРНК не изменялись.

Ключевые слова:

ишемическая болезнь сердца, сахарный диабет 2 типа, микроРНК.

Патология. 2020. Т. 17, № 3(50). С. 295-305

*E-mail: serik123@ukr.net

Циркулювальні мікроРНК у хворих на ішемічну хворобу серця та цукровий діабет 2 типу

С. А. Серик, Е. М. Сердобинська-Канівець, Т. М. Бондар

Мета роботи – вивчити рівні циркулювальних мікроРНК-27а, -221 та їхній зв'язок із глікемією та інсулінорезистентністю у хворих на ішемічну хворобу серця (ІХС) і цукровий діабет 2 типу.

Матеріали та методи. У дослідження включили 58 хворих на стабільну ІХС і цукровий діабет 2 типу, 22 хворих на ІХС без діабету. Група контролю – 19 здорових осіб. МікроРНК-27а і -221 визначали у плазмі крові методом полімеразної ланцюгової реакції в режимі реального часу. Результати наведені у відносних одиницях (в.о.) щодо референсної мікроРНК U6.

Результати. У хворих на ІХС і діабет рівні циркулювальних мікроРНК-27а (0,69 [0,32; 1,40] в.о.) і 221 (0,54 [0,33; 0,91] в.о.) були нижчими, ніж у групі контролю ($p = 0,024$, $p = 0,006$ відповідно) і у групі ІХС без діабету ($p = 0,011$, $p = 0,001$ відповідно).

У хворих на ІХС без діабету рівні мікроРНК-27а (1,37 [0,63; 2,86] в.о.) і мікроРНК-221 (1,07 [0,62; 2,70] в.о.) невірогідно вищі, ніж у контрольній групі (0,90 [0,61; 2,62] в.о. і 1,05 [0,53; 1,77] в.о. відповідно, $p > 0,05$). У хворих на ІХС із діабетом позитивна кореляція між мікроРНК ($R = 0,319$, $p = 0,027$) вірогідно слабша, ніж у контрольній групі ($R = 0,889$, $p < 0,001$) ($p < 0,001$) та у хворих на ІХС без діабету ($R = 0,772$, $p < 0,001$) ($p = 0,020$). У пацієнтів із діабетом мікроРНК-27а негативно корелювала з гликозилюваним гемоглобіном ($R = -0,339$, $p = 0,030$), а мікроРНК-221 – з індексом HOMA-IR ($R = -0,362$, $p = 0,006$). За результатами ROC-аналізу, зниження обох мікроРНК вірогідно асоціювалося з наявністю діабету у хворих на ІХС. AUC для мікроРНК-27а становила 0,692 (ДІ: 0,575–0,793, $p = 0,009$), AUC для мікроРНК-221 – 0,728 (ДІ: 0,617–0,821, $p = 0,001$).

Висновки. У хворих на ІХС і цукровий діабет 2 типу рівні циркулювальних мікроРНК-27а і -221 вірогідно знижувалися порівняно і з контролем, і з хворими на ІХС без діабету. Зниження мікроРНК-27а асоціювалося з гіперглікемією, а мікроРНК-221 – з посиленням інсулінорезистентності. У хворих на ІХС без діабету рівні цих мікроРНК не змінювалися.

Ключові слова:

ішемічна хвороба серця, цукровий діабет 2 типу, мікроРНК.

Патологія. 2020. Т. 17, № 3(50). С. 295-305

Key words:
coronary artery
disease,
type 2 diabetes
mellitus,
microRNA.

Pathologia
2020; 17 (3), 295-305

Circulating microRNAs in patients with ischemic heart disease with type 2 diabetes mellitus

S. A. Serik, E. M. Serdobinska-Kanivets, T. M. Bondar

The aim of the study was to investigate circulating miRNAs-27a, -221 levels and their relationship with glycemia and insulin resistance in patients with ischemic heart disease (IHD) with type 2 diabetes mellitus.

Materials and methods. The study included 58 patients with stable IHD with type 2 diabetes and 22 patients with IHD without diabetes. The control group consisted of 19 healthy persons. MicroRNAs-27a and -221 were determined in blood plasma by real time polymerase chain reaction. Small nuclear RNA U6 was used as endogenous control.

Results. In patients with IHD with diabetes circulating microRNAs-27a and -221 levels were lower than in the controls ($P = 0.024$, $P = 0.006$, respectively) and in nondiabetic patients with IHD ($P = 0.011$, $P = 0.001$, respectively). In nondiabetic patients with IHD microRNAs-27a and 221 levels were nonsignificantly higher than in the controls ($P > 0.05$, for both). In diabetic patients with IHD the positive correlation between microRNAs ($R = 0.319$, $P = 0.027$) was significantly weaker than in the controls ($R = 0.889$, $P < 0.001$) ($P < 0.001$) and in nondiabetic patients with IHD ($R = 0.772$, $P < 0.001$) ($P = 0.020$). In patients with IHD with diabetes microRNA-27a negatively correlated with glycosylated hemoglobin ($R = -0.339$, $P = 0.030$), and microRNA-221 negatively correlated with the HOMA-IR ($R = -0.362$, $P = 0.006$). According to the ROC-analysis the decrease of both miRNAs levels was significantly associated with the presence of diabetes in patients with IHD. AUC for microRNA-27a was 0.692 (CI: 0.575–0.793, $P = 0.009$), AUC for microRNA-221 was 0.728 (CI: 0.617–0.821, $P = 0.001$).

Conclusions. In patients with IHD with type 2 diabetes mellitus circulating microRNAs-27a and -221 levels significantly decreased in comparison with both control and patients with IHD without diabetes. The decrease of microRNA-27a was associated with hyperglycemia, and the decrease of microRNA-221 was associated with the increase of insulin resistance. In patients with IHD without diabetes these microRNAs levels did not change.

Сердечно-сосудистые заболевания, и в первую очередь ишемическая болезнь сердца (ИБС), – основная причина смерти пациентов с сахарным диабетом 2 типа [1]. Согласно результатам метаанализа Emerging Risk Factors Collaboration, у лиц, изначально не имеющих сосудистых заболеваний, диабет приводит к двукратному увеличению риска коронарной смерти и нефатального инфаркта миокарда независимо от других традиционных факторов риска [2]. Несмотря на совершенствование медикаментозной терапии и интервенционных вмешательств, клинические последствия сочетания ИБС с сахарным диабетом 2 типа остаются неблагоприятными [3]. Результаты эпидемиологических исследований, свидетельствующие о тесной связи ИБС и диабета, указывают на необходимость лучшего понимания механизмов развития атеросклеротических сосудистых поражений при диабете и оптимизации лечения этой категории больных. Однако молекулярные механизмы, лежащие в основе взаимосвязи между диабетом и сердечно-сосудистыми заболеваниями, во многом остаются не совсем понятными [4].

Все больше данных свидетельствуют о значимости эпигенетических механизмов в патогенезе и ИБС, и диабета и его сердечно-сосудистых осложнений. Наряду с метилированием ДНК, посттрансляционной модификацией гистонов, значительное внимание уделяется некодирующим рибонуклеиновым кислотам и, в частности, микроРНК [5,6].

МикроРНК – малые одноцепочечные некодирующие молекулы РНК длиной 18–25 нуклеотидов. МикроРНК являются негативными регуляторами экспрессии генов на посттранскрипционном уровне, приводя к деградации или ингибированию трансляции их целевой матричной РНК и, таким образом, к полному или частичному подавлению синтеза белка. Одна микроРНК может регулировать работу множе-

ства генов, и один ген может регулироваться многими микроРНК [6,7]. В человеческом организме мишени микроРНК – более 60 % белок-кодирующих генов [8]. Известно 1917 микроРНК человека (miRBase 22) [9]. Эти молекулы вовлечены в ключевые регуляторные процессы внутри клетки и играют важную роль практически во всех биологических процессах: эмбриогенезе, пролиферации, росте и дифференцировке клеток, васкулогенезе, апоптозе, онкогенезе [5–7]. МикроРНК могут высвобождаться во внеклеточное пространство и в циркулирующей форме обнаружены во многих биологических жидкостях, включая плазму, сыворотку, слюну, мочу, грудное молоко. Благодаря высокой стабильности и устойчивости к деградации внеклеточные, циркулирующие микроРНК могут быть использованы как биомаркеры при различных заболеваниях. Во многих исследованиях показано, что циркулирующие микроРНК функционально активны и могут регулировать целевые РНК в клетках-реципиентах, выступая медиаторами межклеточной коммуникации или эндокринных генетических сигналов [10].

Идентифицирован ряд микроРНК, ассоциированных с патогенезом и сердечно-сосудистых заболеваний, и диабета [5,6]. Одни из таких микроРНК – микроРНК-27a и -221. Как свидетельствуют экспериментальные данные, эти микроРНК вовлечены в регуляцию различных звеньев атерогенеза, а также могут влиять на метаболизм глюкозы, регулируя чувствительность тканей к инсулину [7,11–14]. В клинических исследованиях установлены значимые изменения экспрессии циркулирующих микроРНК-27a и -221 и при ИБС, и при сахарном диабете, однако данные об уровнях этих микроРНК в циркуляции больных ИБС в сопоставлении с пациентами с глюкометаболическими нарушениями неоднозначны [15–21], а при сочетании сахарного диабета 2 типа и ИБС уровни этих микроРНК в системной циркуляции практически не исследованы.

Цель работы

Изучить уровни циркулирующих микроРНК-27а, -221 и их связь с гликемией и инсулинорезистентностью у больных ИБС при ее сочетании с сахарным диабетом 2 типа.

Материалы и методы исследования

Исследование проведено с соблюдением основных биоэтических положений Конвенции Совета Европы о правах человека и биомедицине (от 04.04.1997 г.), Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации об этических принципах проведения научных медицинских исследований с участием человека (1964–2008 гг.), а также приказа МЗ Украины № 690 от 23.09.2009 г. Со всеми участниками исследования подписано информированное согласие на проведение исследования.

В исследование включили 58 больных стабильной ИБС с сопутствующим сахарным диабетом 2 типа, 22 больных стабильной ИБС без диабета. Группу контроля составили 19 практически здоровых добровольцев.

Критерии исключения: острый инфаркт миокарда или нестабильная стенокардия <30 дней до включения в исследование, хроническая сердечная недостаточность III–IV функциональных классов, гемодинамически значимые пороки сердца, резистентная артериальная гипертензия, инсулинозависимый сахарный диабет, нарушение гормонпродуцирующей функции щитовидной железы, ревматизм и другие системные заболевания, острые и хронические в стадии обострения заболевания внутренних органов, почечная и печеночная недостаточность, обструктивные заболевания легких, онкологические заболевания, алкоголизм, наркомания.

Все больные ИБС получали стандартную терапию: ацетилсалициловую кислоту 75–100 мг или комбинацию ацетилсалициловой кислоты с клопидогрелем 75 мг, статины (аторвастатин 20–40 мг или розувастатин 10–20 мг), бета-блокатор (бисопролол 2,5–10,0 мг), ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента или сартаны. Пациенты с сахарным диабетом (СД) получали метформин 500–2000 мг или его комбинацию с препаратами сульфонилмочевины (глимепирид 1–4 мг или гликлазид 30–60 мг).

Кровь для исследования микроРНК брали в утреннее время, натощак из локтевой вены с минимальной перетяжкой жгутом в вакутайнеры VACUTEST с K₂EDTA в качестве антикоагулянта. Плазму крови хранили до проведения анализа при -20 °С не более 1 месяца. МикроРНК выделяли из плазмы с использованием набора NucleoSpin miRNA Plasma (Macherey-Nagel, ФРГ), их концентрацию определяли на флуорометре Qubit 3 (Life Technologies, США) с использованием набора реагентов Qubit™ microRNA (Thermo Fisher Scientific, США). Обратную транскрипцию проводили с использованием наборов TaqMan MicroRNA Reverse Transcription Kit (Applied Biosystems, США) и специфических петлевых праймеров Hsa-miR-27a (assay ID 000408, Applied Biosystems, США) и Hsa-miR-221 (assay ID 000524, Applied Biosystems, США). Анализ экспрессии микроРНК про-

водили методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени с помощью системы детекции CFX96 Touch (BioRad) с использованием наборов реагентов для контроля и анализа экспрессии микроРНК TaqMan microRNA Assay (Thermo Fisher Scientific, США) и TaqMan® Universal PCR Master Mix (Thermo Fisher Scientific, США) в соответствии с инструкцией производителя. В качестве эндогенного контроля для обратной транскрипции и амплификации использовали малую ядерную РНК U6 (U6 snRNA assay ID 001973, Applied Biosystems, США). Анализ и расчет нормализованной экспрессии микроРНК проводили с помощью программного обеспечения CFX Manager Software (BioRad). Результаты представлены в относительных единицах (о.е.) по отношению к референсной микроРНК U6.

Определяли уровень гликозилированного гемоглобина (HbA1c) (%) в крови фотометрическим ионообменным методом с использованием тест-систем фирмы Human GmbH (ФРГ). Для определения содержания инсулина в сыворотке крови использовали иммуноферментный метод и набор реагентов Insulin ELISA (DRG Instruments GmbH, ФРГ). Показатели глюкозы крови натощак определяли глюкозооксидазным методом с использованием биохимического анализатора Humalyzer 2000 № 18300 (ФРГ). Индекс инсулинорезистентности (HOMA-IR) рассчитывали по стандартной формуле: HOMA-IR = (инсулин натощак (мкМЕ/мл) × глюкоза натощак (ммоль/л)) / 22,5.

Статистическую обработку данных выполнили в программе Statistica 6.0 (StatSoft Inc., США, free version). Для проверки соответствия распределения количественных показателей нормальному закону использовали критерий Шапиро–Уилка. Данные представлены в виде среднего ± среднееквадратичное отклонение в случае нормального распределения и в виде медианы (Me) с квартильным размахом – 25 и 75 квартиль [Q1–Q3] при распределениях, отличающихся от нормального. Для парного сравнения двух групп использовали t-критерий Стьюдента (в случае нормального распределения) и U-тест Манна–Уитни с коррекцией непрерывности. Корреляционный анализ проведен с определением коэффициента линейной корреляции Пирсона и ранговой корреляции Спирмена. Выполнили ROC-анализ. Критический уровень достоверности нулевой статистической гипотезы (об отсутствии различий и влияний) – <0,05.

Результаты

Группы сопоставимы по полу больных (табл. 1). Больные ИБС и ИБС с диабетом не отличались по возрасту, но были старше, чем в группе контроля. Индекс массы тела у больных ИБС с диабетом больше по сравнению с больными без диабета, но количество пациентов с ожирением в этих группах значимо не отличалось. Индекс массы тела в контрольной группе ниже, чем в обеих группах больных. При оценке анамнестических данных не установлены различия между группами больных ИБС с диабетом и без диабета по наличию гипертонической болезни и курению, перенесенному инфаркту миокарда. Фракция выброса левого желу-

Таблица 1. Клиническая характеристика обследованных

Показатель, единицы измерения	Контроль (n = 19)	ИБС (n = 22)	ИБС с СД (n = 58)
Мужчины, n (%)	12 (63,15)	18 (81,81) $p_{1-2} = 0,179$	46 (79,31) $p_{1-3} = 0,156$ $p_{2-3} = 0,803$
Возраст, годы (M ± σ)	41,18 ± 9,79	58,71 ± 7,53 $p_{1-2} < 0,001$	60,82 ± 7,55 $p_{1-3} < 0,001$ $p_{2-3} = 0,235$
Индекс массы тела, кг/м ² (M ± σ)	24,31 ± 3,51	29,70 ± 4,62 $p_{1-2} < 0,001$	32,92 ± 4,50 $p_{1-3} < 0,001$ $p_{2-3} = 0,003$
Ожирение, n (%)	0 (0,00)	10 (45,45) $p_{1-2} < 0,001$	36 (62,06) $p_{1-3} < 0,001$ $p_{2-3} = 0,180$
Перенесенный инфаркт миокарда, n (%)	–	18 (81,81)	42 (72,41) $p_{3-2} = 0,386$
Гипертоническая болезнь, n (%)	–	20 (90,91)	56 (96,55) $p_{2-3} = 0,301$
Курение в настоящем или прошлом, n (%)	8 (42,10)	12 (54,55) $p_{1-2} = 0,426$	32 (55,41) $p_{1-3} = 0,314$ $p_{2-3} = 0,950$
Фракция выброса левого желудочка, % (M ± m)	61,20 ± 4,92	54,24 ± 4,67 $p_{1-2} < 0,001$	55,81 ± 4,79 $p_{1-3} = 0,002$ $p_{2-3} = 0,122$
Систолическое артериальное давление, мм рт. ст. (M ± σ)	118,67 ± 5,95	133,37 ± 10,45 $p_{1-2} < 0,001$	134,97 ± 12,69 $p_{1-3} < 0,001$ $p_{2-3} = 0,483$
Диастолическое артериальное давление, мм рт. ст. (M ± σ)	75,259 ± 6,07	82,579 ± 7,01 $p_{1-2} < 0,001$	81,818 ± 8,14 $p_{1-3} < 0,001$ $p_{2-3} = 0,590$

Таблица 2. Глюкометаболические показатели у больных ИБС с сахарным диабетом 2 типа и без него

Показатели, единицы измерения	Контроль (n = 19)	ИБС, n = 22	ИБС с СД, n = 58
Глюкоза, ммоль/л (Me [Q1; Q3])	4,98 [3,85; 5,74]	5,47 [5,08; 5,89] $p_{1-2} < 0,001$	8,08 [6,64; 10,50] $p_{1-3} < 0,001$ $p_{2-3} < 0,001$
Инсулин, мкМЕ/мл (Me [Q1; Q3])	20,86 [10,17; 26,41]	20,89 [13,58; 26,85] $p_{1-2} = 0,606$	23,95 [16,68; 33,72] $p_{1-3} = 0,079$ $p_{2-3} = 0,141$
НОМА-IR (Me [Q1; Q3])	4,35 [2,18; 5,86]	5,26 [3,11; 6,42] $p_{1-2} = 0,220$	9,77 [6,08; 13,45] $p_{1-3} < 0,001$ $p_{2-3} < 0,001$
HbA1c, % (Me [Q1; Q3])	5,18 [4,95; 5,54]	5,56 [5,11; 6,10] $p_{1-2} = 0,113$	6,90 [6,07; 8,05] $p_{1-3} < 0,001$ $p_{2-3} < 0,001$

Таблица 3. Уровни микроРНК-27а и -221 у больных ИБС с сахарным диабетом 2 типа в тертилях по гликозилированному гемоглобину и индексу НОМА-IR

Тертили	микроРНК-27а, о.е. Me [Q1; Q3]	микроРНК-221, о.е. Me [Q1; Q3]
По гликозилированному гемоглобину		
1 тертиль (n = 19)	0,95 [0,61; 1,31]	0,55 [0,40; 0,83]
2 тертиль (n = 19)	0,51 [0,34; 0,93]	0,50 [0,23; 0,94]
3 тертиль (n = 20)	0,38 [0,23; 0,99]	0,53 [0,33; 0,91]
	$p_{1-3} = 0,046$	$p_{1-3} = 0,935$
По индексу НОМА-IR		
1 тертиль (n = 19)	0,61 [0,35; 1,27]	0,70 [0,46; 0,98]
2 тертиль (n = 19)	0,62 [0,24; 1,41]	0,47 [0,36; 0,91]
3 тертиль (n = 20)	0,66 [0,32; 1,17]	0,41 [0,19; 0,85]
	$p_{1-3} = 0,935$	$p_{1-3} = 0,029$

дочка, систолическое и диастолическое артериальное давление у пациентов без диабета и с диабетом не отличались, но были ниже (фракция выброса) и выше (артериальное давление), чем в контрольной группе.

Уровни глюкозы натощак, гликозилированного гемоглобина и индекс НОМА-IR у больных ИБС с сахарным диабетом достоверно выше, чем в контрольной группе и у больных ИБС без диабета (табл. 2). Повышение инсулина у больных ИБС с диабетом по сравнению с больными ИБС без диабета в пограничной зоне статистической значимости ($p = 0,079$). Кроме того, у больных ИБС без диабета уровень глюкозы натощак достоверно превышал показатель контроля.

Уровни циркулирующих микроРНК-27а и 221 у больных ИБС с диабетом (0,69 [0,32; 1,40] о.е. и 0,54 [0,33; 0,91] о.е. соответственно) достоверно ниже, чем в группе контроля ($p = 0,024$ и $p = 0,006$ соответственно) и в группе ИБС без диабета ($p = 0,011$ и $p = 0,001$ соответственно) (рис. 1). У больных ИБС уровни обеих микроРНК (микроРНК-27а – 1,37 [0,63; 2,86] о.е., микроРНК-221 – 1,07 [0,62; 2,70] о.е.) несколько превышали данные контроля (0,90 [0,61; 2,62] о.е. и 1,05 [0,53; 1,77] о.е. соответственно), но разница недостоверна ($p > 0,05$).

Во всех группах уровни микроРНК-27а и -221 положительно коррелировали между собой, но у больных ИБС с диабетом коэффициент ранговой корреляции Спирмена ($R = 0,319$, $p = 0,027$) достоверно меньше, чем в контрольной группе ($R = 0,889$, $p < 0,001$) и у больных ИБС без диабета ($R = 0,772$, $p < 0,001$): $p < 0,001$ и $p = 0,020$ соответственно. Отличие коэффициентов корреляции между контролем и больными ИБС без диабета статистически не значимо ($p = 0,272$).

Корреляционный анализ не показал достоверные ассоциации уровней микроРНК с возрастом, индексом массы тела, фракцией выброса левого желудочка, систолическим и диастолическим артериальным давлением ни в одной из групп. Только у больных ИБС с диабетом установлены значимые взаимосвязи между микроРНК и глюкометаболическими показателями. Уровень микроРНК-27а негативно коррелировал с гликозилированным гемоглобином: коэффициент корреляции Спирмена – $R = -0,339$, $p = 0,030$. На грани статистической значимости отрицательная корреляция микроРНК-27а с уровнем глюкозы натощак: $R = -0,280$, $p = 0,069$. МикроРНК-221 отрицательно коррелировала с индексом НОМА-IR: $R = -0,362$, $p = 0,006$. В пограничной зоне достоверности находилась корреляция микроРНК-221 с инсулином: $R = -0,229$, $p = 0,090$.

Для более детальной оценки взаимосвязи уровней микроРНК с глюкометаболическими показателями больных ИБС с диабетом поделили на тертили в зависимости от уровня гликозилированного гемоглобина и индекса НОМА-IR. Группы по гликозилированному гемоглобину: 1 тертиль – HbA1c < 6,20 % (n = 19); 2 тертиль – HbA1c от 6,20 % до ≤ 7,47 % (n = 19); 3 тертиль – HbA1c > 7,47 % (n = 20). Группы по индексу НОМА-IR: 1 тертиль – НОМА-IR < 6,67 (n = 19); 2 тертиль – НОМА-IR от 6,67 до ≤ 11,98 (n = 19); 3 тертиль – НОМА-IR > 11,98 (n = 20).

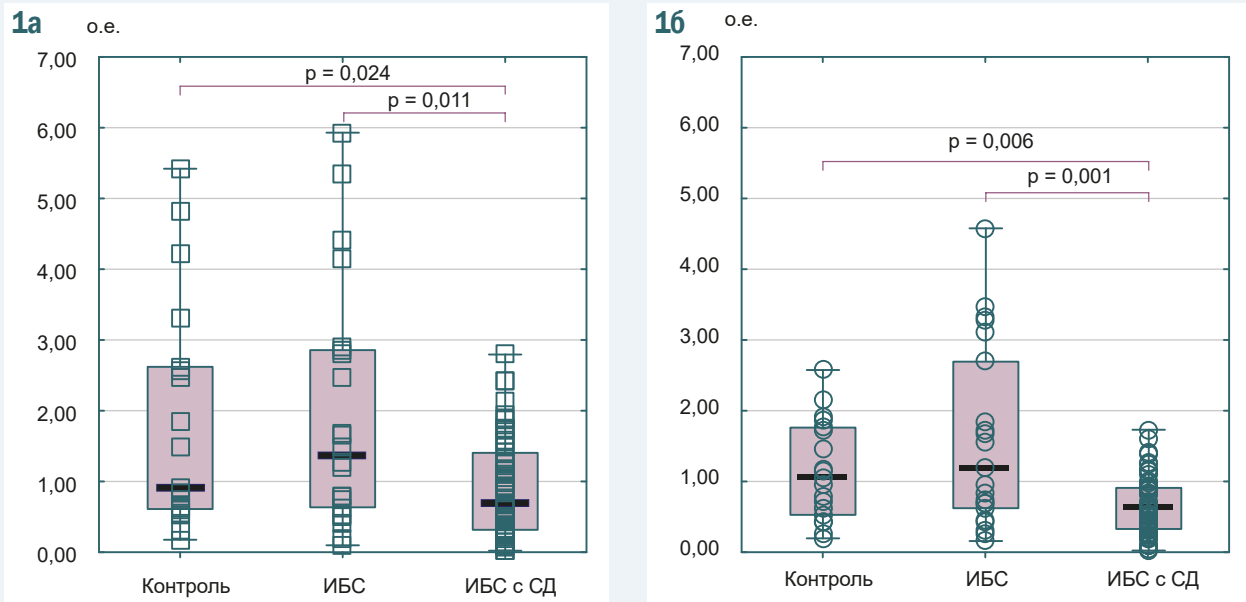


Рис. 1. Уровни циркулирующих микроРНК-27а (а) и -221 (б) у больных ИБС с сахарным диабетом 2 типа и без него.

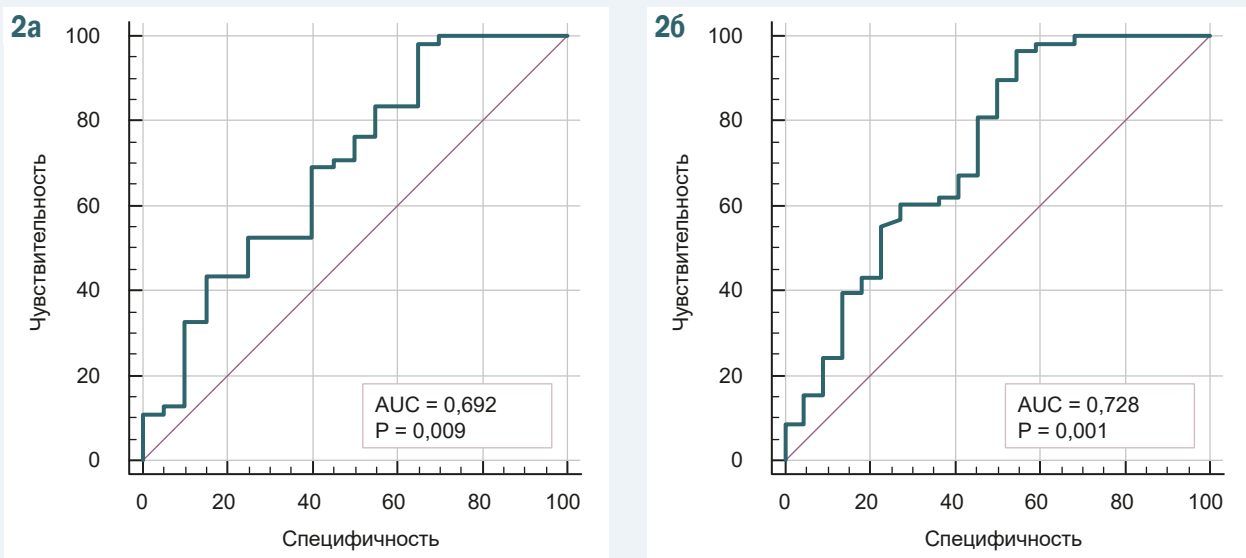


Рис. 2. ROC-кривые уровней циркулирующих микроРНК-27а (а) и -221 (б) у больных ИБС с диабетом по сравнению с ИБС без диабета.

При анализе уровней микроРНК-27а в тертилях по гликозиризованному гемоглобину у больных ИБС с диабетом установлено последовательное снижение микроРНК-27а при нарастании гликемии от 1 к 3 тертилю. В 3 тертилю уровень микроРНК-27а достоверно ниже, чем в 1 (табл. 3). Значение этой микроРНК в 1 тертилю (HbA1c <6,20 %) не отличилось от ее уровней в контрольной группе ($p = 0,431$) и у больных ИБС без диабета ($p = 0,231$), а снижение микроРНК-27а во 2 и 3 тертилю по сравнению с контролем ($p = 0,032$, $p = 0,009$) и больными ИБС ($p = 0,020$, $p = 0,004$) достоверно. Не обнаружили дозозависимое изменение уровней микроРНК-221 при нарастании гликемии. Во всех трех тертилях уровни микроРНК-221 оказались одинаково достоверно сниженными по сравнению с контролем (1 тертиль – $p = 0,032$,

2 тертиль – $p = 0,020$, 3 тертиль – $p = 0,027$) и больными ИБС без диабета (1 тертиль – $p = 0,012$, 2 тертиль – $p = 0,010$, 3 тертиль – $p = 0,015$).

В отличие от гликозиризованного гемоглобина, увеличение тертилей НОМА-IR в группе больных ИБС с диабетом не сопровождалось значимыми изменениями уровней микроРНК-27а (табл. 3). Показатели микроРНК-27а в 1, 2 и 3 тертилях по НОМА-IR одинаково достоверно меньше по сравнению с контролем (1 тертиль – $p = 0,048$, 2 тертиль – $p = 0,045$, 3 тертиль – $p = 0,048$) и больными ИБС без диабета (1 тертиль – $p = 0,020$, 2 тертиль – $p = 0,039$, 3 тертиль – $p = 0,017$). Потертильный анализ микроРНК-221 у больных диабетом в зависимости от значений индекса НОМА-IR показал снижение уровней этой микроРНК по мере нарастания инсулинорезистентности от 1 к 3 терти-

ли, и уровни микроРНК-221 в 3 тертили достоверно меньше, чем в 1 тертили ($p = 0,029$) (табл. 3). Уровни микроРНК-221 у больных ИБС с диабетом в 1 тертили по НОМА-IR от контроля и больных ИБС без диабета отличались недостоверно ($p = 0,161$ и $p = 0,079$ соответственно), а в во 2 ($p = 0,017$ vs контроль, $p = 0,010$ vs ИБС без диабета) и 3 ($p = 0,004$ vs контроль, $p = 0,001$ vs ИБС без диабета) тертилях значимо меньше.

Для оценки специфичности и диагностического потенциала снижения исследуемых микроРНК у больных ИБС с диабетом по сравнению с больными ИБС без диабета проведен ROC-анализ (рис. 2). Снижение обеих микроРНК достоверно ассоциировалось с наличием диабета у больных ИБС. Площадь под кривой (AUC) для микроРНК-221 (AUC = 0,728, доверительный интервал (ДИ): 0,617–0,821, $p = 0,001$) соответствовала критериям хорошего качества модели и была несколько больше, чем для микроРНК-27а (AUC = 0,692, ДИ: 0,575–0,793, $p = 0,009$, среднее качество модели). Однако это различие между AUC оказалось недостоверным ($p = 0,779$).

Обсуждение

У больных стабильной ИБС с сахарным диабетом 2 типа установлено достоверное снижение уровней циркулирующих микроРНК-27а и -221 в плазме крови по сравнению с контролем и с больными ИБС без диабета. Снижение микроРНК-27а ассоциировалось с гипергликемией, а микроРНК-221 – с нарастанием инсулинорезистентности. У больных ИБС без диабета уровни этих микроРНК от контрольных показателей не отличались. По результатам ROC-анализа, циркулирующие микроРНК-27а и -221 значимо дифференцируют больных ИБС с диабетом и больных ИБС без диабета.

Установлены множественные регуляторные эффекты микроРНК-27а и -221. Они контролируют экспрессию транскрипционных факторов и сигнальных белков или непосредственно модулируют продукцию ферментов и эффекторных молекул, влияя на различные компоненты патогенеза и атеросклероза, и диабета.

Результаты экспериментальных исследований свидетельствуют: микроРНК-27а может быть вовлечена во все процессы, ведущие к инициации и прогрессированию атеросклеротических поражений, включая ангиогенез, воспаление, окислительный стресс, эндотелиальную дисфункцию, метаболизм липидов и жирных кислот [11]. Однако есть данные об антиатерогенных эффектах микроРНК-27а, которые опосредуются подавлением экспрессии гена липопротеинлипазы [22]. В экспериментах *in vitro* и *in vivo* показано, что микроРНК-27а предотвращает накопление липидов в макрофагах и секрецию провоспалительных цитокинов, приводит к уменьшению атеросклеротических поражений аорты у апоЕ нокаутированных мышей. Мишенью микроРНК-27а также являются PPAR γ -рецепторы, мощные регуляторы чувствительности тканей к инсулину, и непосредственно гены, регулирующие захват клетками глюкозы, а

экспрессия этой микроРНК способствует развитию инсулинорезистентности в жировой ткани, скелетной мускулатуре при ожирении [13,23]. Показано также, что усиление экспрессии микроРНК-27а в печени уменьшает гипергликемию у диабетических мышей за счет негативной регуляции глюконеогенеза в печени, опосредованной целевым геном транскрипционного фактора FoxO1 [24]. Исходно у этих диабетических мышей установлено значительное снижение экспрессии микроРНК-27а в печени, и ингибирование экспрессии микроРНК приводило к усилению печеночного глюконеогенеза *in vitro* и *in vivo*.

МикроРНК-221 также многофункциональна и, согласно экспериментальным данным, регулирует ангиогенез, гиперплазию неоинтимы, ремоделирование сосудов, их кальциноз, апоптоз гладкомышечных клеток сосудов, атеросклеротическое воспаление, оказывая на разных этапах атерогенеза как проатерогенные, так и атеропротективные клеточно-специфичные эффекты [12]. Так, Ye J. et al. показали, что внутриклеточная микроРНК-221 подавляет индуцированный окисленными липопротеинами низкой плотности воспалительный ответ макрофагов за счет увеличения уровней корепрессора ядерных рецепторов 1 (NCOR1) и угнетения активности промотора ядерного фактора кВ (NF-кВ), и предлагают рассматривать микроРНК-221 в качестве потенциальной антиатеросклеротической мишени [25]. В исследовании Chen C. F. et al. микроРНК-221 угнетала экспрессию рецептора 1 адипонектина (AdipoR1) и устраняла ингибирующее влияние адипонектина на активацию NF-кВ и экспрессию молекул адгезии [26].

Предполагается, что посредством негативного контроля экспрессии AdipoR1 в мышечной ткани и печени, а также подавления таким образом передачи сигналов адипонектина микроРНК-221 может способствовать развитию инсулинорезистентности [12,27]. Опубликованы экспериментальные данные о непосредственном ингибирующем влиянии микроРНК-221 на сигнальные пути инсулина при индуцировании инсулинорезистентности [14]. Супрессорное влияние микроРНК-221 на сиртуин-1 в белой жировой ткани также может приводить к снижению чувствительности к инсулину при ожирении [28].

Таким образом, результаты экспериментальных исследований свидетельствуют о потенциальных как проатерогенных, так и атеропротективных, вероятно, клеточно-специфических свойствах микроРНК-27а и -221. Обе микроРНК потенциально могут способствовать прогрессированию инсулинорезистентности и сахарного диабета 2 типа. В то же время микроРНК-27а способна угнетать глюконеогенез в печени и уменьшать гликемию при экспериментальном диабете.

Мы не обнаружили изменения уровней циркулирующих микроРНК-27а и 221 в плазме крови у больных ИБС без диабета, а в контрольной группе и у нормогликемичных больных ИБС исследуемые микроРНК одинаково позитивно коррелировали между собой. У больных ИБС в сочетании с сахарным диабетом 2 типа уровни обеих микроРНК достоверно снижались по сравнению с контролем и больными ИБС без диабета, а выраженность взаимосвязи между

ними значительно ослаблялась. Только у больных диабетом уровни обеих микроРНК отрицательно коррелировали с глюкометаболическими параметрами. Но эти ассоциации характеризовались некоторой специфичностью: микроРНК-27а негативно взаимосвязана с уровнем гликозилированного гемоглобина и, в меньшей степени, с глюкозой натощак. МикроРНК-221 с гликозилированным гемоглобином не коррелировала, но негативно соотносилась с индексом НОМА-IR и уровнем инсулина. Эти отличия на фоне ослабления связи между самими микроРНК могут свидетельствовать о различии между микроРНК-27а и -221 в механизмах и биологических последствиях установленного снижения их экспрессии у больных ИБС с диабетом. Важными с практической точки зрения представляются результаты ROC-анализа, указывающие на диагностический потенциал циркулирующих микроРНК-27а и -221 как биомаркеров сахарного диабета 2 типа при скрининге глюкометаболических нарушений у пациентов с ИБС.

Циркулирующие микроРНК рассматривают не только как биомаркеры, но и как функционально активные медиаторы, обеспечивающие перенос эпигенетической информации между клетками, тканями, органами и регуляцию целевых РНК в клетках-реципиентах [10]. Полученные нами данные указывают на вовлечение циркулирующих микроРНК-27а и -221 в механизмы прогрессирования глюкометаболических нарушений при ИБС с сахарным диабетом 2 типа. Нельзя исключить, что установленное снижение уровней циркулирующих микроРНК-27а и 221 может влиять и на процессы атерогенеза именно при диабете.

Причины установленной дисрегуляции экспрессии циркулирующих микроРНК-27а и 221 у пациентов с диабетом не ясны. Есть предположения, что уровни микроРНК в циркуляции могут снижаться вследствие уменьшения высвобождения клетками-донорами [29]. Хотя определение клеточного происхождения циркулирующих микроРНК пока невозможно, предполагается, что у больных диабетом 2 типа дисрегуляция циркулирующих микроРНК может быть связана с нарушением их продукции в органах, функция которых изменяется при диабете (в первую очередь, поджелудочной железы, печени, жировой ткани) [18]. Если это так, то уменьшение экспрессии микроРНК-27а в печени, приводящее, согласно экспериментальным данным, к усилению глюконеогенеза и гипергликемии [24], может обуславливать установленное нами у больных ИБС с диабетом снижение уровней этой микроРНК, ассоциированное с гипергликемией. К снижению, равно как и к повышению экспрессии микроРНК при диабете, может приводить гипергликемия и гиперинсулинемия. Так, есть данные об угнетении экспрессии микроРНК-221 в эндотелиальных клетках под влиянием высоких концентраций глюкозы и конечных продуктов избыточного гликозилирования [30]. Гиперинсулинемия приводила к подавлению экспрессии микроРНК-27а в скелетной мускулатуре [31]. Отмеченное снижение уровней исследуемых микроРНК может быть следствием увеличения их захвата клетками-реципиентами, в том числе в атеросклеротических поражениях [15,29]. Косвенно

согласуются с этим предположением данные А. Е. Bildirici et al., которые обнаружили снижение уровня циркулирующей микроРНК-221 в цельной крови больных ИБС и повышение уровня их экспрессии в атеросклеротических бляшках у одних и тех же пациентов [32]. Если рассматривать с этой точки зрения установленные нами негативные ассоциации между глюкометаболическими параметрами и уровнями циркулирующих микроРНК-27а и 221, то можно предполагать, что их негативный характер может быть обусловлен увеличением захвата клетками-реципиентами: больший захват этих микроРНК в скелетной мускулатуре, жировой ткани (что соответствует отмеченному снижению их уровней) способствует усугублению инсулинорезистентности и повышению гликемии. Наконец, нельзя исключить механизмы по типу обратной связи, когда обусловленная этими микроРНК инсулинорезистентность, гиперинсулинемия и гипергликемия при достижении определенного критического уровня начинают подавлять продукцию и/или высвобождение микроРНК-27а и -221.

В клинических исследованиях уровней циркулирующих микроРНК-27а и -221 получены противоречивые результаты, особенно если сопоставлять изменения микроРНК у больных ИБС и у пациентов с сахарным диабетом 2 типа как фактором риска развития и неблагоприятного течения ИБС.

Fichtlscherer S. et al. у пациентов с ангиографически подтвержденной стабильной ИБС отметили снижение уровней циркулирующей микроРНК-27а наряду со снижением еще целого ряда микроРНК, экспрессируемых в сосудистой стенке, в особенности в эндотелии [15]. При исследовании взаимосвязей между циркулирующими микроРНК и атеросклеротическими сердечно-сосудистыми заболеваниями у пациентов с сердечной недостаточностью в сравнении со здоровым контролем E. L. Vegter et al. обнаружили устойчивое снижение уровней микроРНК-27а в плазме крови при увеличении различных манифестаций атеросклероза (ИБС, перенесенный инсульт или транзиторная ишемическая атака, периферический атеросклероз), однако снижение уровней микроРНК-27а у больных с сердечной недостаточностью с ИБС по сравнению с пациентами без ИБС незначимо [29]. По данным А. С. Драгановой и соавт., уровни циркулирующей микроРНК-27а в сыворотке крови у больных стабильной ИБС повышаются по сравнению с пациентами без атеросклеротического поражения коронарных артерий, но с клапанными пороками, и не отличаются от значений у больных с острым коронарным синдромом без элевации сегмента ST [16]. Необходимо отметить, что у пациентов с клапанными пороками, составившими контрольную группу в этом исследовании, могут происходить изменения экспрессии микроРНК, ассоциированные с воспалительными, фиброзно-кальцинирующими процессами в клапане, ремоделированием миокарда, нарушениями гемодинамики и т. д.

Данные о связи изменений уровней циркулирующей микроРНК-27а с глюкометаболическими нарушениями также неоднозначны. В исследованиях D. S. Karolina et al. установлено повышение уровней

мікроРНК-27а в цільній крові пацієнтів з порушенням толерантності к глюкозі та з ізолюваним сахарним діабетом 2 типу, а також позитивна кореляція з рівнем глюкози натощак [17,33]. У пацієнтів з ізолюваними гіперхолестеринемією та артеріальною гіпертензією ця мікроРНК оказалась зниженою [17]. Напротив, de Candia P. et al. обнаружили снижение уровней циркулирующей микроРНК-27а у пацієнтів з глюкометаболическими порушеннями. У пацієнтів з предіабетом рівні цієї мікроРНК в плазмі крові значимо нижче по сравнению с нормогликемичным контролем и пациентами с диабетом 2 типа, а уменьшение микроРНК-27а у больных диабетом относительно контроля достоверно. Авторы установили отрицательные корреляции циркулирующей микроРНК-27а с глюкозой, гликозилированным гемоглобином [18]. Наиболее низкие уровни микроРНК-27а у пацієнтів з предіабетом отметили также Y. O. Nunez Lopez et al. У больных диабетом эта микроРНК в сыворотке оказалась достоверно больше, чем при предиабете, а повышение ее уровней относительно здорового контроля было в пределах пограничной статистической значимости ($0,05 < p < 0,10$). Достоверные корреляции с гликемией и индексом инсулинорезистентности не установлены [34]. В то же время, по данным Т. А. Швангирадзе и соавт., экспрессия микроРНК-27а в крови больных сахарным диабетом 2 типа с ожирением и ИБС достоверно выше, чем у больных диабетом с ожирением без ИБС [19].

В исследованиях, включавших определение микроРНК-221, у больных с документированным коронарным атеросклерозом установлено снижение ее уровней [15,20,32,35]. Но в некоторых работах не отмечены достоверные изменения циркулирующей микроРНК-221 при ИБС [36]. У больных сахарным диабетом 2 типа, по данным H. N. Liu et al., D. S. Karolina et al., M. Y. Li et al., уровни циркулирующей микроРНК-221 были повышены и положительно коррелировали с индексом HOMA-IR и гликозилированным гемоглобином [21,33,37]. Есть данные и об отсутствии изменений уровня микроРНК-221 у пацієнтів з сахарним діабетом 2 типу [38,39].

Приведенные клинические исследования преимущественно свидетельствуют о дисрегуляции исследуемых циркулирующих микроРНК-27а и -221 как при ИБС, так и сахарном диабете 2 типа, указывают на их диагностический потенциал. В отличие от большинства цитированных работ, мы не обнаружили изменения этих микроРНК у больных ИБС без диабета, но впервые исследовали их уровни при сочетании ИБС и сахарного диабета 2 типа, установив их достоверное, специфическое снижение при коморбидной патологии. Гетерогенность результатов клинических исследований циркулирующих микроРНК у больных ИБС и диабетом, включая проведенное, может быть обусловлена рядом факторов. К процедурным, аналитическим аспектам относят разный биоматериал для исследования (цельная кровь, плазма, сыворотка), гемолиз и наличие клеток крови в плазме и сыворотке, различные методы экстракции РНК/микроРНК с возможными их потерями, использование разных методов

количественного определения (секвенирование, полимеразная цепная реакция в режиме реального времени, микрочипы), разный контроль для нормализации и способы расчета. Вариативности микроРНК могут способствовать пол, возраст, наличие факторов риска (гиперхолестеринемия, гипертония, ожирение и др.) и сопутствующих заболеваний. На уровни микроРНК в циркуляции могут оказывать влияние статины, антитромбоцитарные препараты, а назначение гепарина перед забором крови влияет на полимеразную цепную реакцию в ходе количественного определения. Еще один лимитирующий фактор — относительно небольшие когорты обследуемых [40].

Таким образом, в нашем исследовании установлено снижение уровней циркулирующих микроРНК-27а и -221 в плазме крови больных ИБС с сахарным диабетом 2 типа, отмечена их взаимосвязь с гипергликемией и инсулинорезистентностью. Полученные данные позволяют рассматривать циркулирующие микроРНК-27а и -221 как функционально активные биомаркеры/медиаторы, которые могут обеспечивать межклеточную, межтканевую, межорганную коммуникацию при прогрессировании глюкометаболических нарушений у больных ИБС. Учитывая экспериментально подтвержденные клеточноспецифичные атеропротективные и проатерогенные эффекты этих микроРНК, полученные данные дают основание предполагать специфичное участие циркулирующих микроРНК-27а и -221 в регуляции процессов, ассоциированных с атерогенезом при диабете.

Выводы

1. У больных стабильной ИБС с сахарным диабетом 2 типа установлено достоверное снижение уровней циркулирующих микроРНК-27а и -221 в плазме крови по сравнению и с контролем, и с больными ИБС без диабета. У больных ИБС без диабета уровни этих микроРНК не изменились.

2. У больных ИБС без диабета уровни циркулирующих микроРНК-27а и -221 позитивно коррелировали между собой в такой же степени как и в контрольной группе, у больных ИБС с диабетом сила взаимосвязи значительно ослаблялась, что может указывать на разные механизмы снижения экспрессии циркулирующих микроРНК-27а и -221 у больных ИБС с диабетом.

3. Только у пацієнтів з діабетом отмечены негативные ассоциации микроРНК-27а и -221 с глюкометаболическими параметрами. Эти взаимозависимости характеризовались специфичностью: снижение уровней микроРНК-27а ассоциировалось с повышением гликемии, а уменьшение микроРНК-221 — с нарастанием инсулинорезистентности.

4. По результатам ROC-анализа, циркулирующие микроРНК-27а и -221 способны дифференцировать больных ИБС с сахарным диабетом 2 типа и больных ИБС без диабета и могут быть использованы в качестве дополнительных биомаркеров при диагностическом и прогностическом скрининге диабета у больных ИБС. Для подтверждения диагностического потенциала микроРНК необходимы крупные когортные исследования.

Перспективы дальнейших исследований.

Результаты служат обоснованием для дальнейшего изучения причин и механизмов дисрегуляции циркулирующих микроРНК-27а и -221, патофизиологической значимости изменений экспрессии этих циркулирующих микроРНК и их применимости как терапевтических мишеней при сахарном диабете 2 типа и ИБС. Крупные клинические исследования необходимы для валидации диагностического и прогностического значения циркулирующих микроРНК как биомаркеров и предикторов прогрессирования сахарного диабета 2 типа у больных ИБС.

Финансирование

Исследование является фрагментом НИР ГУ «Национальный институт терапии имени Л. Т. Малой НАМН Украины» «Изучить роль циркулирующих микрорибонуклеиновых кислот в контроле метаболических и иммуновоспалительных факторов атерогенеза при сочетании ишемической болезни сердца с сахарным диабетом 2 типа», № госрегистрации 0117U003027.

Конфликт интересов: отсутствует.

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

Надійшла до редакції / Received: 14.05.2020

Після доопрацювання / Revised: 16.07.2020

Прийнято до друку / Accepted: 07.09.2020

Сведения об авторах:

Серик С. А., д-р мед. наук, старший научный сотрудник, зав. отделом ишемической болезни сердца и метаболических нарушений, ГУ «Национальный институт терапии имени Л. Т. Малой НАМН Украины», г. Харьков.
ORCID ID: [0000-0001-6257-3566](https://orcid.org/0000-0001-6257-3566)

Сердобинская-Канівець Э. Н., канд. мед. наук, научный сотрудник отдела ишемической болезни сердца и метаболических нарушений, ГУ «Национальный институт терапии имени Л. Т. Малой НАМН Украины», г. Харьков.
ORCID ID: [0000-0002-3888-8215](https://orcid.org/0000-0002-3888-8215)

Бондарь Т. Н., канд. биол. наук, старший научный сотрудник иммуно-биохимических и молекулярно-генетических исследований, ГУ «Национальный институт терапии имени Л. Т. Малой НАМН Украины», г. Харьков.
ORCID ID: [0000-0002-2501-317X](https://orcid.org/0000-0002-2501-317X)

Відомості про авторів:

Серик С. А., д-р мед. наук, старший науковий співробітник, зав. відділу ішемічної хвороби серця і метаболічних порушень, ДУ «Національний інститут терапії імені Л. Т. Малої НАМН України», м. Харків.

Сердобінська-Канівець Е. М., канд. мед. наук, науковий співробітник відділу ішемічної хвороби серця і метаболічних порушень, ДУ «Національний інститут терапії імені Л. Т. Малої НАМН України», м. Харків.

Бондар Т. М., канд. біол. наук, старший науковий співробітник лабораторії імуно-біохімічних і молекулярно-генетичних досліджень, ДУ «Національний інститут терапії імені Л. Т. Малої НАМН України», м. Харків.

Information about authors:

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

- [1] Prevalence of cardiovascular disease in type 2 diabetes: a systematic literature review of scientific evidence from across the world in 2007-2017 / T. R. Einarson, A. Acs, C. Ludwig, U. H. Panton. *Cardiovascular diabetology*. 2018. Vol. 17, Iss. 1. P. 83. <https://doi.org/10.1186/s12933-018-0728-6>
- [2] Diabetes mellitus, fasting blood glucose concentration, and risk of vascular disease: a collaborative meta-analysis of 102 prospective studies / N. Sarwar, P. Gao, S. R. Seshasai et al. *Lancet*. 2010. Vol. 375, Iss. 9733. P. 2215-2222. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(10\)60484-9](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(10)60484-9)
- [3] Naito R., Miyauchi K. Coronary Artery Disease and Type 2 Diabetes Mellitus. *International heart journal*. 2017. Vol. 58, Iss. 4. P. 475-480. <https://doi.org/10.1536/ihj.17-191>
- [4] Santulli G. Editorial: Cardiovascular Disease and Diabetes. *Frontiers in endocrinology*. 2019. Vol. 10. P. 314. <https://doi.org/10.3389/fendo.2019.00314>
- [5] Type 2 Diabetes Mellitus and Cardiovascular Disease: Genetic and Epigenetic Links / S. De Rosa, B. Arcidiacono, E. Chieffari et al. *Frontiers in endocrinology*. 2018. Vol. 9. P. 2. <https://doi.org/10.3389/fendo.2018.00002>
- [6] Das A., Samidurai A., Salloum F. N. Deciphering Non-coding RNAs in Cardiovascular Health and Disease. *Frontiers in cardiovascular medicine*. 2018. Vol. 5. P. 73. <https://doi.org/10.3389/fcvm.2018.00073>
- [7] Çakmak H. A., Demir M. MicroRNA and Cardiovascular Diseases. *Balkan medical journal*. 2020. Vol. 37, Iss. 2. P. 60-71. <https://doi.org/10.4274/balkanmedj.galenos.2020.2020.1.94>
- [8] Most mammalian mRNAs are conserved targets of microRNAs / R. C. Friedman, K. K. Farh, C. B. Burge, D. P. Bartel. *Genome research*. 2009. Vol. 19, Iss. 1. P. 92-105. <https://doi.org/10.1101/gr.082701.108>
- [9] Kozomara A., Birgaoanu M., Griffiths-Jones S. miRBase: from microRNA sequences to function. *Nucleic acids research*. 2019. Vol. 47, Iss. D1. P. D155-D162. <https://doi.org/10.1093/nar/gky1141>
- [10] Overview of MicroRNA Biogenesis, Mechanisms of Actions, and Circulation / J. O'Brien, H. Hayder, Y. Zayed, C. Peng. *Frontiers in endocrinology*. 2018. Vol. 9. P. 402. <https://doi.org/10.3389/fendo.2018.00402>
- [11] The magic and mystery of microRNA-27 in atherosclerosis / W. J. Chen, K. Yin, G. J. Zhao et al. *Atherosclerosis*. 2012. Vol. 222, Iss. 2. P. 314-323. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2012.01.020>
- [12] Human miR-221/222 in Physiological and Atherosclerotic Vascular Remodeling / D. A. Chistiakov, I. A. Sobenin, A. N. Orekhov, Y. V. Bobryshev. *BioMed research international*. 2015. Vol. 2015. P. 354517. <https://doi.org/10.1155/2015/354517>
- [13] MiR-27a promotes insulin resistance and mediates glucose metabolism by targeting PPAR-γ-mediated PI3K/AKT signaling / T. Chen, Y. Zhang, Y. Liu et al. *Aging*. 2019. Vol. 11, Iss. 18. P. 7510-7524. <https://doi.org/10.18632/aging.102263>
- [14] Palmitic Acid Induces MicroRNA-221 Expression to Decrease Glucose Uptake in HepG2 Cells via the PI3K/AKT/GLUT4 Pathway / F. Huang, J. Chen, J. Wang et al. *BioMed research international*. 2019. Vol. 2019. P. 8171989. <https://doi.org/10.1155/2019/8171989>
- [15] Circulating microRNAs in patients with coronary artery disease / S. Fichtlscherer, S. De Rosa, H. Fox et al. *Circulation research*. 2010. Vol. 107, Iss. 5. P. 677-684. <https://doi.org/10.1161/circresaha.109.215566>
- [16] Экспрессия микроРНК-27а в сыворотке крови у пациентов с острым коронарным синдромом без подъема сегмента ST, перенесших чрескожное коронарное вмешательство / А. С. Драганова, Е. А. Полякова, Д. А. Колодина и др. *Российский кардиологический журнал*. 2019. Т. 24, № 2. С. 70-75. <https://doi.org/10.15829/1560-4071-2019-2-70-75>
- [17] Circulating miRNA profiles in patients with metabolic syndrome / D. S. Karolina, S. Tavintharan, A. Armugam et al. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2012. Vol. 97, Iss. 12. P. E2271-E2276. <https://doi.org/10.1210/jc.2012-1996>
- [18] A unique plasma microRNA profile defines type 2 diabetes progression / P. de Candia, G. Spinetti, C. Specchia et al. *PLoS One*. 2017. Vol. 12, Iss. 12. P. e0188980. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0188980>
- [19] Профіль мікроРНК, асоційованих з ІБС, у пацієнтів з сахарним діабетом 2 типу / Т. А. Швангирадзе, І. З. Бондаренко, Е. А. Трошина і др. *Ожирение и метаболизм*. 2016. Т. 13, № 4. С. 34-38.
- [20] Circulating microRNAs as Novel Biomarkers for Atherosclerosis / S. Yilmaz, S. Isbir, A. Kunt, T. Isbir. *In Vivo*. 2018. Vol. 32, Iss. 3. P. 561-565. <https://doi.org/10.21873/invivo.11276>
- [21] Serum microRNA-221 as a biomarker for diabetic retinopathy in patients associated with type 2 diabetes / H. N. Liu, X. Li, N. Wu et al. *International journal of ophthalmology*. 2018. Vol. 11, Iss. 12. P. 1889-1894. <https://doi.org/10.18240/ijo.2018.12.02>

- [22] MicroRNA-27 Prevents Atherosclerosis by Suppressing Lipoprotein Lipase-Induced Lipid Accumulation and Inflammatory Response in Apolipoprotein E Knockout Mice / W. Xie, L. Li, M. Zhang et al. *PLoS One*. 2016. Vol. 11, Iss. 6. P. e0157085. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0157085>
- [23] Adipocyte-Derived Exosomal MIR-27a Induces Insulin Resistance in Skeletal Muscle Through Repression of PPAR γ / Y. Yu, H. Du, S. Wei et al. *Theranostics*. 2018. Vol. 8, Iss. 8. P. 2171-2188. <https://doi.org/10.7150/thno.22565>
- [24] Micro-RNA-27a/b negatively regulates hepatic gluconeogenesis by targeting FOXO1 / S. Wang, H. Ai, L. Liu et al. *American journal of physiology. Endocrinology and metabolism*. 2019. Vol. 317, Iss. 5. P. E911-E924. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00190.2019>
- [25] miR-221 Alleviates the Ox-LDL-Induced Macrophage Inflammatory Response via the Inhibition of DNMT3b-Mediated NCoR Promoter Methylation / J. Ye, Y. Wu, R. Guo et al. *Mediators of inflammation*. 2019. Vol. 2019. P. 4530534. <https://doi.org/10.1155/2019/4530534>
- [26] MicroRNA-221 regulates endothelial nitric oxide production and inflammatory response by targeting adiponectin receptor 1 / C. F. Chen, J. Huang, H. Li et al. *Gene*. 2015. Vol. 565, Iss. 2. P. 246-251. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2015.04.014>
- [27] Deuilis J. A. MicroRNAs as regulators of metabolic disease: pathophysiological significance and emerging role as biomarkers and therapeutics. *International journal of obesity*. 2016. Vol. 40, Iss. 1. P. 88-101. <https://doi.org/10.1038/ijo.2015.170>
- [28] miR-221 negatively regulates inflammation and insulin sensitivity in white adipose tissue by repression of sirtuin-1 (SIRT1) / J. Peng, Y. Zhou, Z. Deng et al. *Journal of cellular biochemistry*. 2018. Vol. 119, Iss. 8. P. 6418-6428. <https://doi.org/10.1002/jcb.26589>
- [29] Low circulating microRNA levels in heart failure patients are associated with atherosclerotic disease and cardiovascular-related rehospitalizations / E. L. Vegter, E. S. Ovchinnikova, D. J. van Veldhuisen et al. *Clinical research in cardiology*. 2017. Vol. 106, Iss. 8. P. 598-609. <https://doi.org/10.1007/s00392-017-1096-z>
- [30] MIR221/MIR222-driven post-transcriptional regulation of P27KIP1 and P57KIP2 is crucial for high-glucose- and AGE-mediated vascular cell damage / G. Togliatto, A. Trombetta, P. Dentelli et al. *Diabetologia*. 2011. Vol. 54, Iss. 7. P. 1930. <https://doi.org/10.1007/s00125-011-2125-5>
- [31] The microRNA signature in response to insulin reveals its implication in the transcriptional action of insulin in human skeletal muscle and the role of a sterol regulatory element-binding protein-1c/myocyte enhancer factor 2C pathway / A. Granjon, M. P. Gustin, J. Rieusset et al. *Diabetes*. 2009. Vol. 58, Iss. 11. P. 2555-2564. <https://doi.org/10.2337/db09-0165>
- [32] MicroRNA-221/222 expression in atherosclerotic coronary artery plaque versus internal mammary artery and in peripheral blood samples / A. E. Bıldirici, S. Arslan, N. Özbilüm Şahin et al. *Biomarkers*. 2018. Vol. 23, Iss. 7. P. 670-675. <https://doi.org/10.1080/1354750X.2018.1474260>
- [33] MicroRNA 144 impairs insulin signaling by inhibiting the expression of insulin receptor substrate 1 in type 2 diabetes mellitus / D. S. Karolina, A. Armugam, S. Tavintharan et al. *PLoS One*. 2011. Vol. 6, Iss. 8. P. e22839. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0022839>
- [34] Nunez Lopez Y. O., Garufi G., Seyhan A. A. Altered levels of circulating cytokines and microRNAs in lean and obese individuals with prediabetes and type 2 diabetes. *Molecular bioSystems*. 2016. Vol. 13, Iss. 1. P. 106-121. <https://doi.org/10.1039/c6mb000596a>
- [35] Predictive Effects of Circulating miR-221, miR-130a and miR-155 for Coronary Heart Disease: A Multi-Ethnic Study in China / Q. W. Jia, Z. H. Chen, X. Q. Ding et al. *Cellular physiology and biochemistry*. 2017. Vol. 42, Iss. 2. P. 808-823. <https://doi.org/10.1159/000478071>
- [36] Interaction between microRNA expression and classical risk factors in the risk of coronary heart disease / X. Q. Ding, P. C. Ge, Z. Liu et al. *Scientific reports*. 2015. Vol. 5. P. 14925. <https://doi.org/10.1038/srep14925>
- [37] Li M. Y., Pan S. R., Qiu A. Y. Roles of microRNA-221/222 in type 2 diabetic patients with post-menopausal breast cancer. *Genetics and molecular research*. 2016. Vol. 15, Iss. 2. <https://doi.org/10.4238/gmr.15027259>
- [38] Whole blood microRNA levels associate with glycemic status and correlate with target mRNAs in pathways important to type 2 diabetes / N. Mononen, L. P. Lyytikäinen, I. Seppälä et al. *Scientific reports*. 2019. Vol. 9, Iss. 1. P. 8887. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-43793-4>
- [39] Circulating ectosomes: Determination of angiogenic microRNAs in type 2 diabetes / E. L. Stępień, M. Durak-Kozica, A. Kamińska et al. *Theranostics*. 2018. Vol. 8, Iss. 14. P. 3874-3890. <https://doi.org/10.7150/thno.23334>
- [40] Viereck J., Thum T. Circulating Noncoding RNAs as Biomarkers of Cardiovascular Disease and Injury. *Circulation research*. 2017. Vol. 120, Iss. 2. P. 381-399. <https://doi.org/10.1161/circresaha.116.308434>
- literature review of scientific evidence from across the world in 2007-2017. *Cardiovascular diabetology*, 17(1), 83. <https://doi.org/10.1186/s12933-018-0728-6>
- [2] Emerging Risk Factors Collaboration, Sarwar, N., Gao, P., Seshasai, S. R., Gobin, R., Kaptoge, S., Di Angelantonio, E., Ingelsson, E., Lawlor, D. A., Selvin, E., Stampfer, M., Stehouwer, C. D., Lewington, S., Pennells, L., Thompson, A., Sattar, N., White, I. R., Ray, K. K., & Danesh, J. (2010). Diabetes mellitus, fasting blood glucose concentration, and risk of vascular disease: a collaborative meta-analysis of 102 prospective studies. *Lancet*, 375(9733), 2215-2222. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(10\)60484-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(10)60484-9)
- [3] Naito, R., & Miyauchi, K. (2017). Coronary Artery Disease and Type 2 Diabetes Mellitus. *International Heart Journal*, 58(4), 475-480. <https://doi.org/10.1536/ihj.17-191>
- [4] Santulli G. (2019). Editorial: Cardiovascular Disease and Diabetes. *Frontiers in endocrinology*, 10, 314. <https://doi.org/10.3389/fendo.2019.00314>
- [5] De Rosa, S., Arcidiacono, B., Chiefari, E., Brunetti, A., Indolfi, C., & Foti, D. P. (2018). Type 2 Diabetes Mellitus and Cardiovascular Disease: Genetic and Epigenetic Links. *Frontiers in endocrinology*, 9, 2. <https://doi.org/10.3389/fendo.2018.00002>
- [6] Das, A., Samidurai, A., & Salloum, F. N. (2018). Deciphering Non-coding RNAs in Cardiovascular Health and Disease. *Frontiers in cardiovascular medicine*, 5, 73. <https://doi.org/10.3389/fcvm.2018.00073>
- [7] Çakmak, H. A., & Demir, M. (2020). MicroRNA and Cardiovascular Diseases. *Balkan medical journal*, 37(2), 60-71. <https://doi.org/10.4274/balkanmedj.galenos.2020.2020.1.94>
- [8] Friedman, R. C., Farh, K. K., Burge, C. B., & Bartel, D. P. (2009). Most mammalian mRNAs are conserved targets of microRNAs. *Genome research*, 19(1), 92-105. <https://doi.org/10.1101/gr.082701.108>
- [9] Kozomara, A., Birgaonu, M., & Griffiths-Jones, S. (2019). miRBase: from microRNA sequences to function. *Nucleic acids research*, 47(D1), D155-D162. <https://doi.org/10.1093/nar/gky1141>
- [10] O'Brien, J., Hayder, H., Zayed, Y., & Peng, C. (2018). Overview of MicroRNA Biogenesis, Mechanisms of Actions, and Circulation. *Frontiers in endocrinology*, 9, 402. <https://doi.org/10.3389/fendo.2018.00402>
- [11] Chen, W. J., Yin, K., Zhao, G. J., Fu, Y. C., & Tang, C. K. (2012). The magic and mystery of microRNA-27 in atherosclerosis. *Atherosclerosis*, 222(2), 314-323. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2012.01.020>
- [12] Chistiakov, D. A., Sobenin, I. A., Orekhov, A. N., & Bobryshev, Y. V. (2015). Human miR-221/222 in Physiological and Atherosclerotic Vascular Remodeling. *BioMed research international*, 2015, 1-18. <https://doi.org/10.1155/2015/354517>
- [13] Chen, T., Zhang, Y., Liu, Y., Zhu, D., Yu, J., Li, G., Sun, Z., Wang, W., Jiang, H., & Hong, Z. (2019). MiR-27a promotes insulin resistance and mediates glucose metabolism by targeting PPAR- γ -mediated PI3K/AKT signaling. *Aging*, 11(18), 7510-7524. <https://doi.org/10.18632/aging.102263>
- [14] Huang, F., Chen, J., Wang, J., Zhu, P., & Lin, W. (2019). Palmitic Acid Induces MicroRNA-221 Expression to Decrease Glucose Uptake in HepG2 Cells via the PI3K/AKT/GLUT4 Pathway. *BioMed research international*, 2019, 8171989. <https://doi.org/10.1155/2019/8171989>
- [15] Fichtlscherer, S., De Rosa, S., Fox, H., Schwietz, T., Fischer, A., Liebetrau, C., Weber, M., Hamm, C. W., Röhre, T., Müller-Ardogan, M., Bonauer, A., Zeiher, A. M., & Dimmeler, S. (2010). Circulating microRNAs in patients with coronary artery disease. *Circulation research*, 107(5), 677-684. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.109.215566>
- [16] Draganova, A. S., Polyakova, E. A., Kolodina, D. A., Mikheeva, K. Yu., Belyaeva, O. D., Zaraysky, M. I., Berkovich, O. A., & Shlyakhto, E. V. (2019). Expression of miRNA-27a in the serum of patients with non-ST elevation acute coronary syndrome who underwent percutaneous coronary intervention. *Russian Journal of Cardiology*, (2), 70-75. <https://doi.org/10.15829/1560-4071-2019-2-70-75>
- [17] Karolina, D. S., Tavintharan, S., Armugam, A., Sepramaniam, S., Pek, S. L., Wong, M. T., Lim, S. C., Sum, C. F., & Jeyaseelan, K. (2012). Circulating miRNA profiles in patients with metabolic syndrome. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 97(12), E2271-E2276. <https://doi.org/10.1210/jc.2012-1996>
- [18] de Candia, P., Spinetti, G., Specchia, C., Sangalli, E., La Sala, L., Uccellatore, A., Lupini, S., Genovese, S., Matarese, G., & Ceriello, A. (2017). A unique plasma microRNA profile defines type 2 diabetes progression. *PLoS one*, 12(12), e0188980. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0188980>
- [19] Shvangiradze, T., Bondarenko, I., Troshina, E., Shestakova, M., Ilyin, A., Nikankina, L., Karpukhin, A., Muzaffarova, T., Kipkeeva, F., Grishina, K., & Kuzevanova, A. (2016). Профіль мікроРНК, асоційований з ІБС, у пацієнтів з сахарним діабетом 2 типу [Profile of microRNAs associated with coronary heart disease in patients with type 2 diabetes]. *Obesity and Metabolism*, 13(4), 34-38. [in Russian].
- [20] Yilmaz, S., Isbir, S., Kunt, A., & Isbir, T. Circulating microRNAs as Novel Biomarkers for Atherosclerosis. (2018). *In Vivo*, 32(3), 561-565. <https://doi.org/10.21873/invivo.11276>

References

- [21] Liu, H. N., Li, X., Wu, N., Tong, M. M., Chen, S., Zhu, S. S., Qian, W., & Chen, X. L. (2018). Serum microRNA-221 as a biomarker for diabetic retinopathy in patients associated with type 2 diabetes. *International journal of ophthalmology*, 11(12), 1889-1894. <https://doi.org/10.18240/ijo.2018.12.02>
- [22] Xie, W., Li, L., Zhang, M., Cheng, H., Gong, D., Lv, Y., ... Tang, C. K. (2016). MicroRNA-27 Prevents Atherosclerosis by Suppressing Lipoprotein Lipase-Induced Lipid Accumulation and Inflammatory Response in Apolipoprotein E Knockout Mice. *PLoS one*, 11(6), e0157085. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0157085>
- [23] Yu Y., Du H., Wei S., Feng L., Li J., Yao F., Zhang M., Hatch G. M., & Chen L. (2018). Adipocyte-Derived Exosomal MiR-27a Induces Insulin Resistance in Skeletal Muscle Through Repression of PPARγ. *Theranostics*, 8(8), 2171-2188. <https://doi.org/10.7150/thno.22565>
- [24] Wang, S., Ai, H., Liu, L., Zhang, X., Gao, F., Zheng, L., Yi, J., Sun, L., Yu, C., Zhao, H., & Li, Y. (2019). Micro-RNA-27a/b negatively regulates hepatic gluconeogenesis by targeting FOXO1. *American journal of physiology. Endocrinology and metabolism*, 317(5), E911-E924. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00190.2019>
- [25] Ye, J., Wu, Y., Guo, R., Zeng, W., Duan, Y., Yang, Z., & Yang, L. (2019). miR-221 Alleviates the Ox-LDL-Induced Macrophage Inflammatory Response via the Inhibition of DNMT3b-Mediated NCoR Promoter Methylation. *Mediators of inflammation*, 2019, 4530534. <https://doi.org/10.1155/2019/4530534>
- [26] Chen, C. F., Huang, J., Li, H., Zhang, C., Huang, X., Tong, G., & Xu, Y. Z. (2015). MicroRNA-221 regulates endothelial nitric oxide production and inflammatory response by targeting adiponectin receptor 1. *Gene*, 565(2), 246-251. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2015.04.014>
- [27] Deuillis J. A. (2016). MicroRNAs as regulators of metabolic disease: pathophysiologic significance and emerging role as biomarkers and therapeutics. *International journal of obesity*, 40(1), 88-101. <https://doi.org/10.1038/ijo.2015.170>
- [28] Peng, J., Zhou, Y., Deng, Z., Zhang, H., Wu, Y., Song, T., Yang, Y., Wei, H., & Peng, J. (2018). miR-221 negatively regulates inflammation and insulin sensitivity in white adipose tissue by repression of sirtuin-1 (SIRT1). *Journal of cellular biochemistry*, 119(8), 6418-6428. <https://doi.org/10.1002/jcb.26589>
- [29] Vegter, E. L., Ovchinnikova, E. S., van Veldhuisen, D. J., Jaarsma, T., Berezikov, E., van der Meer, P., & Voors, A. A. (2017). Low circulating microRNA levels in heart failure patients are associated with atherosclerotic disease and cardiovascular-related rehospitalizations. *Clinical research in cardiology : official journal of the German Cardiac Society*, 106(8), 598-609. <https://doi.org/10.1007/s00392-017-1096-z>
- [30] Togliatto, G., Trombetta, A., Dentelli, P., Rosso, A., & Brizzi, M. F. (2011). MIR221/MIR222-driven post-transcriptional regulation of P27KIP1 and P57KIP2 is crucial for high-glucose- and AGE-mediated vascular cell damage. *Diabetologia*, 54(7), 1930. <https://doi.org/10.1007/s00125-011-2125-5>
- [31] Granjon, A., Gustin, M. P., Rieusset, J., Lefai, E., Meugnier, E., Gülller, I., Cerutti, C., Paultre, C., Disse, E., Rabasa-Lhoret, R., Laville, M., Vidal, H., & Rome, S. (2009). The microRNA signature in response to insulin reveals its implication in the transcriptional action of insulin in human skeletal muscle and the role of a sterol regulatory element-binding protein-1c/myocyte enhancer factor 2C pathway. *Diabetes*, 58(11), 2555-2564. <https://doi.org/10.2337/db09-0165>
- [32] Bildirici, A. E., Arslan, S., Özbilüm Şahin, N., Berkan, Ö., Beton, O., & Yilmaz, M. B. (2018). MicroRNA-221/222 expression in atherosclerotic coronary artery plaque versus internal mammary artery and in peripheral blood samples. *Biomarkers*, 23(7), 670-675. <https://doi.org/10.1080/1354750X.2018.1474260>
- [33] Karolina, D. S., Armugam, A., Tavintharan, S., Wong, M. T., Lim, S. C., Sum, C. F., & Jeyaseelan, K. (2011). MicroRNA 144 impairs insulin signaling by inhibiting the expression of insulin receptor substrate 1 in type 2 diabetes mellitus. *PLoS one*, 6(8), e22839. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0022839>
- [34] Nunez Lopez, Y. O., Garufi, G., & Seyhan, A. A. (2016). Altered levels of circulating cytokines and microRNAs in lean and obese individuals with prediabetes and type 2 diabetes. *Molecular bioSystems*, 13(1), 106-121. <https://doi.org/10.1039/c6mb00596a>
- [35] Jia, Q. W., Chen, Z. H., Ding, X. Q., Liu, J. Y., Ge, P. C., An, F. H., Li, L. H., Wang, L. S., Ma, W. Z., Yang, Z. J., & Jia, E. Z. (2017). Predictive Effects of Circulating miR-221, miR-130a and miR-155 for Coronary Heart Disease: A Multi-Ethnic Study in China. *Cellular physiology and biochemistry*, 42(2), 808-823. <https://doi.org/10.1159/000478071>
- [36] Ding, X. Q., Ge, P. C., Liu, Z., Jia, H., Chen, X., An, F. H., ... Jia, E. Z. (2015). Interaction between microRNA expression and classical risk factors in the risk of coronary heart disease. *Scientific reports*, 5, 14925. <https://doi.org/10.1038/srep14925>
- [37] Li, M. Y., Pan, S. R., & Qiu, A. Y. (2016). Roles of microRNA-221/222 in type 2 diabetic patients with post-menopausal breast cancer. *Genetics and molecular research: GMR*, 15(2), 10.4238/gmr.15027259. <https://doi.org/10.4238/gmr.15027259>
- [38] Mononen, N., Lyytikäinen, L., Seppälä, I., Mishra, P., Juonala, M., Waldenberger, M., ... Raitoharju, E. (2019). Whole blood microRNA levels associate with glycemic status and correlate with target mRNAs in pathways important to type 2 diabetes. *Scientific Reports*, 9(1), 8887. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-43793-4>
- [39] Stepien, E., Durak-Kozica, M., Kamińska, A., Targosz-Korecka, M., Libera, M., Tylko, G., ... Enguita, F. J. (2018). Circulating ectosomes: Determination of angiogenic microRNAs in type 2 diabetes. *Theranostics*, 8(14), 3874-3890. <https://doi.org/10.7150/thno.23334>
- [40] Viereck, J., & Thum, T. (2017). Circulating Noncoding RNAs as Biomarkers of Cardiovascular Disease and Injury. *Circulation research*, 120(2), 381-399. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.116.308434>