

Clinical recommendations «Rheumatoid arthritis». М., 2021.

6. Насонов Е.Л., Авдеева А.С., Дибров Д.А. Ревматоидный артрит как клиничко-иммунологический синдром: фокус на серонегативный субтип заболевания // Научно-практическая ревматология. 2023. №3. С. 276–291. doi: 10.47360/1995-4484-2023-276-291.

Nasonov EL, Avdeeva AS, Dibrov DA. Rheumatoid arthritis as a clinical and immunological syndrome: focus on the seronegative subtype of the disease // Rheumatology Science and Practice. 2023; 61(3):276–291. doi: 10.47360/1995-4484-2023-276-291.

7. Cush JJ. Rheumatoid Arthritis: Early Di-

agnosis and Treatment // Med Clin North Am. 2021 Mar; 105(2):355-365. doi: 10.1016/j.mcna.2020.10.006.

8. Deane KD, Holers VM. Rheumatoid Arthritis Pathogenesis, Prediction, and Prevention: An Emerging Paradigm Shift. // Arthritis Rheumatol. 2021 Feb;73(2):181-193. doi: 10.1002/art.41417.

9. Diagnostic performance of anti-RA33 antibody as a serological marker for rheumatoid arthritis / Syed Mohamed Suhail SM, Nur Atiqah I, Nur Salimi Zakirah ZA, Lailatul Syazwani Z, Batis WW, Md Monoto EM, Abdul Wahab A, Mohd Shahrir MS. // Malays J Pathol. 2019 Dec;41(3):259-265.

10. Diagnostic value of semi-quantitative

grading of musculoskeletal ultrasound in wrist and hand lesions of subclinical synovitis in rheumatoid arthritis / Huang Y, Liu KJ, Chen GW, Liu JF, Mo FQ, Xie YH. // Am J Nucl Med Mol Imaging. 2022 Feb 15;12(1):25-32.

11. Kolarz B, Podgorska D, Podgorski R. Insights of rheumatoid arthritis biomarkers. // Biomarkers. 2021 May;26(3):185-195. doi: 10.1080/1354750X.2020.1794043.

12. Seronegative rheumatoid arthritis: one year in review 2023. / De Stefano L, D'Onofrio B, Gandolfo S, Bozzalla Cassione E, Mauro D, Manzo A, Ciccio F, Bugatti S. // Clin Exp Rheumatol. 2023 Mar;41(3):554-564. doi: 10.55563/clinexp Rheumatol/go7g26.

DOI 10.25789/YMJ.2024.88.03

УДК 616.12-008.46

И.А. Мустафина, В.А. Маркелов, В.А. Солнцев, К.В. Данилко, Н.Ш. Загидуллин

## РАЗЛИЧНЫЙ УРОВЕНЬ ЭКСПРЕССИИ микроРНК (miR-30c-5p, miR-221-3p И miR-375-3p) У ПАЦИЕНТОВ С СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ С СОХРАНЕННОЙ И СНИЖЕННОЙ ФРАКЦИЕЙ ВЫБРОСА

Проведен сравнительный анализ экспрессии генов микроРНК miR-148b-3p, miR-30c-5p, miR-221-3p, miR-328-3p, miR-146a-5p, miR-375-3p, miR-22-3p, miR-15b-3p, miR-148a-3p, miR-590-5p в мононуклеарах периферической крови (PBMC) и эпикардальной жировой ткани больных ишемической болезнью сердца (ИБС) с сердечной недостаточностью (СН) и без неё (без СН).

Среди больных ИБС с СН сравнивались группы со сниженной/умеренной и сохраненной фракцией выброса (СНн/уФВ и СНсФВ соответственно). Выявлено статистически значимое увеличение экспрессии микроРНК miR-30c-5p, miR-221-3p и miR-375-3p в PBMC больных СНн/уФВ и СНсФВ в сравнении с группой больных ИБС без СН. Соответственно относительный уровень экспрессии miR-30c-5p в PBMC пациентов СНн/уФВ статистически значимо выше относительно пациентов без СН ( $P < 0,0001$ ). Экспрессия данной микроРНК в PBMC пациентов СНсФВ относительно пациентов без СН статистически значимо выше ( $P < 0,0001$ ). Уровень экспрессии miR-221-3p в PBMC пациентов СНсФВ увеличен в 4,04 раза относительно пациентов без СН ( $P < 0,0001$ ). В PBMC пациентов СНн/уФВ выявлено увеличение экспрессии miR-221-3p в 2,63 раза ( $P < 0,0001$ ). Экспрессия микроРНК miR-375-3p в PBMC больных СНн/уФВ и СНсФВ в сравнении с пациентами без СН статистически значимо выше ( $P < 0,0001$ ). Для всех прочих исследуемых микроРНК не было выявлено значимых изменений экспрессии в PBMC. Аналогично нами не было выявлено значимых изменений экспрессии ни для одного из исследуемых генов микроРНК в эпикардальной жировой ткани больных ИБС.

Таким образом, полученные данные могут быть использованы для определения роли исследуемых микроРНК в патогенезе СН у больных ИБС.

**Ключевые слова:** сердечная недостаточность, сохранённая фракция выброса, пониженная фракция выброса, микроРНК.

ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России, Уфа: **МУСТАФИНА Ирина Аликовна** – к.м.н., доцент, н.с. НИИ кардиологии, irinmustaf@yandex.ru, ORCID 0000-0002-8314-9032, **МАРКЕЛОВ Виталий Андреевич** – м.н.с. Института фундаментальной медицины, marckelow.vitalick2017@yandex.ru, РИНЦ SPIN-код: 6066-8277, ORCID 0000-0002-0663-7219, **СОЛНЦЕВ Вадим Алексеевич** – м.н.с. Института фундаментальной медицины, vadim.solncev@inbox.ru, ORCID 0009-0001-1004-917X, **ДАНИЛКО Ксения Владимировна** – к.б.н., зав. лаб. Института фундаментальной медицины, kse-danilko@yandex.ru, ORCID 0000-0002-4374-2923, **ЗАГИДУЛЛИН Науфаль Шамильевич** – д.м.н., проф., зав. кафедрой, znaufal@mail.ru, ORCID 0000-0003-2386-6707.

A comparative analysis of the gene expression of microRNAs miR-148b-3p, miR-30c-5p, miR-221-3p, miR-328-3p, miR-146a-5p, miR-375-3p, miR-22-3p, miR-15b-3p, miR-148a-3p, miR-590-5p in peripheral blood mononuclear cells (PBMC) and epicardial adipose tissue of coronary heart disease (CHD) patients with and without HF (Non-HF) was carried out.

Among CHD patients with HF, the groups with mildly reduced/reduced and preserved ejection fraction (HFmr/rEF and HFpEF, respectively) were compared. Our study revealed a significant increase in the expression of miR-30c-5p, miR-221-3p and miR-375-3p microRNAs in PBMCs of patients with HFmr/rEF and HFpEF compared with the group of CHD patients without HF. Accordingly, the relative level of miR-30c-5p expression in PBMC of HFmr/rEF patients was significantly higher by 1.99 times in comparison with patients without HF ( $P < 0.0001$ ). The expression of this microRNA in PBMC of HFpEF patients relative to patients without HF is significantly higher by 2.94-fold ( $P < 0.0001$ ). The expression level of miR-221-3p in PBMC of HFpEF patients was increased 4.04-fold relative to patients without HF ( $P < 0.0001$ ). A 2.63-fold increase in miR-221-3p expression was detected in PBMC of HFmr/rEF patients ( $P < 0.0001$ ). The expression of miR-375-3p in PBMCs of HFmr/rEF and HFpEF patients compared with Non-HF patients was significantly higher by 2.09- and 1.77-fold ( $P < 0.0001$ ). For all other investigated microRNAs, no significant expression changes were detected in PBMC. Similarly, we did not detect significant expression changes for any of the investigated microRNA genes in the epicardial adipose tissue of CHD patients.

Thus, the obtained data can be used to determine the role of the investigated microRNAs in the pathogenesis of HF in CHD patients.

**Keywords:** heart failure, preserved ejection fraction, reduced ejection fraction, microRNA.

**Введение.** Сердечная недостаточность (СН) является одной из наиболее частых причин стационарного лечения и смертности во всем мире [2]. Данная патология увеличивает инвалидизацию и смертность населения [1, 6]. СН является клиническим синдромом, проявляющимся наличием типичных симптомов и признаков, вызванных нарушением структуры и/или функции сердца, приводящим к снижению сердечного выброса и/или повышению давления наполнения сердца в покое или при нагрузке [1]. Европейское общество кардиологов предоставляет рекомендации для определения СН на основе физического обследования, определения уровня натрийуретического пептида в плазме и эхокардиографического обследования, которое позволяет использовать фракцию выброса (ФВ) как основу для деления СН на три группы: СН с низким показателем ФВ - СНнФВ (ФВ  $\leq 40\%$ ), с умеренно сниженной ФВ - СНусФВ (40% < ФВ < 50%) и сохраненным показателем ФВ - СНсФВ (ФВ  $\geq 50\%$ ) [1, 8]. В то же время современные данные в области молекулярной биологии и генетики сердечно-сосудистых заболеваний диктуют необходимость их интеграции в исследовательскую и клиническую практику [7, 10].

Таким образом, анализ не кодирующих РНК, среди которых особенно выделяется группа микроРНК, может привести к углублению понимания механизмов развития СН с сохраненной и сниженной фракцией выброса. **Целью** исследования является анализ экспрессии генов микроРНК в мононуклеарах периферической крови и образцах эпикардальной жировой ткани (ЭЖТ) у пациентов с СН с сохраненной и сниженной фракцией выброса.

**Материал и методы.** Настоящее исследование носило одномоментный характер. Было включено 175 пациентов с ИБС и атеросклерозом коронарных артерий, которым показано проведение коронарного шунтирования. Из них у 138 пациентов была выявлена СН. Вследствие выраженного клинического сходства пациентов с СНнФВ с ФВ < 40% и СНусФВ с 40% < ФВ < 50% мы объединили их в одну группу СНн/усФВ с ФВ менее 50%. Соответственно пациенты были сгруппированы в три когорты: 1-я группа – пациенты без СН

(n=37), 2-я группа – СНн/усФВ (n=44), 3-я группа – СНсФВ (n=94).

СН с сохраненной и сниженной ФВ была диагностирована в соответствии с Рекомендациями Европейского общества кардиологов по диагностике и лечению острой и хронической СН 2021 г. Критериями включения в 1-ю группу были: отсутствие симптомов СН, ФВ по эхокардиографии  $\geq 50\%$ , нормальный уровень натрийуретического пептида. Критериями включения в 2-ю группу были: симптоматическая СН  $\geq$  II функционального класса по классификации Нью-Йоркской ассоциации сердца, сниженная ФВ левого желудочка < 50%, структурные изменения по эхокардиографии, повышенный уровень натрийуретического пептида. Критериями включения в группу 3 были: симптоматическая СН по классификации Нью-Йоркской ассоциации сердца  $\geq$  II класса, сохраненная ФВ левого желудочка  $\geq 50\%$ , структурные изменения по эхокардиографии, повышенный уровень натрийуретического пептида.

Исследование было одобрено локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России (протокол №11 от 15.11.2022). Всем пациентам проводили стандартное биохимическое обследование сыворотки крови с определением показателей липидного спектра, глюкозы, креатинина. Уровень натрийуретического пептида сыворотки крови исследовали иммуноферментным методом до оперативного лечения. Всем больным проводилось измерение индекса массы тела (ИМТ), окружности талии и бедер, выполнялось эхокардиографическое обследование. Все пациенты с ИБС регулярно получали терапию антиагрегантами, бета-адреноблокаторами, ингибиторами АПФ/сартанами, ингибиторами ГМГ-КоА-редуктазы в соответствии со стандартами лечения ИБС. Образцы ЭЖТ были получены (в количестве 3-5 г) при операции коронарного шунтирования из жировых депо, локализованных преимущественно вокруг правых отделов сердца в начале оперативного лечения. Жировая ткань была иссечена с использованием скальпеля.

Сбор периферической венозной крови осуществлялся методом рутинной венепункции. Изоляция РВМС с отбором плазмы осуществлялась по методу Bouym [3]. Форменные элемен-

ты крови разделяли центрифугированием на градиенте фиколла  $\rho = 1,077$ . Выделение РНК осуществлялось в соответствии с протоколом выделения тотальной РНК с использованием реагента «ExtractRNA» (Евроген, Россия) с последующим контролем качества РНК. Определение экспрессии микроРНК и гена «домашнего хозяйства» проводилось двумя этапами. Первый этап включал синтез комплементарной ДНК с использованием набора MMLV RT kit (Евроген, Россия). Второй этап выполнялся согласно инструкциям к наборам праймеров и зондов для ПЦР в реальном времени (ДНК-Синтез, Россия), с использованием неспецифических реагентов Евроген (Россия). Амплификация осуществлялась на приборе StepOne Plus (Applied Biosystems, США).

Уровень экспрессии генов микроРНК miR-22-3p, miR-15b-3p и miR-590-5p нормализовали относительно уровня экспрессии гена фермента глицеральдегид 3-фосфатдегидрогеназы (GAPDH). По причине более высокой стабильности для дальнейшего анализа экспрессии генов микроРНК 148b-3p, 30c-5p, 221-3p, 328-3p, 146a-5p и 375-3p использовался референсный ген бета-актина (ACTB). Дальнейшая оценка относительной экспрессии исследуемых генов микроРНК проводилась с использованием метода  $2^{-\Delta\Delta CT}$  (Livak, 2008) [11].

Последующая статистическая оценка полученных результатов выполнялась с использованием программы GraphPad Prism 8.0.1 (244). Для статистической обработки клинических данных использовалась программа SPSS Statistics 26. Количественные данные проверяли на нормальность распределения с использованием критерия Колмогорова–Смирнова. Для выявления статистических различий нормально распределенных данных применяли критерий Стьюдента и ANOVA для независимых выборок. Если данные не соответствовали условиям нормального распределения, использовали критерий Манна-Уитни.

**Результаты и обсуждение.** Распределение по полу было одинаковым во всех трех группах ( $p=0,14$ ). В 1-й и 2-й группах частота курения была выше, чем в 3-й группе ( $p=0,026$ ). Распределение сопутствующих заболеваний, таких как сахарный диабет,

хроническая обструктивная болезнь лёгких, инсульт, не различалось между всеми сформированными группами. Остальные лабораторные показатели были сопоставимы во всех группах исследования. Во 2-й группе по данным эхокардиографии выявлено значимое повышение показателей массы миокарда левого желудочка и объёма левого желудочка. Все клинические данные представлены в таблице.

с экспрессией *SIRT1* и таким образом может усиливать воспалительную реакцию и апоптоз клеток миокарда [14]. Поскольку статистически значимых различий в экспрессии miR-30с-5р между 2-й и 3-й группами в нашем исследовании не обнаружено, можно предположить, что увеличение экспрессии miR-30с-5р обладает диагностическим потенциалом в отношении пациентов с СНн/уФВ.

Уровень экспрессии miR-221-3р в PBMC 3-й группы увеличен в 4,04 раза по сравнению с 1-й группой ( $P < 0,0001$ ). В PBMC пациентов 2-й группы также выявлено увеличение экспрессии miR-221-3р в 2,63 раза ( $P < 0,0001$ ).

Повышенная экспрессия miR-221-3р выявлена в сердечной ткани пациентов с СН, что объясняется его регуляторной функцией в отношении фактора 1, индуцированного гипоксии.

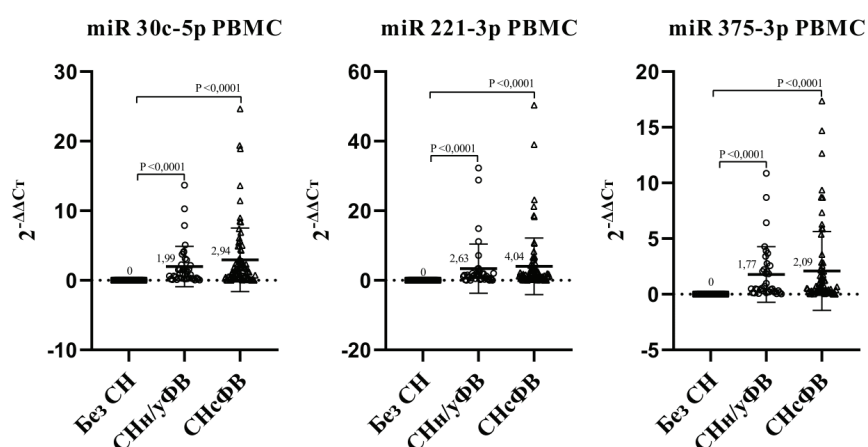
#### Результаты клинического обследования исследуемых больных, включая лабораторные и эхокардиографические показатели

Параметры	1-я группа (Г1) Без СН n=37	2-я группа (Г2) СНн/уФВ n=44	3-я группа (Г3) СНсФВ n=94	Г1/Г2	Г1/Г3	Г2/Г3
	P					
Возраст, лет	59,52±8,41	62,19±8,82	67,47±7,10	0,17	0,001	0,001
Мужской пол, %	30 (81)	35 (79,5)	63 (67)	0,14		
ИМТ, кг/м²	28,20±4,51	32,94±13,41	29,08±4,37	0,25	0,55	0,11
Сахарный диабет, %	10 (27)	17 (38,6)	23 (24,5)	0,16		
Фибрилляция предсердий, %	0 (0)	2 (4,54)	9 (9,6)	0,13		
Курение, %	12 (32,4)	12 (27,3)	13 (13,8)	0,026		
ХОБЛ, %	10 (27)	18 (40,9)	35 (37,2)	0,38		
ОНМК, %	4 (10,8)	7 (15,9)	11 (11,7)	0,68		
Лабораторные показатели						
Натрийуретический пептид, пг/мл	237,17±75,63	1273,19±607,53	1125,92±749,52	0,001	0,001	0,33
Креатинин, мкмоль/л	102,89±17,39	101,65±21,94	106,24±20,54	0,84	0,52	0,39
Глюкоза, ммоль/л	7,30±3,04	7,18±2,74	6,23±2,14	0,12	0,096	0,89
Холестерин, ммоль/л	5,34±1,44	4,65±1,16	4,59±1,08	0,85	0,023	0,11
Эхокардиографические показатели						
Фракция выброса, %	60,75±5,18	41,15±5,53	60,63±4,72	0,001	0,90	0,001
Масса миокарда левого желудочка	221,40±48,97	268,55±64,43	210,89±48,31	0,001	0,28	0,001
Индекс массы миокарда левого желудочка	116,74±31,46	151,31±27,46	110,79±26,47	0,005	0,52	0,001
Конечный систолический объём, мл	47,93±12,39	91,05±28,96	44,91±11,29	0,001	0,21	0,001
Конечный диастолический объём, мл	122,90±20,16	162,79±32,04	117,85±20,11	0,001	0,22	0,001

Примечание. Клинические показатели приведены в виде среднего и стандартного отклонения. ХОБЛ – хроническая обструктивная болезнь лёгких; ОНМК – острое нарушение мозгового кровообращения.

В нашем исследовании выявлено статистически значимое увеличение экспрессии микроРНК miR-30с-5р, miR-221-3р и miR-375-3р в PBMC пациентов 3-й и 2-й групп в сравнении с 1-й группой (рисунок). Соответственно относительный уровень экспрессии miR-30с-5р в PBMC 2-й группы статистически значимо выше в 1,99 раза относительно 1-й группы ( $P < 0,0001$ ). Экспрессия данной микроРНК в PBMC 3-й группы относительно 1-й группы статистически значимо выше в 2,94 раза ( $P < 0,0001$ ).

Изменение экспрессии miR-30с-5р обладает высоким диагностическим потенциалом в отношении СНсФВ (3-я группа) [4]. Вероятно, это связано с тем, что повышенная экспрессия miR-30с-5р отрицательно коррелирует



Сравнительный анализ экспрессии miR-30с-5р, miR-221-3р и miR-375-3р в PBMC среди различных групп пациентов с ИБС с СН и без неё. Графики демонстрируют достоверное изменение относительного уровня экспрессии miR-30с-5р, miR-221-3р и miR-375-3р в PBMC пациентов с ИБС с СН относительно пациентов с ИБС без СН.



ей (HIF-1) [12]. Помимо этого, miR-221-3p подавляет экспрессию гена *SIRT2* и таким образом стимулирует старение кардиомиоцитов [16], а также способствует фиброзу сердца [9]. Соответственно, результаты нашего исследования могут указывать на системный эффект увеличения уровня экспрессии miR-221-3p. Учитывая отсутствие изменений экспрессии miR-221-3p в ЭЖТ, можно предположить отсутствие паракринного влияния. Это обуславливает необходимость дальнейших исследований с целью уточнения конкретных механизмов развития данного состояния.

В нашем исследовании экспрессия микроРНК miR-375-3p в РВМС пациентов 3-й и 2-й групп была увеличена в 2,09 и 1,77 раза соответственно по сравнению с 1-й группой ( $P < 0,0001$ ). MiR-375-3p может усиливать гипертрофию сердца и, таким образом, способствовать развитию СН [13]. Соответственно, наблюдаемое в нашем исследовании статистически значимое увеличение объемов левого желудочка у пациентов с СНн/уФВ и значимое повышение экспрессии miR-375-3p в РВМС у пациентов с СНн/уФВ, вероятнее всего, взаимосвязаны. Дополнительным подтверждением этого является то, что угнетение miR-375-3p усиливает функцию левого желудочка, снижая апоптоз кардиомиоцитов, и, таким образом, обладает терапевтическим эффектом в отношении СН [15].

Таким образом, полученные нами результаты в целом согласуются с литературными данными. В то же время в нашем исследовании экспрессия miR-375-3p не демонстрировала статистически значимых различий между группами СНсФВ и СНн/уФВ ( $P = 0,7565$ ). Хотя существующие литературные источники указывают на различия в экспрессии miR-375-3p у пациентов с СНсФВ и СНнФВ [5], данное несоответствие, вероятно, связано с объединением пациентов с СНусФВ и СНнФВ в единую исследуемую группу. Необходимо указать, что для всех прочих исследуемых микроРНК не было выявлено значимых изменений экс-

прессии в РВМС. Ни одна из исследуемых микроРНК не показала значимых изменений экспрессии в ЭЖТ.

**Выводы.** В результате нашего исследования выявлено статистически значимое повышение экспрессии микроРНК miR-30c-5p, miR-221-3p и miR-375-3p в РВМС у пациентов с ИБС и сердечной недостаточностью (СН) с сохраненной и сниженной/умеренной фракцией выброса (СНсФВ и СНн/уФВ) по сравнению с пациентами без СН. Экспрессия miR-30c-5p в РВМС у пациентов с СНн/уФВ была в 1,99 раза выше по сравнению с группой пациентов без СН, тогда как в группе пациентов с СНсФВ уровень экспрессии данной микроРНК был выше в 2,94 раза ( $P < 0,0001$ ). Экспрессия miR-221-3p в РВМС у пациентов с СНсФВ была увеличена в 4,04 раза, а у пациентов с СНн/уФВ – в 2,63 раза ( $P < 0,0001$ ). Экспрессия miR-375-3p была статистически значимо выше в 2,09 раза в группе пациентов с СНн/уФВ и в 1,77 раза – в группе с СНсФВ ( $P < 0,0001$ ). Значимых изменений экспрессии других исследуемых микроРНК в РВМС, а также экспрессии всех исследуемых микроРНК в эпикардальной жировой ткани не наблюдалось.

Полученные данные обладают ценностью для понимания роли изучаемых микроРНК в патогенезе СН у пациентов с ИБС. Наши результаты могут быть использованы для проведения дальнейших исследований механизмов развития СН. Лучшее понимание патогенетических процессов, связанных с микроРНК, может быть использовано для создания новых стратегий оценки риска развития СН у пациентов с ИБС.

*Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 21-75-00065.*

## Литература

1. 2021 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure: Developed by the Task Force for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure of the European Society of Cardiology (ESC). With the special contribution of the Heart Failure Association (HFA) of the ESC. Eur J Heart

Fail. 2022; 24(1): 4-131. DOI: 10.1002/ehf.2333.

2. Banerjee A, Mendis S. Heart failure: the need for global health perspective. Curr Cardiol Rev. 2013; 9(2): 97-8. DOI: 10.2174/1573403x11309020001.

3. Böyum A. Separation of leukocytes from blood and bone marrow. Introduction. Scand J Clin Lab Invest Suppl. 1968; 97: 7.

4. Parvan R, et al. Diagnostic performance of microRNAs in the detection of heart failure with reduced or preserved ejection fraction: a systematic review and meta-analysis. Eur J Heart Fail. 2022; 24(12): 2212-2225. DOI: 10.1002/ehf.2700.

5. Zhang L, et al. Diagnostic value of circulating microRNA-19b in heart failure. Eur J Clin Invest. 2020; 50(11): e13308. DOI: 10.1111/eci.13308.

6. Groenewegen A, et al. Epidemiology of heart failure. Eur J Heart Fail. 2020; 22(8): 1342-1356. DOI: 10.1002/ehf.1858.

7. Hahn MW, Wray GA. The g-value paradox. Evol Dev. 2002; 4(2): 73-5. DOI: 10.1046/j.1525-142x.2002.01069.x.

8. Savarese G, et al. Heart failure with mid-range or mildly reduced ejection fraction. Nat Rev Cardiol. 2022; 19(2): 100-116. DOI: 10.1038/s41569-021-00605-5.

9. Jin Z. Q. MicroRNA targets and biomarker validation for diabetes-associated cardiac fibrosis. Pharmacol Res. 2021; 174:105941. DOI: 10.1016/j.phrs.2021.105941.

10. Liu G, Mattick JS, Taft RJ. A meta-analysis of the genomic and transcriptomic composition of complex life. Cell Cycle. 2013; 12(13): 2061-72. DOI: 10.4161/cc.25134.

11. Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2-(Delta Delta C(T)) Method. Methods. 2001; 25(4): 402-8. DOI: 10.1006/meth.2001.1262.

12. Ning BB, et al. Luteolin-7-glucuronide attenuates isoproterenol-induced myocardial injury and fibrosis in mice. Acta Pharmacol Sin. 2017; 38(3): 331-341. DOI: 10.1038/aps.2016.142.

13. Feng H, et al. MicroRNA-375-3p inhibitor suppresses angiotensin II-induced cardiomyocyte hypertrophy by promoting lactate dehydrogenase B expression. J Cell Physiol. 2019; 234(8): 14198-14209. DOI: 10.1002/jcp.28116.

14. Chen J, et al. Rno-microRNA-30c-5p promotes myocardial ischemia reperfusion injury in rats through activating NF-κB pathway and targeting SIRT1. BMC Cardiovasc Disord. 2020; 20(1): 240. DOI: 10.1186/s12872-020-01520-2.

15. Garikipati VNS, et al. Therapeutic inhibition of miR-375 attenuates post-myocardial infarction inflammatory response and left ventricular dysfunction via PDK-1-AKT signalling axis. Cardiovasc Res. 2013(8): 938-949. DOI: 10.1093/cvr/cvx052.

16. Ruddick-Collins LC, et al. Timing of daily calorie loading affects appetite and hunger responses without changes in energy metabolism in healthy subjects with obesity. Cell Metab. 2022; 34(10): 1472-1485.e6. DOI: 10.1016/j.cmet.2022.08.001.