



Оригинальная статья

# Уровень экспрессии микроРНК у кардиохирургических пациентов зависит от наличия полиорганной недостаточности в послеоперационном периоде

Григорьев Е.В.<sup>1</sup> • Понасенко А.В.<sup>1</sup> • Цепочкина А.В.<sup>1</sup> • Ивкин А.А.<sup>1</sup> • Корнелюк Р.А.<sup>1</sup>

**Цель** – оценить уровень экспрессии микроРНК в сыворотке пациентов, перенесших кардиохирургическое вмешательство, в зависимости от осложнений послеоперационного периода (наличия или отсутствия полиорганной недостаточности – ПОН).

**Материал и методы.** В группу исследования вошли 87 пациентов, оперированных на сердце в условиях искусственного кровообращения. Первую группу составили пациенты, не имевшие осложнений (n=51), 2-ю – пациенты с развитием ПОН (n=36). У всех пациентов проводился сбор крови в двух временных точках: до операции и спустя 36–48 часов после операции. Для исследования отобраны следующие микроРНК: hsa-miR-486-5p (478128\_miR), hsa-miR-191-5p (477952\_miR), hsa-miR-192-5p (478262\_miR), hsa-miR-146a-5p (478399\_miR), hsa-miR-26a-5p (477995\_miR), hsa-miR-30d-5p (478606\_miR), hsa-miR-23a-3p (478532\_miR), hsa-miR-320a-5p (481049\_miR). Нормализацию результатов полимеразной цепной реакции выполняли при помощи hsa-miR-16-5p (4427975).

**Результаты.** *Up-регулирующие микроРНК.* В обеих группах отмечено статистически значимое увеличение экспрессии микроРНК miR-486-5p в послеоперационном периоде по сравнению с исходными показателями: медиана [верхний; нижний квартили] для 1-й группы была до операции 41,83 [19,86; 74,6] и после операции 940 [434,7; 1212,0]; для 2-й группы – 72,55 [21,37; 100,2] и 492,4 [201,2; 998,0] соответственно;  $p < 0,001$  для обоих сравнений. Повышение экспрессии miR-192-5p в послеоперационном периоде наблюдали как в группе без ПОН (0,39 [0,16; 1,07] до операции против 5,96 [3,74; 10,35] после операции,  $p=0,002$ ), так и в группе с ПОН (1,74

[0,45; 3,35] против 17,16 [4,70; 24,96],  $p=0,003$ ) со статистически значимым более высоким уровнем экспрессии в послеоперационном периоде у пациентов 2-й группы ( $p=0,028$ ). Аналогичную динамику показали уровни экспрессии miR-30d-5p: в 1-й группе – 1,61 [0,47; 4,36] до операции против 5,03 [2,93; 6,56] после операции,  $p=0,002$ ; во 2-й группе – 0,89 [0,32; 4,27] и 6,63 [3,92; 12,82] соответственно,  $p=0,0045$ .

*Down-регулирующие микроРНК.* Для семейств miR-191-5p и miR-146a-5p наблюдали статистически значимое увеличение экспрессии после операции в 1-й группе (3,85 [1,64; 5,6] против 7,7 [5,48; 9,68],  $p=0,021$ , и 18,1 [6,52; 19,9] против 37,27 [29,13; 47,07],  $p=0,016$  соответственно) и статистически значимое снижение уровня экспрессии после операции во 2-й группе (3,67 [2,60; 7,61] против 1,66 [0,52; 2,36],  $p=0,023$ , и 14,75 [12,79; 21,77] против 5,96 [2,8; 8,2],  $p=0,034$  соответственно), показатель послеоперационной экспрессии между группами также статистически значимо различался. В отношении семейств miR-26a-5p и miR-23a-3p отмечена схожая тенденция: группа с неосложненным течением послеоперационного периода характеризовалась практически полным отсутствием какой-либо динамики уровня экспрессии (незначительное повышение показателя), тогда как для группы с наличием ПОН послеоперационный показатель семейства микроРНК был ниже в точке после операции. При этом межгрупповые различия в точке «после операции» были статистически значимыми: для miR-26a-5p показатель в 1-й группе составил 6,79 [3,38; 8,46], во 2-й – 0,26 [0,18; 1,9],  $p=0,037$ ; для miR-23a-3p – 14,14 [11,92; 26,63] и 2,0 [1,02; 4,18],  $p < 0,001$ .

**Заключение.** В ходе сопоставления экспрессии микроРНК до оперативного вмешательства мы не нашли статистически значимых различий между группами пациентов без ПОН и с наличием ПОН. При исследовании экспрессии микроРНК в группе без признаков ПОН после операции наблюдали увеличение экспрессии микроРНК, отвечающих как за up-регуляцию (miR-486-5p, miR-192-5p, miR-30d-5p), так и за down-регуляцию (miR-191-5p, miR-146a-5p). Для группы с осложненным течением послеоперационного периода при наличии ПОН динамика up-регулирующих микроРНК характеризовалась увеличением экспрессии (miR-486-5p, miR-192-5p, miR-30d-5p), тогда как для down-регулирующих микроРНК (miR-191-5p, miR-146a-5p) экспрессия статистически значимо снижалась, отличаясь и от группы без ПОН, и от показателей до операции.

**Ключевые слова:** кардиохирургия, системная воспалительная реакция, микроРНК, полиорганная недостаточность

**Для цитирования:** Григорьев ЕВ, Понасенко АВ, Цепочкина АВ, Ивкин АА, Корнелюк РА. Уровень экспрессии микроРНК у кардиохирургических пациентов зависит от наличия полиорганной недостаточности в послеоперационном периоде. Альманах клинической медицины. 2022;50(4):217–225. doi: 10.18786/2072-0505-2022-50-036.

Поступила 23.09.2022; доработана 03.10.2022; принята к публикации 10.10.2022; опубликована онлайн 20.10.2022



Операции на сердце с применением искусственного кровообращения (ИК) продолжают оставаться в зоне риска осложнений, связанных как с выполнением агрессивных вмешательств с использованием стернотомии, вероятной кровопотерей, так и с необходимостью создания условий для ИК. Несмотря на значительный прогресс в области операций из мини-доступов, катетерных процедур, роботизированных систем и иные попытки снизить травматичность операций, «агрессивность» кардиохирургических вмешательств сохраняется. Помимо самого операционного доступа негативный вклад вносят травма вследствие кардиолиза, забора крови с тканевыми факторами в кардиотомный резервуар, активация оси «гипоталамус – гипофиз – надпочечники», нейроэндокринная активация системной воспалительной реакции [1]. По мере роста распространенности хронической медикации препаратами, действующими на различные компоненты системы гемостаза (антикоагулянты, антиагреганты, новейшие пероральные антикоагулянты), увеличивается потребность в послеоперационных трансфузионных операциях и вероятность острых массивных кровопотерь и шока [2–5]. Актуальна и проблема формирования специфического посткардиотомного синдрома малого сердечного выброса за счет гibernации миокарда на фоне неадекватной кардиоплегии, неполной или неэффективной реваскуляризации и/или исходной систолической и диастолической дисфункций миокарда [6, 7].

Понятие системной воспалительной реакции (СВР) как ведущего компонента формирования полиорганной недостаточности (ПОН) обособленно подвергается активной критике с позиции клинических признаков в силу их невысокой специфичности, чувствительности, явного маскирования проявлений СВР технологиями экстракорпорального кровообращения. Вместе с тем патофизиологические компоненты модели danger являются неотъемлемой частью СВР, в том числе и после кардиохирургических операций, выполняемых в условиях ИК. Медиаторы, вовлеченные в реализацию СВР, могут рассматриваться как кандидатные маркеры диагностики и терапевтические мишени для модуляции СВР [8].

Микрорибонуклеиновые кислоты (микроРНК) – некодирующие эндогенные РНК, целью которых выступает информационная или матричная РНК, переносящая, в свою очередь, информацию о структуре белка в рибосомы [9]. МикроРНК характеризуются вовлеченностью в пролиферацию клеток, дифференциацию

**Григорьев Евгений Валерьевич** – д-р мед. наук, профессор, вед. науч. сотр. лаборатории анестезиологии, реаниматологии и патофизиологии критических состояний<sup>1</sup>; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8370-3083> ✉ 650002, г. Кемерово, Сосновый бульвар, 6, Российская Федерация. Тел.: +7 (3842) 34 53 90. E-mail: [grigev@kemcardio.ru](mailto:grigev@kemcardio.ru)

**Понасенко Анастасия Валериевна** – канд. мед. наук, заведующая лабораторией геномной медицины<sup>1</sup>; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3002-2863>. E-mail: [ponaav@kemcardio.ru](mailto:ponaav@kemcardio.ru)

**Цепочкина Анна Викторовна** – канд. биол. наук, науч. сотр. лаборатории геномной медицины<sup>1</sup>; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4467-8732>. E-mail: [tzepav@kemcardio.ru](mailto:tzepav@kemcardio.ru)

**Ивкин Артем Александрович** – канд. мед. наук, мл. науч. сотр. лаборатории анестезиологии, реаниматологии и патофизиологии критических состояний<sup>1</sup>; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3899-1642>. E-mail: [ivkiaa@kemcardio.ru](mailto:ivkiaa@kemcardio.ru)

**Корнелик Роман Александрович** – канд. мед. наук, науч. сотр. лаборатории анестезиологии, реаниматологии и патофизиологии критических состояний<sup>1</sup>; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2654-2727>. E-mail: [kornra@kemcardio.ru](mailto:kornra@kemcardio.ru)

и апоптоз, участием в ремоделировании, в том числе и остром, миокарда после ишемического/реперфузионного каскада [10]. Ведущая роль микроРНК – посттранскрипционная регуляция. Молекула секретируется за пределы клетки, является тканеспецифической и легко детектируется в различных биологических жидкостях. МикроРНК и дисрегуляция деятельности этой молекулы – составная часть реализации СВР в различных критических состояниях (сепсис, ишемия и реперфузия, тяжелая травма) с позиции регуляции врожденного иммунитета, реакции эндотелия, выброса цитокинов путем ингибирования экспрессии провоспалительных цитокинов и активации индуцированной иммуносупрессии, прямого связывания с интерлейкинами [11–13]. Принимая во внимание такие признаки микроРНК, как достаточная стабильность в биологических жидкостях и устойчивость к внешним воздействиям, было предложено использовать их как биомаркеры в составе диагностических и прогностических панелей для прогнозирования/диагностики критических состояний, включая послеоперационные кардиохирургические осложнения [14]. Однако выбор кандидатных микроРНК сложен из-за исключительного разнообразия семейства данных молекул [15, 16].

Мы инициировали исследование по установлению роли кандидатных микроРНК в развитии одного из наиболее значимых осложнений после операции на сердце – полиорганной недостаточности, в частности, в отношении соотношения up- и down-регулирующих микроРНК при наличии или отсутствии ПОН.

Цель исследования – оценить уровень экспрессии микроРНК в сыворотке пациентов, перенесших кардиохирургическое вмешательство, в зависимости от осложнений послеоперационного периода (наличия или отсутствия ПОН).

## Материал и методы

В проспективное пилотное наблюдательное исследование включено 87 пациентов, перенесших кардиохирургическое вмешательство. Проведение исследования одобрено локальным этическим комитетом ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний» (протокол заседания № 3 от 01.08.2020). Все пациенты или их законные представители подписали форму информированного добровольного согласия.

Критерии включения: оперативные вмешательства на сердце; операции, выполненные в условиях ИК; возраст пациента более 18 лет.

<sup>1</sup> ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний»; 650002, г. Кемерово, Сосновый бульвар, 6, Российская Федерация



Критерии исключения: декомпенсированная коморбидная патология, в том числе наличие хронической болезни почек; онкологическое заболевание как коморбидная патология; повторные операции.

Характеристика исследуемой группы

В исследование включены пациенты, подвергшиеся хирургическому лечению на базе ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний» в период с 2020 по 2022 г. Подробная клиническая характеристика пациентов дана в табл. 1.

Все пациенты были оперированы в условиях непультсирующего ИК с использованием нормотермического режима с перфузионным индексом 2,3 л/мин/м<sup>2</sup>. При операциях по клапанной коррекции и сочетанной коррекции (коронарное шунтирование в сочетании с коррекцией клапанной патологии) миокард защищали кристаллоидной кардиopleгией (раствор Кустодиол, Dr. F. Kohler Chemie GmbH, Германия), в случае проведения изолированной коронарной реваскуляризации – тепловой кровяной кардиopleгией. Доставка раствора для кардиopleгии была антеградная либо ретроградная в зависимости от выраженности гипертрофии миокарда и коронарных стенозов. Операции проходили в условиях эндотрахеального наркоза: вводный наркоз – пропофол (3 мг/кг), далее поддержание – ингаляционный наркоз севофлураном 0,8–1,3 МАК до начала основного этапа, на основном этапе использовали пропофол внутривенно в дозе 2 мг/кг/ч, после снятия зажима с аорты повторно возобновляли подачу севофлурана. Анальгезия выполнялась с использованием фентанила в дозе 5–7 мкг/кг/ч. Интраоперационный мониторинг системной гемодинамики включал в себя инвазивный контроль артериального давления, сердечного выброса (с использованием катетера Свана – Ганца или интраоперационной чреспищеводной эхокардиографии). Тяжесть ПОН в послеоперационном периоде определяли по шкале SOFA (Sequential Organ Failure Assessment). При представлении структуры органной недостаточности использовали следующие критерии: для острого респираторного дистресс-синдрома – «берлинские» дефиниции, для острого повреждения почек – шкалу ADQI (Acute Dialysis Quality Initiative), для центральной нервной системы – оценку по шкале комы Глазго и/или определяли наличие делирия по шкале CAM-ICU (Confusion Assessment Method for the Intensive Care Unit).

Таблица 1. Клинические характеристики включенных в исследование пациентов

Показатель	Пациенты без осложнений (группа 1, n = 51)	Пациенты с осложненным течением послеоперационного периода и развитием ПОН (группа 2, n = 36)
Возраст, годы, Me [LQ; UQ]	59,9 [54,0; 68,0]	61,9 [58,0; 69,4]
Мужчины, абс. (%)	30 (58,8)	30 (83,3)
ИМТ, кг/м <sup>2</sup> , Me [LQ; UQ]	37,4 [32,1; 39,0]	35,4 [32,0; 39,6]
АКШ, абс. (%)	15 (29,4)	8 (22,2)
Операции на клапанах сердца, абс. (%)	19 (37,3)	17 (47,2)
Сочетанные операции (АКШ + протезирование / пластика клапанов), абс. (%)	9 (17,6)	5 (13,9)
Протезирование восходящего отдела аорты	8 (15,7)	6 (16,7)
Ведущая причина формирования ПОН, абс. (%)		
кардиогенный шок, интраоперационный синдром малого сердечного выброса	Не применимо	19 (52,7)
геморрагический шок, острая массивная кровопотеря	Не применимо	17 (47,3)
Время ИК, мин, Me [LQ; UQ]	90 [81; 98,5]	168 [144; 189]
Время окклюзии аорты, мин, Me [LQ; UQ]	57,7 [40,1; 72,7]	118 [103,7; 178,9]
Сахарный диабет, абс. (%)	11 (21)	9 (25)
Гипертоническая болезнь, абс. (%)	44 (86)	36 (100)
Мультифокальный атеросклероз, абс. (%)	34 (66,6)	23 (63,8)
Индекс коморбидности Чарлсона, баллы, Me [LQ; UQ]	1,2 [0,5; 1,4]	3,1 [2,9; 4,0]

АКШ – аортокоронарное шунтирование, ИК – искусственное кровообращение, ИМТ – индекс массы тела, ПОН – полиорганная недостаточность

Пациенты в группах не имели статистически значимых различий по основной и сопутствующей патологии, за исключением параметров «Время ИК», «Время окклюзии аорты» и «Индекс коморбидности Чарлсона»

#### Методология исследования микроРНК

У всех пациентов проводился сбор крови в двух временных точках: до операции и в среднем через 36–48 часов после ее завершения. Кровь собирали в пробирку с K<sub>3</sub> ЭДТА, после чего ее центрифугировали при 15 тыс. об/10 мин. Затем полученную плазму аликвотировали в пробирки и хранили при -80 °С до момента выделения микроРНК. Использовали коммерческий набор для выделения микроРНК из плазмы и сыворотки (Qiagen, кат. № 217184). Качество и количество микроРНК определяли при помощи прибора Qubit 4 (ThermoFisher Scientific, США).

**Таблица 2.** Характеристика исследуемых микроРНК

МикроРНК	Критическая нозология как модель	Источник	Фенотип и свойства
hsa-miR-486-5p (478128_miR)	Сепсис	[17]	Установлено наличие корреляции между сывороточным содержанием микроРНК и цифровыми индикаторами тяжести критического состояния – шкалами и воспалительными биомаркерами (возможный диагностический маркер сепсиса)
hsa-miR-191-5p (477952_miR)	Сепсис-индуцированное острое повреждение почек	[18]	Ингибитор воспалительных медиаторов, цитокинов и маркеров апоптоза (на экспериментальной модели и клеточной культуре)
hsa-miR-192-5p (478262_miR)	Острое повреждение почек	[19]	Уровень в моче данного маркера статистически значимо увеличивался у крыс с ишемически-реперфузионным повреждением почек в течение 72 часов после операции, статистически значимо отличаясь от сроков выброса биомаркера – молекулы, ассоциированной с повреждением почек
hsa-miR-146a-5p (478399_miR)	Системное воспаление, индуцированная иммуносупрессия, эндотелиоз	[20]	Экспрессия генов в ответ на провоспалительные стимулы. Негативная обратная связь в ответ на избыточное воспаление. Нарушенная экспрессия связана с рядом воспалительных нозологий. Регуляция системного воспаления путем прямого воздействия на толл-подобный рецептор 4. Отрицательная регуляция ответа на стимуляцию ФНО. Оказывает влияние на миокардиальную депрессию при сепсисе
hsa-miR-26a-5p (477995_miR)	Острое повреждение легких, индуцированное ЛПС	[21]	Регуляторная функция микроРНК изучалась на ЛПС-индуцированном остром повреждении легких у крыс. Гиперэкспрессия микроРНК снижает интенсивность повреждения легких за счет уменьшения уровней цитокинов в бронхоальвеолярном лаваже, целевым белком авторы считают фактор роста соединительной ткани
hsa-miR-30d-5p (478606_miR)	Сепсис, неинфекционная системная воспалительная реакция	[22]	Сопоставление пациентов с тяжелым абдоминальным сепсисом, тяжелым неинфекционным системным воспалительным ответом и пациентов без системного воспаления. Наблюдала up-регуляцию микроРНК у пациентов с инфекцией и высокие показатели чувствительности и специфичности в отношении диагностической значимости маркера при сепсисе
hsa-miR-23a-3p (478532_miR)	Сепсис-индуцированное острое повреждение почек	[23]	Сопоставление профиля экспрессии у пациентов с сепсис-индуцированным ОПП, несептическим ОПП и у здоровых добровольцев. Показана статистически значимая более низкая экспрессия микроРНК, что было связано с участием в регуляции окислительного ответа, проницаемостью мембраны митохондрий и уровнями цитокинов

ЛПС – липополисахарид, ОПП – острое повреждение почек, ФНО – фактор некроза опухоли

**Таблица 3.** Экспрессия up-регулирующих микроРНК у пациентов с различными вариантами течения послеоперационного периода

Группа	Уровень экспрессии up-регулирующей микроРНК, Me [LQ; UQ]									
	miR-486-5p		Значение $p^*$	miR-192-5p		Значение $p^*$	miR-30d-5p		Значение $p^*$	
	до операции	после операции		до операции	после операции		до операции	после операции		
1	41,83 [19,86; 74,6]	940 [434,7; 1212,0]	< 0,001	0,39 [0,16; 1,07]	5,96 [3,74; 10,35]	0,002	1,61 [0,47; 4,36]	5,03 [2,93; 6,56]	0,002	
2	72,55 [21,37; 100,2]	492,4 [201,2; 998,0]	< 0,001	1,74 [0,45; 3,35]	17,16 [4,70; 24,96]	0,003	0,89 [0,32; 4,27]	6,63 [3,92; 12,82]	0,0045	
Значение $p^{**}$	0,16	0,28		0,23	0,028		0,25	0,56		

1 – пациенты без осложнений (группа 1, n = 51); 2 – пациенты с осложненным течением послеоперационного периода и развитием полиорганной недостаточности (группа 2, n = 36)

\* Сравнение внутри группы до и после операции

\*\* Сравнение между группами

**Таблица 4.** Экспрессия down-регулирующих микроРНК у пациентов с различными вариантами течения послеоперационного периода

Группа	Уровень экспрессии down-регулирующей микроРНК, Ме [LQ; UQ]											
	miR-191-5p		Значение <i>p</i> *	miR-146a-5p		Значение <i>p</i> *	miR-26a-5p		Значение <i>p</i> *	miR-23a-3p		Значение <i>p</i> *
	до опера- ции	после опе- рации		до опера- ции	после опе- рации		до опера- ции	после опе- рации		до опера- ции	после опе- рации	
1	3,85 [1,64; 5,6]	7,7 [5,48; 9,68]	0,021	18,1 [6,52; 19,9]	37,27 [29,13; 47,07]	0,016	4,62 [2,1; 6,38]	6,79 [3,38; 8,46]	0,13	12,61 [4,45; 16,97]	14,14 [11,92; 26,63]	0,23
2	3,67 [2,60; 7,61]	1,66 [0,52; 2,36]	0,023	14,75 [12,79; 21,77]	5,96 [2,8; 8,2]	0,034	0,76 [0,45; 1,26]	0,26 [0,18; 1,9]	0,18	7,5 [3,69; 8,75]	2,0 [1,02; 4,18]	0,19
Значение <i>p</i> **	0,37	0,021		0,19	0,029		0,036	0,037		0,019	< 0,001	

1 – пациенты без осложнений (группа 1, n = 51); 2 – пациенты с осложненным течением послеоперационного периода и развитием полиорганной недостаточности (группа 2, n = 36)

\*Сравнение внутри группы до и после операции

\*\*Сравнение между группами

Для выявления наиболее релевантных молекул микроРНК в отношении системного воспаления, кардиохирургии, ИК и сепсиса, ПОН был проведен поиск и анализ источников литературы. Принцип отбора кандидатных микроРНК описан в табл. 2. Для исследования были отобраны следующие микроРНК: hsa-miR-486-5p (478128\_miR), hsa-miR-191-5p (477952\_miR), hsa-miR-192-5p (478262\_miR), hsa-miR-146a-5p (478399\_miR), hsa-miR-26a-5p (477995\_miR), hsa-miR-30d-5p (478606\_miR), hsa-miR-23a-3p (478532\_miR), hsa-miR-320a-5p (481049\_miR). Уровень микроРНК определяли методом количественной полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией. Нормализацию результатов полимеразной цепной реакции проводили при помощи hsa-miR-16-5p (4427975). Относительный уровень экспрессии рассчитывали по методу  $\Delta\Delta Ct$ .

Статистическую обработку полученных данных выполняли с использованием программы GraphPad Prism 8 (GraphPad Software). Значимость различий между двумя независимыми группами оценивали при помощи U-критерия Манна – Уитни, а внутри групп – при помощи критерия Вилкоксона. Данные представлены как медиана и интерквартильный размах [25Q; 75Q]. Проверку на нормальность распределения проводили при помощи тестов Колмогорова – Смирнова и Шапиро – Уилка. Сравнительный анализ экспрессии между двумя группами осуществляли по критерию Манна – Уитни. Различия признавались статистически значимыми при вероятности отклонить верную нулевую гипотезу  $p < 0,05$ .

## Результаты

Основным критерием для разделения пациентов на группы послужило наличие осложнений в раннем послеоперационном периоде, в частности развитие ПОН, определяемой по значениям шкалы SOFA в динамике после операции как «более 4 баллов». Подробную характеристику динамики экспрессии микроРНК по группам и по точкам «до операции» и «после операции» см. в табл. 3 и 4.

### Up-регулирующие микроРНК

Мы отметили статистически значимое увеличение показателя экспрессии микроРНК miR-486-5p в послеоперационном периоде – в 1-й группе он превышал аналогичный показатель до операции в 22,5 раза, во 2-й – в 6,8 раза, однако межгрупповые различия в точке «после операции» не были статистически значимыми. Аналогичную динамику регистрировали и в отношении уровней экспрессии miR-30d-5p: статистически значимое увеличение экспрессии в обеих группах в точке «после операции» по сравнению с исходными показателями без статистически значимого различия между группами после операции (см. табл. 3). Статистически значимое повышение экспрессии miR-192-5p в послеоперационном периоде по сравнению с исходным значением до операции наблюдали и в 1-й группе, и во 2-й, при этом в точке «после операции» межгрупповые различия были статистически значимыми ( $p = 0,028$ ). Таким образом, для всех up-регулирующих микроРНК было характерно повышение уровня экспрессии после операции по сравнению с дооперационным



уровнем, с наибольшим подобным ростом для семейства miR-486-5p.

#### Down-регулирующие микроРНК

В отношении экспрессии miR-191-5p в послеоперационном периоде по сравнению с исходными значениями наблюдали статистически значимые увеличение уровней в 1-й группе ( $p=0,021$ ) и снижение уровней во 2-й группе ( $p=0,021$ ), послеоперационные показатели между группами также различались ( $p=0,023$ ). Та же динамика отмечена для семейства miR-146a-5p: статистически значимое увеличение показателя экспрессии в 1-й группе после операции ( $p=0,016$ ) и статистически значимое снижение уровня экспрессии во 2-й группе после операции ( $p=0,034$ ), межгрупповое сравнение показало различие в уровнях экспрессии в точке «после операции» в 6,25 раза ( $p=0,029$ ). Что касается семейства miR-26a-5p, в группе с неосложненным течением отмечено статистически незначимое повышение, а в группе с ПОН – статистически незначимое снижение уровней экспрессии микроРНК, при этом при сопоставлении данных групп в послеоперационном периоде различия были статистически значимыми ( $p=0,037$ ). Аналогичная динамика наблюдалась для семейства miR-23a-3p (см. табл. 4). Таким образом, для всех представителей down-регулирующих микроРНК в группе с наличием ПОН мы отметили статистически значимое снижение уровня экспрессии после операции по сравнению с группой без осложнений, в которой экспрессия практически не менялась.

#### Обсуждение

Для своего исследования мы отобрали те кандидатные микроРНК, изменение экспрессии которых было показано рядом авторов как прогностическое в плане формирования органной недостаточности, то есть повреждения и нарушения функции отдельных органов и систем. Мы также учитывали наличие патофизиологической взаимосвязи с СВР, характеризующейся разнонаправленной экспрессией провоспалительных и противовоспалительных медиаторов [24]. Важнейшую роль в реализации данного сигнального пути играют толл-подобные рецепторы, в частности, опосредованная через толл-подобный рецептор 4 активация ядерного фактора каппа В (NF-κB). МикроРНК могут рассматриваться с позиции ключевых регуляторных молекул, отвечающих за балансирование СВР, предположительно, по принципу обратной связи [25]. Некоторые из молекул микроРНК обеспечивают

отрицательную регуляцию для профилактики активации NF-κB [26]. Наш выбор кандидатных микроРНК, которые связаны с реализацией и балансом медиаторов системного воспаления, может быть использован для создания прогностической и диагностической панели развития ПОН в критическом состоянии [27].

МикроРНК – некодирующие РНК, играющие важную роль в процессе пролиферации клеток, апоптозе, остром ремоделировании и реализации СВР. Дисрегуляция различных микроРНК описана в отношении популяции периферических полиморфноядерных клеток, сыворотки крови, а также в ткани отдельных органов (легкие, почки) экспериментальных животных. При этом получены различные результаты: от отсутствия разницы в экспрессии микроРНК до достоверного снижения экспрессии в зависимости от тяжести сепсиса или стадии критического состояния, исхода (выжил/умер) для популяции взрослых и неонатальных пациентов [17, 26, 27]. Различия в динамике экспрессии микроРНК наблюдались в основном в зависимости от выбора кандидатной молекулы микроРНК.

В исследовании диагностической и прогностической значимости miR-486-5p, аналогичном нашему, показано, что у пациентов с сепсисом экспрессия увеличивается и уровень экспрессии выше при сепсисе по сравнению с локальной инфекцией. Для miR-486-5p целевым геном служит *SIRT-1*, и данная микроРНК выступает как один из ингибиторов СВР не только у пациентов с сепсисом, но и у пациентов с миокардиальной ишемией-реперфузией [17].

На экспериментальной модели септического острого повреждения почек другая кандидатная молекула – miR-191-5p – показала защитный эффект в виде ингибирования воспаления и ограничения индукции апоптоза за счет снижения уровня провоспалительных цитокинов (фактор некроза опухоли, интерлейкин (ИЛ)-1 и ИЛ-6β), белков-индукторов апоптоза (Вах и каспаза-3) [18], что согласуется с данными нашего исследования.

Экспрессия miR-146a-5p происходит в ответ на провоспалительные стимулы, при этом реализуется принцип отрицательной обратной связи (выше уровень «воспалительной» стимуляции – ниже экспрессия). Важнейшее значение имеет NF-κB, повышенная экспрессия которого подавляет miR-146a. Регуляция воспалительного процесса осуществляется путем прямого связывания с толл-подобными рецепторами, негативной регуляцией ответа фактора некроза опухоли, экспрессии ИЛ-2. М. Gao и соавт. описывают



роль данной микроРНК в отношении ослабления тяжести сепсис-индуцированной депрессии миокарда вследствие предотвращения активации NF-κB, воспалительной инфильтрации клеток миокарда и продукции цитокинов за счет действия в отношении IRAK-1. Аналогичные эффекты наблюдаются в клетках альвеолярного эпителия [28].

В ходе нашего исследования возникли вопросы, которые ожидают своего прояснения: возможно ли объединить воедино экспрессии множества микроРНК, оценить их роль в выраженности ПОН как синдрома, состоящего из множества органных дисфункций, в наложении ишемии и реперфузии вследствие ИК, и отдельно – в развитии вероятного кардиогенного шока с повреждением миокарда и геморрагического шока с системным воспалением на фоне острой кровопотери и массивной трансфузии. Каждый из перечисленных компонентов ПОН является значимым в плане выброса и нарушения экспрессии микроРНК. В обзоре E. Właźejowska и соавт. сделаны акценты на прогностической и диагностической значимости кандидатных микроРНК в периоперационном периоде аортокоронарного шунтирования с позиции прогнозирования периоперационного инфаркта миокарда и периоперационной фибрилляции предсердий [16]. Ранее предпринимались попытки выбрать из довольно большого числа микроРНК кандидатные, экспрессия которых позволила бы с достаточной силой прогнозировать подобное осложнение. Однако среди имеющихся

публикаций мы не нашли работ, аналогичных нашей, когда бы ставилась задача не только прогноза осложнений, специфических для оперативных вмешательств на сердце с позиции ишемии и реперфузии, но и поиска предикторов ПОН. Вероятно, решением поставленных задач может стать расширение спектра включенных в исследование микроРНК, во-первых, увеличение выборки пациентов для точной валидации лабораторной панели маркеров, во-вторых, и проведение корреляции «цитокины – микроРНК – биохимические маркеры» – в-третьих [29].

## Заключение

В ходе сопоставления экспрессии микроРНК до оперативного вмешательства мы не нашли статистически значимых различий между группами пациентов без ПОН и с наличием ПОН. При исследовании экспрессии микроРНК в группе без признаков ПОН после операции наблюдали увеличение экспрессии микроРНК, отвечающих как за up-регуляцию (miR-486-5p, miR-192-5p, miR-30d-5p), так и за down-регуляцию (miR-191-5p, miR-146a-5p). Для группы с осложненным течением послеоперационного периода и при наличии ПОН динамика up-регулирующих микроРНК характеризовалась увеличением экспрессии (miR-486-5p, miR-192-5p, miR-30d-5p), тогда как для down-регулирующих микроРНК (miR-191-5p, miR-146a-5p) экспрессия статистически значимо снижалась, отличаясь и от группы без ПОН, и от показателей до операции. ☺

## Дополнительная информация

### Финансирование

Работа выполнена в рамках реализации программы поисковых научных исследований ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний» по теме «Алармины – кандидатные маркеры прогнозирования и оценки эффективности превентивной интенсивной терапии персистирующей полиорганной недостаточности».

### Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

### Участие авторов

Е.В. Григорьев – концепция и дизайн исследования, подготовка финального варианта статьи; А.В. Понасенко – выполнение генетических исследований, написание текста; А.В. Цепкина – выполнение и анализ генетических исследований, редактирование

текста; А.А. Ивкин – сбор и анализ клинического материала, написание текста; Р.А. Корнелиук – сбор и анализ клинического материала, редактирование текста. Все авторы прочли и одобрили финальную версию статьи перед публикацией, согласны нести ответственность за все аспекты работы и гарантируют, что ими надлежащим образом были рассмотрены и решены вопросы, связанные с точностью и добросовестностью всех частей работы.

## Литература / References

1. Кричевский ЛА, Рыбаков ВЮ, Дворядкин АА, Проценко ДН. Системный воспалительный ответ в кардиохирургии. Анестезиология и реаниматология. 2021;(3):94–102. doi: 10.17116/anaesthesiology202103194. [Krichevsky LA, Rybakov VYu, Dvoryadkin AA, Protsenko DN. [Systemic inflammatory response in cardiac surgery]. Russian Journal of Anaesthesiology and Reanimatology. 2021;(3):94–102. Russian. doi: 10.17116/anaesthesiology202103194.]
2. Bowdish ME, D'Agostino RS, Thourani VH, Schwann TA, Krohn C, Desai N, Shahian DM, Fernandez FG, Badhwar V. STS Adult Cardiac Surgery Database: 2021 Update on Outcomes, Quality, and Research. Ann Thorac Surg. 2021;111(6):1770–1780. doi: 10.1016/j.athoracsur.2021.03.043.
3. Иванова ЛН, Болтенкова ВИ, Иванова ЕВ, Евсеев ЕП. Факторы риска посткардиотомного синдрома после коррекции пороков сердца. Кардиология и сердечно-сосудистая хирургия. 2021;14(4):308–313. doi: 10.17116/kardio202114041308. [Ivanova LN, Boltenkova VI, Ivanova EV, Evseev EP. [Risk factors of postpericardiotomy syndrome after heart valve surgery]. Kardiologiya i Serdechno-Sosudistaya Khirurgiya [Cardiology and Cardiovascular Surgery]. 2021;14(4):308–313. Russian. doi: 10.17116/kardio202114041308.]



4. Del Rio JM, Jake Abernathy J 3<sup>rd</sup>, Taylor MA, Habib RH, Fernandez FG, Bollen BA, Lauer RE, Nussmeier NA, Glance LG, Petty JV 3<sup>rd</sup>, Mackensen GB, Vener DF, Kertai MD. The Adult Cardiac Anesthesiology Section of STS Adult Cardiac Surgery Database: 2020 Update on Quality and Outcomes. *J Cardiothorac Vasc Anesth.* 2021;35(1):22–34. doi: 10.1053/j.jvca.2020.08.005.
5. Jawitz OK, Gulack BC, Brennan JM, Thibault DP, Wang A, O'Brien SM, Schroder JN, Gaca JG, Smith PK. Association of postoperative complications and outcomes following coronary artery bypass grafting. *Am Heart J.* 2020;222:220–228. doi: 10.1016/j.ahj.2020.02.002.
6. Holm M, Biancari F, Khodabandeh S, Gherli R, Airaksinen J, Mariscalco G, Gatti G, Reichart D, Onorati F, De Feo M, Santarpino G, Rubino AS, Maselli D, Santini F, Nicolini F, Zanobini M, Kinnunen EM, Ruggieri VG, Perrotti A, Rosato S, Dalén M. Bleeding in Patients Treated With Ticagrelor or Clopidogrel Before Coronary Artery Bypass Grafting. *Ann Thorac Surg.* 2019;107(6):1690–1698. doi: 10.1016/j.athoracsur.2019.01.086.
7. Lomivorotov VV, Efremov SM, Kirov MY, Fominskiy EV, Karaskov AM. Low-Cardiac-Output Syndrome After Cardiac Surgery. *J Cardiothorac Vasc Anesth.* 2017;31(1):291–308. doi: 10.1053/j.jvca.2016.05.029.
8. Матвеева ВГ, Ханова МЮ, Ивкин АА, Корнелюк РА, Григорьев ЕВ. Иммуносупрессорный профиль пациентов, оперированных по поводу приобретенных пороков сердца в условиях искусственного кровообращения. Вестник интенсивной терапии им. А.И. Салтанова. 2020;3:74–87. doi: 10.21320/1818-474X-2020-3-74-87. [Matveeva VG, Khanova MYu, Ivkin AA, Grigoryev EV. [Immunosuppressive profile of patients operated for acquired heart diseases under artificial circulation. A prospective study]. *Annals of Critical Care.* 2020;3:74–87. doi: 10.21320/1818-474X-2020-3-74-87.]
9. Perron MP, Boissonneault V, Gobeil LA, Ouellet DL, Provost P. Regulatory RNAs: future perspectives in diagnosis, prognosis, and individualized therapy. *Methods Mol Biol.* 2007;361:311–326. doi: 10.1385/1-59745-208-4:311.
10. Takeuchi O, Akira S. Pattern recognition receptors and inflammation. *Cell.* 2010;140(6):805–820. doi: 10.1016/j.cell.2010.01.022.
11. Zhou J, Chaudhry H, Zhong Y, Ali MM, Perkins LA, Owens WB, Morales JE, McGuire FR, Zumbun EE, Zhang J, Nagarkatti PS, Nagarkatti M. Dysregulation in microRNA expression in peripheral blood mononuclear cells of sepsis patients is associated with immunopathology. *Cytokine.* 2015;71(1):89–100. doi: 10.1016/j.cyt.2014.09.003.
12. Han Y, Dai QC, Shen HL, Zhang XW. Diagnostic value of elevated serum miRNA-143 levels in sepsis. *J Int Med Res.* 2016;44(4):875–881. doi: 10.1177/0300060516645003.
13. Tschöeke SK, Oberholzer A, Moldawer LL. Interleukin-18: a novel prognostic cytokine in bacteria-induced sepsis. *Crit Care Med.* 2006;34(4):1225–1233. doi: 10.1097/01.CCM.0000208356.05575.16.
14. Song X, Wang CT, Geng XH. MicroRNA-29a promotes apoptosis of monocytes by targeting STAT3 during sepsis. *Genet Mol Res.* 2015;14(4):13746–13753. doi: 10.4238/2015.October.28.37.
15. Gaede L, Liebetrau C, Blumenstein J, Troidl C, Dörr O, Kim WK, Gottfried K, Voss S, Berkowitz A, Walther T, Nef H, Hamm CW, Möllmann H. Plasma microRNA-21 for the early prediction of acute kidney injury in patients undergoing major cardiac surgery. *Nephrol Dial Transplant.* 2016;31(5):760–766. doi: 10.1093/ndt/gfw007.
16. Błażejowska E, Urbanowicz T, Gąsecka A, Ołasińska-Wiśniewska A, Jaguszewski MJ, Targoński R, Szarpak Ł, Filipiak KJ, Perek B, Jermeliety M. Diagnostic and Prognostic Value of

## The level of microRNA expression in cardiac surgery patients depends on postoperative multiorgan failure

E.V. Grigoryev<sup>1</sup> • A.V. Ponassenko<sup>1</sup> • A.V. Tsepokina<sup>1</sup> • A.A. Ivkin<sup>1</sup> • R.A. Kornelyuk<sup>1</sup>

**Aim:** To assess the level of microRNA expression in the serum of patients who had undergone cardiac surgery depending on the postoperative complications (presence or absence of multiorgan failure, MOF).

**Materials and methods:** The study group included 87 patients who had undergone heart surgery with cardiopulmonary bypass. The patients without postoperative complications comprised group 1 (n=51), whereas those with postoperative MOF were in group 2 (n=36). In all patients, blood samples were collected at two time points: before surgery and at 36 to 48 hours after surgery. The following miRNAs were chosen for the study: hsa-miR-486-5p (478128\_miR), hsa-miR-191-5p (477952\_miR), hsa-miR-192-5p (478262\_miR), hsa-miR-146a-5p (478399\_miR), hsa-miR-26a-5p (477995\_miR), hsa-miR-30d-5p (478606\_miR), hsa-miR-23a-3p (478532\_miR), and

hsa-miR-320a-5p (481049\_miR). Polymerase chain reaction results were normalized to hsa-miR-16-5p (4427975).

**Results:** *Up-regulating miRNAs.* Compared to baseline, there was a significant postoperative increase in miR-486-5p microRNA expression (group 1, 41.83 [19.86; 74.6] vs 940 [434.7; 1212.0]; group 2, 72.55 [21.37; 100.2] vs 492.4 [201.2; 998.0]; both p<0.001). An increase in the of microRNA miR-192-5p expression in the postoperative period was found both in the no-MOF group (from 0.39 [0.16; 1.07] at baseline to 5.96 [3.74; 10.35] after surgery, p=0.002), and in the MOF group (from 1.74 [0.45; 3.35] at baseline to 17.16 [4.70; 24.96] after surgery, p=0.003), with a statistically higher level of expression in group 2 (p=0.028). Similar changes over time were observed for miR-30d-5p expression: group 1, 1.61 [0.47; 4.36] at baseline vs 5.03 [2.93; 6.56] after surgery (p=0.002), group 2, 0.89

[0.32; 4.27] at baseline and 6.63 [3.92; 12.82] after surgery, respectively (p=0.0045).

*Down-regulating miRNAs.* The miR-191-5 and miR-146a-5p families demonstrated a significant increase in group 1 after surgery (3.85 [1.64; 5.6] vs 7.7 [5.48; 9.68], p=0.021; and 18.1 [6.52; 19.9] vs 37.27 [29.13; 47.07], p=0.016, respectively) and a significant postoperative decrease in group 2 (3.67 [2.60; 7.61] vs 1.66 [0.52; 2.36], p=0.023; and 14.75 [12.79; 21.77] vs 5.96 [2.8; 8.2], p=0.034, respectively), with between-group difference in the postoperative expression levels being also significant. As regards to miR-26a-5p и miR-23a-3p families, there was a similar trend: the group with uncomplicated postoperative course was had virtually no changes over time in their expression (the increase was non-significant), whereas the MOF group had lower postoperative values for this microRNA family. The between-group differences





- miRNAs after Coronary Artery Bypass Grafting: A Review. *Biology (Basel)*. 2021;10(12):1350. doi: 10.3390/biology10121350.
17. Sun B, Guo S. miR-486-5p Serves as a Diagnostic Biomarker for Sepsis and Its Predictive Value for Clinical Outcomes. *J Inflamm Res*. 2021;14:3687–3695. doi: 10.2147/JIR.S323433.
  18. Qin Y, Wang G, Peng Z. MicroRNA-191-5p diminished sepsis-induced acute kidney injury through targeting oxidative stress responsive 1 in rat models. *Biosci Rep*. 2019;39(8):BSR20190548. doi: 10.1042/BSR20190548.
  19. Ren FJ, Yao Y, Cai XY, Fang GY. Emerging Role of MiR-192-5p in Human Diseases. *Front Pharmacol*. 2021;12:614068. doi: 10.3389/fphar.2021.614068.
  20. Sun Z, Zhang Q, Cui X, Yang J, Zhang B, Song G. Differential expression of miRNA and its role in sepsis. *Pediatrics*. 2018;142. doi: 10.1542/peds.142.1\_MeetingAbstract.563.
  21. Li H, Yang T, Fei Z. miR-26a-5p alleviates lipopolysaccharide-induced acute lung injury by targeting the connective tissue growth factor. *Mol Med Rep*. 2021;23(1):5. doi: 10.3892/mmr.2020.11643.
  22. Caserta S, Kern F, Cohen J, Drage S, Newbury SF, Llewelyn MJ. Circulating Plasma microRNAs can differentiate Human Sepsis and Systemic Inflammatory Response Syndrome (SIRS). *Crit Rep*. 2016;6:28006. doi: 10.1038/srep28006.
  23. Ge QM, Huang CM, Zhu XY, Bian F, Pan SM. Differentially expressed miRNAs in sepsis-induced acute kidney injury target oxidative stress and mitochondrial dysfunction pathways. *PLoS One*. 2017;12(3):e0173292. doi: 10.1371/journal.pone.0173292.
  24. Понасенко АВ, Хуторная МВ, Головкин АС, Савостьянова ЮЮ, Григорьев ЕВ. Вклад провоспалительных цитокинов в формирование системного воспалительного ответа после операций протезирования клапанов сердца. Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний. 2013;(4):71–76. doi: 10.17802/2306-1278-2013-4-71-76. [Ponasenko AV, Khutornaya MV, Golovkin AS, Savostyanova YuYu, Grigorev EV. Potential role as a proinflammatory cytokines in postoperative severe systemic inflammatory response syndrome undergoing heart valve replacement surgery]. *Complex Issues of Cardiovascular Diseases*. 2013;(4):71–76. Russian. doi: 10.17802/2306-1278-2013-4-71-76.]
  25. Vasilescu C, Rossi S, Shimizu M, Tudor S, Veronese A, Ferracin M, Nicoloso MS, Barbarotto E, Popa M, Stanculea O, Fernandez MH, Tulbure D, Bueso-Ramos CE, Negri M, Calin GA. MicroRNA fingerprints identify miR-150 as a plasma prognostic marker in patients with sepsis. *PLoS One*. 2009;4(10):e7405. doi: 10.1371/journal.pone.0007405.
  26. Lu YC, Yeh WC, Ohashi PS. LPS/TLR4 signal transduction pathway. *Cytokine*. 2008;42(2):145–151. doi: 10.1016/j.cyto.2008.01.006.
  27. Kawagoe T, Sato S, Matsushita K, Kato H, Matsui K, Kumagai Y, Saitoh T, Kawai T, Takeuchi O, Akira S. Sequential control of Toll-like receptor-dependent responses by IRAK1 and IRAK2. *Nat Immunol*. 2008;9(6):684–691. doi: 10.1038/ni.1606.
  28. Gao M, Wang X, Zhang X, Ha T, Ma H, Liu L, Kalbfleisch JH, Gao X, Kao RL, Williams DL, Li C. Attenuation of Cardiac Dysfunction in Polymicrobial Sepsis by MicroRNA-146a Is Mediated via Targeting of IRAK1 and TRAF6 Expression. *J Immunol*. 2015;195(2):672–682. doi: 10.4049/jimmunol.1403155.
  29. Радивилко АС, Григорьев ЕВ, Шукевич ДЛ, Плотников ГП. Прогнозирование и ранняя диагностика полиорганной недостаточности. Анестезиология и реаниматология. 2018;(6):15–21. doi: 10.17116/anaesthesiology201806115. [Radivilko AS, Grigor'ev EV, Shukevich DL, Plotnikov GP. Multiple organ failure: early diagnosis and prognosis]. *Russian Journal of Anaesthesiology and Reanimatology*. 2018;(6):15–21. Russian. doi: 10.17116/anaesthesiology201806115.]

after surgery were significant for miR-26a-5p (group 1, 6.79 [3.38; 8.46], group 2, 0.26 [0.18; 1.9],  $p=0.037$ ) and for miR-23a-3p (14.14 [11.92; 26.63] and 2.0 [1.02; 4.18], respectively,  $p<0.001$ ).

**Conclusion:** When comparing microRNA expression before surgery, we did not find any significant differences between the patients groups without and with MOF. Assessment of microRNA expression in the no-MOF group after surgery showed an increase in the expression of microRNAs responsible both for up regulation (miR-486-5p, miR-192-5p, miR-30d-5p) and for down regulation (miR-191-5p, miR-146a-5p). In the group with a complicated postoperative course and with MOF, changes over time in the up-regulating microRNAs were characterized by increased expression (miR-486-5p, miR-192-5p, miR-30d-5p),

whereas the down-regulating microRNAs (miR-191-5p, miR-146a-5p) demonstrated significantly decreased expression, which was different both that in the no-MOF group and from the baseline values.

**Key words:** cardiac surgery, systemic inflammatory response, microRNA, multiple organ failure

**For citation:** Grigoryev EV, Ponasenko AV, Tsepokina AV, Ivkin AA, Kornelyuk RA. The level of microRNA expression in cardiac surgery patients depends on postoperative multiorgan failure. *Almanac of Clinical Medicine*. 2022;50(4):217–225. doi: 10.18786/2072-0505-2022-50-036.

Received 23 September 2022; revised 03 October 2022; accepted 10 October 2022; published online 20 October 2022

#### Funding

The study was performed as a part of an exploratory research by Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases "Alarmins as candidate markers for prediction and evaluation of the efficacy of preventive intensive therapy for persistent multiple organ failure".

#### Conflict of interests

The authors declare that there is no conflict of interests.

#### Authors' contribution

E.V. Grigoryev, the study concept and design, the final version of the manuscript; A.V. Ponasenko, genetic studies, text writing; A.V. Tsepokina, genetic studies and their analysis, text editing; A.A. Ivkin, clinical data collection and analysis, text writing; R.A. Kornelyuk, clinical data collection and analysis, text editing. All the authors have read and approved the final version of the manuscript before submission, agreed to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work are appropriately investigated and resolved.

**Evgeny V. Grigoryev** – MD, PhD, Professor, Leading Research Fellow, Laboratory of Anaesthesiology, Emergency and Pathophysiology of Critical Condition<sup>1</sup>; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8370-3083>

✉ Sosnovyy bul'var 6, Kemerovo, 650002, Russian Federation. Tel.: +7 (3842) 34 53 90.  
E-mail: grigev@kemcardio.ru

**Anastasia V. Ponasenko** – MD, PhD, Head of Laboratory of Genomic Medicine<sup>1</sup>; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3002-2863>.  
E-mail: ponaav@kemcardio.ru

**Anna V. Tsepokina** – PhD (in Biol.), Research Fellow, Laboratory of Genomic Medicine<sup>1</sup>; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4467-8732>.  
E-mail: tzepav@kemcardio.ru

**Artem A. Ivkin** – MD, PhD, Junior Research Fellow, Laboratory of Anaesthesiology, Emergency and Pathophysiology of Critical Condition<sup>1</sup>; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3899-1642>.  
E-mail: ivkiaa@kemcardio.ru

**Roman A. Kornelyuk** – MD, PhD, Research Fellow, Laboratory of Anaesthesiology, Emergency and Pathophysiology of Critical Condition<sup>1</sup>; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2654-2727>.  
E-mail: kornra@kemcardio.ru

<sup>1</sup> Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases; Sosnovyy bul'var 6, Kemerovo, 650002, Russian Federation