



МикроРНК в циркулирующих экзосомах как потенциальные биомаркеры церебрального атеросклероза: результаты сравнительного профилирования

А.А. Раскуражев, А.А. Шабалина, П.И. Кузнецова, В.А. Аннушкин, М.М. Танащян

Российский центр неврологии и нейронаук, Москва, Россия

Аннотация

Введение. Церебральный атеросклероз (ЦА) остаётся одной из ведущих причин ишемических цереброваскулярных заболеваний, при этом молекулярные маркеры, характеризующие активность и механизмы атерогенеза в церебральных артериях, изучены недостаточно. Экзосомальная экспрессия микроРНК может являться перспективным биомаркером ЦА, отражающим уровень эпигенетической регуляторной нагрузки.

Цель исследования – выявить профиль экзосомальных микроРНК, ассоциированный с ЦА, и оценить их потенциал в качестве биомаркеров на основе сравнительного профилирования.

Материалы и методы. В проспективное исследование включены пациенты стационара РЦНН: группа ЦА ($n = 43$; медиана возраста 68 лет) с атеросклерозом экстра/интракраниальных артерий по данным ангиовизуализации и группа сравнения с неатеросклеротическими формами цереброваскулярной патологии ($n = 17$; медиана возраста 46 лет). Из сыворотки крови выделяли экзосомы и экзосомальную РНК («ЕхоQuick»), выполняли амплификацию (SeraMir) и профилирование 384 микроРНК методом ПЦР в реальном времени. После контроля качества для анализа сохранены 337 эндогенных микроРНК. Нормализацию проводили методом глобального среднего с расчётом ΔCt ; дифференциальную экспрессию оценивали с использованием lim_{tma} (эмпирическая байесовская коррекция), критерии значимости: скорректированное значение $p < 0,1$ и $|\log_2 FC| > 0,5$. Дополнительно выполнен сетевой анализ микроРНК-таргетных генов (miRTarBase/MIENTURNET) с функциональной аннотацией.

Результаты. У пациентов с ЦА выявлены 9 экзосомальных микроРНК со статистически значимой дифференциальной экспрессией, причём во всех случаях изменения были однонаправленными – снижение уровня в группе ЦА: *hsa-miR-18a*, *hsa-miR-539*, *hsa-miR-20a*, *hsa-miR-100*, *hsa-miR-10b*, *hsa-let-7f*, *hsa-miR-148b*, *hsa-miR-187*, *hsa-miR-374a*. При визуализации топ-30 микроРНК с минимальным скорректированным значением p наблюдалась единая тенденция к более низкой экспрессии у пациентов с ЦА, а кластеризация образцов в целом соответствовала клиническим группам. Сетевой анализ указал на гены-хабы, потенциально вовлечённые в эндотелиальную дисфункцию и эпигенетическую регуляцию (*DNMT1*, *MSL3*, *SMCHD1*), липидный обмен и противовоспалительный сигналинг (*RORA*, *NSOAB*), окислительный стресс/активацию макрофагов (*SESN3*), пролиферацию гладкомышечных клеток сосудов (*CCND1*, *CTDSPL2*), клеточную миграцию и сосудистое ремоделирование (*PAFAN1B1*, *VTBD7*).

Заключение. Церебральный атеросклероз ассоциирован с однонаправленным снижением экспрессии ряда микроРНК в составе циркулирующих экзосом. Полученные данные указывают на потенциальную роль экзосомальных микроРНК в молекулярных механизмах ЦА и обосновывают целесообразность дальнейших исследований их диагностического и патогенетического значения.

Ключевые слова: церебральный атеросклероз; микроРНК; циркулирующие экзосомы; биомаркеры

Этическое утверждение. Исследование одобрено локальным этическим комитетом Российского центра неврологии и нейронаук (протокол № 11-4/19 от 20.11.2019) и проведено в соответствии с положениями Хельсинкской декларации. Всеми участниками подписано добровольное информированное согласие.

Источник финансирования. Грант Минобрнауки России на проведение крупных научных проектов по приоритетным направлениям научно-технологического развития, соглашение № 075-15-2024-638.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Адрес для корреспонденции: 125367, Россия, Москва, Волоколамское шоссе, д. 80. Российский центр неврологии и нейронаук. E-mail: raskurazhev@neurology.ru. Раскуражев А.А.

Для цитирования: Раскуражев А.А., Шабалина А.А., Кузнецова П.И., Аннушкин В.А., Танащян М.М. МикроРНК в циркулирующих экзосомах как потенциальные биомаркеры церебрального атеросклероза: результаты сравнительного профилирования. *Анналы клинической и экспериментальной неврологии.* 2026;20(1):8–18.

DOI: <https://doi.org/10.17816/ACEN.1479>

EDN: <https://elibrary.ru/CEDYYR>

Поступила 28.01.2026 / Принята в печать 25.02.2026 / Опубликовано 30.03.2026

MicroRNA Expression in Circulating Exosomes as Potential Cerebral Atherosclerosis Biomarkers: Comparative Profiling Study

Anton A. Raskurazhev, Alla A. Shabalina, Polina I. Kuznetsova, Vladislav A. Annushkin, Marine M. Tanashyan

Russian Center of Neurology and Neurosciences, Moscow, Russia

Abstract

Introduction. Cerebral atherosclerosis (CA) remains a leading cause of ischemic cerebrovascular diseases, while molecular markers characterizing the activity and mechanisms of atherogenesis in cerebral arteries are insufficiently studied. Exosomal microRNA expression may serve as a promising biomarker for CA, reflecting the level of epigenetic regulatory burden.

The study aimed to identify the CA-associated exosomal microRNA profile and evaluate its potential as biomarkers through comparative profiling. **Materials and methods.** This prospective study included inpatients of the Research Center of Neurology and Neurosciences: a CA group ($n = 43$; median age 68 years) with extra-/intracranial atherosclerosis confirmed by angiographic imaging, and a control group with non-atherosclerotic cerebrovascular diseases ($n = 17$; median age 46 years). Exosomes and exosomal RNA were isolated from blood serum (ExoQuick), followed by amplification (SeraMir) and profiling of 384 microRNAs via real-time PCR. After quality control, 337 endogenous microRNAs were retained for analysis. Normalization was performed using the global mean method with ΔC_t calculation; differential expression was assessed with limma (empirical Bayes correction), with significance thresholds set at adjusted p -value < 0.1 and $|\log_2 FC| > 0.5$. Additionally, a network analysis of microRNA-target genes (miRTarBase/MIENTURNET) with functional annotation was conducted.

Results. Patients with CA exhibited 9 exosomal microRNAs with statistically significant differential expression, with all changes being unidirectional – a decrease of microRNA levels in the CA group: hsa-miR-18a, hsa-miR-539, hsa-miR-20a, hsa-miR-100, hsa-miR-10b, hsa-let-7f, hsa-miR-148b, hsa-miR-187, hsa-miR-374a. Visualization of the top 30 microRNAs with the smallest adjusted p -value revealed a consistent trend toward lower expression in patients with CA, and sample clustering generally corresponded to clinical groups. Network analysis identified hub genes potentially involved in endothelial dysfunction and epigenetic regulation (DNMT1, MSL3, SMCHD1), lipid metabolism and anti-inflammatory signaling (RORA, NCOA6), oxidative stress/macrophage activation (SESN3), vascular smooth muscle cell proliferation (CCND1, CTDSPL2), and cell migration and vascular remodeling (PAFAH1B1, BTBD7).

Conclusion. Cerebral atherosclerosis is associated with a unidirectional decrease in the expression of several microRNAs in circulating exosomes. These findings indicate the potential role of exosomal microRNAs in the CA molecular mechanisms and justify further investigation into their diagnostic and pathogenetic significance.

Keywords: cerebral atherosclerosis; microRNA; circulating exosomes; biomarkers

Ethics approval. The research protocol was approved by the Local Ethics Committee of the of the Russian Center of Neurology and Neurosciences (Protocol No. 11-4/19 dated November 20, 2019). The study was conducted with the informed consent of the patients.

Source of funding. This work was supported by a grant from the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation for major scientific projects in priority areas of scientific and technological development (project # 075-15-2024-638).

Conflict of interest. The authors declare that there are no obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

For correspondence: 80 Volokolamskoye shosse, Moscow, Russia, 125367. Russian Center of Neurology and Neurosciences. E-mail: raskurazhev@neurology.ru. Anton A. Raskurazhev.

For citation: Raskurazhev A.A., Shabalina A.A., Kuznetsova P.I., Annushkin V.A., Tanashyan M.M. MicroRNA expression in circulating exosomes as potential cerebral atherosclerosis biomarkers: comparative profiling study. *Annals of Clinical and Experimental Neurology*. 2026;20(1):8–18.

DOI: <https://doi.org/10.17816/ACEN.1479>

EDN: <https://elibrary.ru/CEDYYR>

Received 28.01.2026 / Accepted 25.02.2026 / Published 30.03.2026

Введение

Церебральный атеросклероз (ЦА) – хроническое воспалительное заболевание артерий, кровоснабжающих головной мозг, сопровождающееся отложением окисленных липопротеинов в сосудистой стенке. Это распространённое состояние является причиной более трети ише-

мических нарушений мозгового кровообращения, однако существующие подходы к его лечению и профилактике (в частности, антиагрегантная, гиполипидемическая, противовоспалительная терапия) не позволяют добиться уверенного снижения удельного вклада ЦА в структуру заболеваемости и смертности от цереброваскулярных заболеваний.

Атерогенез (вне зависимости от локализации) включает в себя ряд относительно последовательных патологических процессов: дисфункцию эндотелия, субинтимальное проникновение липидов, воспалительную инфильтрацию с образованием пенных клеток, формирование атеросклеротической бляшки [1]. Разрыв последней (общепотребим термин «нестабильная» бляшка) ведёт к тромбозу *in situ* и развитию инсульта по механизму атеротромбоза или артерио-артериальной эмболии; в случае длительного прогрессирования ЦА возможно развитие гемодинамического подтипа инсульта вследствие выраженного стеноза или окклюзии магистральной артерии. Так или иначе, развитие и прогрессирование ЦА представляет собой сложный, многокомпонентный процесс, в котором задействовано большое число клеточных, биохимических и эпигенетических взаимодействий. К последним, в частности, относятся альтерации микроРНК (некодирующие олигонуклеотиды, которые обеспечивают посттранскрипционную модификацию экспрессии генов) – значимые регуляторные механизмы большинства биологических процессов [2].

В Российском центре неврологии и нейронаук (РЦНН) проведены приоритетные исследования по изучению роли лейкоцитарной экспрессии и циркулирующих микроРНК. Так, описаны про- и антиатерогенные микроРНК [3, 4], паттерн экспрессии ряда микроРНК, ассоциированных с различными патогенетическими этапами атерогенеза. В свете открытий последних лет отдельный интерес в этом направлении представляет изучение микроРНК, циркулирующих в составе экзосом – малых (диаметром 40–160 нм) внеклеточных везикул эндосомального происхождения, которые секретируются почти всеми типами клеток и окружены фосфолипидным бислоем, внутри которого содержатся белки, липиды и нуклеиновые кислоты, отражающие происхождение клетки-донора [5]. Ранее эти структуры рассматривались исключительно в контексте удаления внутриклеточного «мусора» – в настоящее время считается, что они играют ключевую роль в межклеточной коммуникации и сигнализации, участвуя в регуляции физиологических и патологических процессов, и активно изучаются как биомаркеры и потенциальные терапевтические агенты для диагностики и таргетной доставки молекул [6]. Экзосомы защищают микроРНК от деградации, участвуют в их селективной сортировке и транспорте, отражают функциональное состояние клеток-источников, включая эндотелий, гладкомышечные клетки (ГМК) сосудов, макрофаги и тромбоциты. В отличие от общей циркулирующей фракции микроРНК, экзосомальный пул несёт дополнительную биологическую информацию, связанную не только с уровнем экспрессии, но и с активными механизмами секреции и межклеточного сигналинга [7].

Имеются данные о роли экзосомальных микроРНК при коронарном атеросклерозе и других формах сердечно-сосудистой патологии, а сведения об их участии в патогенезе ЦА остаются минимальными [8, 9]. Часть исследований выполнена на малых выборках, часто без учёта локализации сосудистого поражения, а данные, полученные на плазменной или лейкоцитарной фракции, не всегда воспроизводимы при анализе экзосом. Кроме того, практически отсутствуют работы, посвящённые си-

стемному профилированию экзосомальных микроРНК у пациентов с атеросклеротическим поражением экстра- и интракраниальных артерий.

В этой связи комплексный анализ экзосомальных микроРНК у пациентов с ЦА представляет собой актуальную научную и клиническую задачу, направленную на углубление понимания молекулярных механизмов заболевания и поиск новых диагностических и прогностических маркёров.

Материалы и методы

В данное проспективное исследование были включены пациенты, проходившие в 2023–2025 гг. стационарное лечение в РЦНН. Основным критерием включения в группу исследования было наличие по данным ангиовизуализационного исследования (дуплексное сканирование и/или магнитно-резонансная/компьютерно-томографическая ангиография) атеросклероза экстра/интракраниальных артерий ($n = 43$; медиана возраста 68 лет). Группа сравнения была представлена пациентами с другими формами цереброваскулярной патологии неатеросклеротического генеза ($n = 17$; медиана возраста 46 лет). Исследование одобрено локальным этическим комитетом Российского центра неврологии и нейронаук (протокол № 11-4/19 от 20.11.2019) и проведено в соответствии с положениями Хельсинкской декларации. Всеми участниками подписано добровольное информированное согласие.

Образцы крови для лабораторных исследований были получены при кубитальной венепункции в утренние часы натощак с использованием вакуумных систем и пробирок с активатором свёртывания и гелем (сыворотка). Получение, транспортировка, хранение образцов и другие условия преаналитического этапа выполнены в соответствии с Национальным стандартом РФ. Полученную сыворотку крови аликвотировали и замораживали при -80°C . Выделение экзосомальных микроРНК из образцов сыворотки крови проводили в 3 этапа с использованием коммерческого набора «ExoQuick Exosome Isolation and RNA Purification Kit» (for Serum & Plasma, «SBI»). Непосредственно для определения экзосомальных микроРНК использовали набор «SeraMir Exosome RNA Amplification Kit» («SBI»). Во всех образцах пациентов определяли профиль экспрессии 384 экзосомальных микроРНК. На каждый образец использовали 384-луночный химически чистый, пустой (DNA and RNA free) планшет, в который вносили 384 готовых праймера из набора. Далее проводили ПЦР в режиме реального времени на амплификаторе «Veriti» («Veriti Thermo FS») с 384-луночной плашкой с использованием внутреннего программного обеспечения.

Статистический анализ осуществляли с помощью языка программирования R v. 4.4.1 в программной оболочке RStudio (v. 2025.05.1) с подключаемыми модулями: «tidyverse», «gtsummary», «corrplot», «pheatmap», «igraph», «ggplot2», «ggrepel», «scales», «circlize». Описательную статистику проводили с помощью медианы и указания верхнего и нижнего квартилей (для непрерывных переменных) или частот (для дискретных переменных). Для сравнения двух независимых групп использовали тест

Вилкоксона–Манна–Уитни (непрерывные величины) или тест χ^2 Пирсона (в случае дискретных величин). Уровни экспрессии экзосомальной микроРНК нормализовали с использованием глобального среднего значения всех обнаруженных в образце эндогенных микроРНК и дальнейшим вычислением ΔCt по каждой микроРНК. Поскольку анализ проводили на основе ΔCt , положительное значение контраста соответствует более высокому ΔCt в группе атеросклероза, то есть более низкому уровню экспрессии. Статистическую значимость дифференциальной экспрессии оценивали с использованием линейных моделей (*limma*) с последующей эмпирической байесовской коррекцией дисперсий, что обеспечивает стабильные оценки при ограниченном числе биологических повторов. Основной дифференциальный анализ экспрессии микроРНК проводили без ковариатной коррекции в связи с пилотным характером исследования и ограниченным размером выборки. Для оценки потенциального влияния демографических и клинических конфаундеров был дополнительно выполнен анализ чувствительности. Для 9 микроРНК, идентифицированных в основном анализе, использовали линейные регрессионные модели, включающие группу сравнения, возраст, пол и наличие сахарного диабета в качестве ковариат (p_{cov}).

Тепловая карта была построена на основе нормализованных значений $-\Delta Ct$ для 30 наиболее значимых микроРНК, отобранных по минимальному скорректированному значению p (False Discovery Rate, FDR). Цветовая шкала варьировала от синего (низкая экспрессия) до красного (высокая экспрессия). Иерархическую кластеризацию проводили с использованием евклидова расстояния и метода Ward. Аннотация строк отражала принадлежность образцов к группам: контроль (светло-серый) и атеросклероз (тёмно-серый). Тепловую карту использовали исключительно как визуализацию структуры данных и однонаправленности изменений, а не как статистический тест. Гены, выявленные в оптимальной сети взаимодействий микроРНК–таргетные гены, были функционально аннотированы с использованием баз данных Gene Ontology, KEGG и Reactome. На основании их преимущественного участия в эндотелиальной дисфункции, липидном обмене, воспалительной сигнализации, окислительном стрессе, пролиферации ГМК сосудов и сосудистом ремоделировании гены были отнесены к соответствующим стадиям атерогенеза. Уровень значимости был 0,1, все тесты были двусторонними.

Результаты

Общеклиническая характеристика включённых в исследование пациентов приведена в табл. 1. Основная

группа была представлена пациентами с ЦА, из которых 15 (35%) пациентов перенесли ипсилатеральное нарушение мозгового кровообращения (давность более 6 мес) с соответствующей бассейну клинической картиной. Остальные пациенты с точки зрения ЦА соответствовали критериям «асимптомности», однако у большинства присутствовала неспецифическая симптоматика (лёгкие/субъективные когнитивные расстройства, жалобы на шум/головокружение и т. д.). Пациенты группы сравнения были статистически значимо моложе пациентов с ЦА (46 и 68 лет; $p < 0,001$). По полу отмечалась тенденция к различию долей (женщины 53%, мужчины 28%; $p = 0,067$), что при ограниченном размере выборки не позволяет трактовать группы как полностью сопоставимые. Также в этой группе были 2 (12%) пациента с ранее перенесёнными нарушениями мозгового кровообращения неатеротромботического генеза. В целом ожидаемая коморбидная нагрузка в основной группе была выше – так, сахарный диабет

Исходя из основной цели исследования всем пациентам было выполнено профилирование экзосомальных микроРНК. После контроля качества, включая удаление внешних контролей (*spike-in*), контрольных лунок без шаблона, плацентарно-специфичных микроРНК (например, miR-324-3p, miR-369-5p) и низкоэкспрессируемых микроРНК (обнаруженных менее чем в 5 образцах в каждой группе), для анализа дифференциальной экспрессии было сохранено 337 эндогенных микроРНК.

Нормализация данных была выполнена с использованием глобального среднего значения всех обнаруженных в образце эндогенных микроРНК и дальнейшим вычислением ΔCt по каждой микроРНК. Анализ дифференциальной экспрессии проводили с помощью метода *limma* с эмпирической байесовской коррекцией, а статистическую значимость определяли как $FDR < 0,1$ и $|\log_2 FC| > 0,5$ (что соответствует изменению более чем в 1,4 раза). В итоге была обнаружена статистически значимая дифференциальная экспрессия 9 экзосомальных микроРНК (рис. 1), причём исключительно в сторону её снижения у пациентов с ЦА (табл. 2; рис. 2).

Для визуализации паттернов экспрессии наиболее значимых микроРНК была построена тепловая карта 30 микроРНК с наименьшими значениями FDR (рис. 3). На карте видно, что все выявленные дифференциально экспрессируемые микроРНК имеют сниженный уровень в группе пациентов с атеросклерозом по сравнению с группой сравнения. Иерархическая кла-

Таблица 1. Общеклиническая характеристика пациентов

Показатель		Все пациенты (N = 60)	ЦА (N = 43)	Группа сравнения (N = 17)	p
Возраст, лет	Me [Q ₁ ; Q ₃]	65 [52; 72]	68 [60; 72]	46 [45; 53]	< 0,001
Женщины	n/N (%)	21/60 (35)	12/43 (28)	9/17 (53)	0,067
Инсульт	n/N (%)	17/60 (28)	15/43 (35)	2/17 (12)	0,110
Сахарный диабет 2-го типа	n/N (%)	16/60 (27)	16/43 (37)	0/17 (0)	0,003

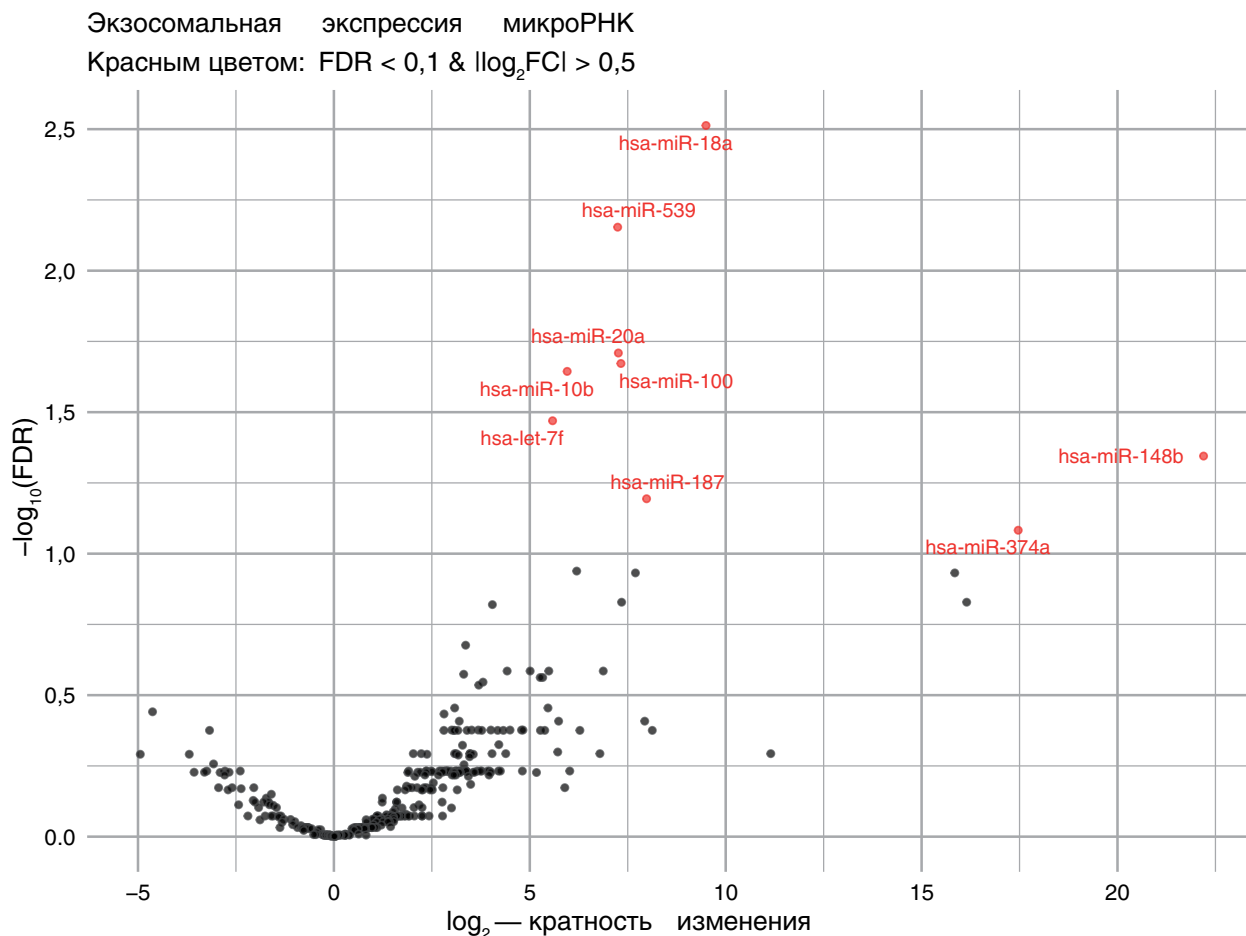


Рис. 1. Volcano plot экзосомальной экспрессии микроРНК.

Красным отмечены микроРНК, статистически значимо различавшиеся между группами. По оси X – логарифм кратности изменения по основанию 2 (при положительных значениях – экспрессия кратно меньше в группе ЦА); по оси Y – отрицательный логарифм по основанию 10 от скорректированного значения p (значения больше 1,0 соответствуют $p < 0,1$).

стеризация подтвердила наличие патогенетической взаимосвязи выявленных изменений: образцы разделились на два основных кластера, соответствующие клиническим группам, а микроРНК сходного профиля экспрессии сгруппированы вместе, что может указывать на биологическую согласованность изменений. Однако наблюдаемая кластеризация образцов отражает исследовательский характер анализа и должна интерпретироваться с осторожностью.

Анализ главных компонент использовался как исследовательская визуализация общей структуры данных (рис. 4). Первые 2 компоненты (PC1 и PC2) объясняли порядка 25% общей вариативности, что отражает значимую межиндивидуальную гетерогенность профиля экзосомальных микроРНК (анализ главных компонент не рассматривался как основной статистический тест межгрупповых различий).

Дальнейший анализ включал оценку значимых взаимодействий микроРНК–таргетный ген тех микроРНК, которые продемонстрировали наибольший уровень значимости (рис. 5).

Анализ сети микроРНК–таргетных генов выявил ключевые гены-хабы, регулируемые несколькими микроРНК и связанные с различными этапами/звеньями атерогенеза. Наиболее представленные включали эпигенетическую регуляцию эндотелиальной функции (*DNMT1*, *MSL3*, *SMCHD1*), липидный обмен и противовоспалительный сигналинг (*RORA*, *NCOA6*), окислительный стресс и активацию макрофагов (*SESN3*), пролиферацию ГМК сосудов (*CCND1*, *CTDSPL2*), а также процессы клеточной миграции и сосудистого ремоделирования (*PAFAH1B1*, *VTBD7*).

Обсуждение

Впервые на российской популяции в рамках пилотного исследования проведено профилирование экзосомальных микроРНК у пациентов с ЦА, определен дифференцированный паттерн экспрессии, характерный для патологии сосудов головного мозга. По основному пулу статистически значимо различавшихся микроРНК (*hsa-miR-18a*, *hsa-miR-539*, *hsa-miR-20a*, *hsa-miR-100*, *hsa-miR-10b*, *hsa-let-7f*, *hsa-miR-148b*, *hsa-miR-187* и *hsa-miR-374a*) наиболее примечательным результатом явилось согласо-

Таблица 2. Экзосомальная экспрессия статистически значимых дифференциально экспрессируемых микроРНК

МикроРНК	Экспрессия при ЦА	logFC	p	FDR	Биологическая кратность изменения	p_{cov}
hsa-miR-18a	↓	9,497686112	< 0,0001	0,003069536	0,001383285	0,0008
hsa-miR-539	↓	7,243347486	< 0,0001	0,007019844	0,006599866	0,002
hsa-miR-20a	↓	7,260677171	0,000173963	0,019541841	0,006521063	0,09
hsa-miR-100	↓	7,326407473	0,000252608	0,021282248	0,006230625	0,001
hsa-miR-10b	↓	5,954562429	0,000336715	0,022694558	0,01612494	0,10
hsa-let-7f	↓	5,582010663	0,000603783	0,03391246	0,020876003	0,045
hsa-miR-148b	↓	22,19720587	0,000938846	0,045198729	2,08E-07	0,583
hsa-miR-187	↓	7,981040114	0,001518526	0,063967923	0,003957925	0,025
hsa-miR-374a	↓	17,46588418	0,002207399	0,082654839	5,52E-06	0,730

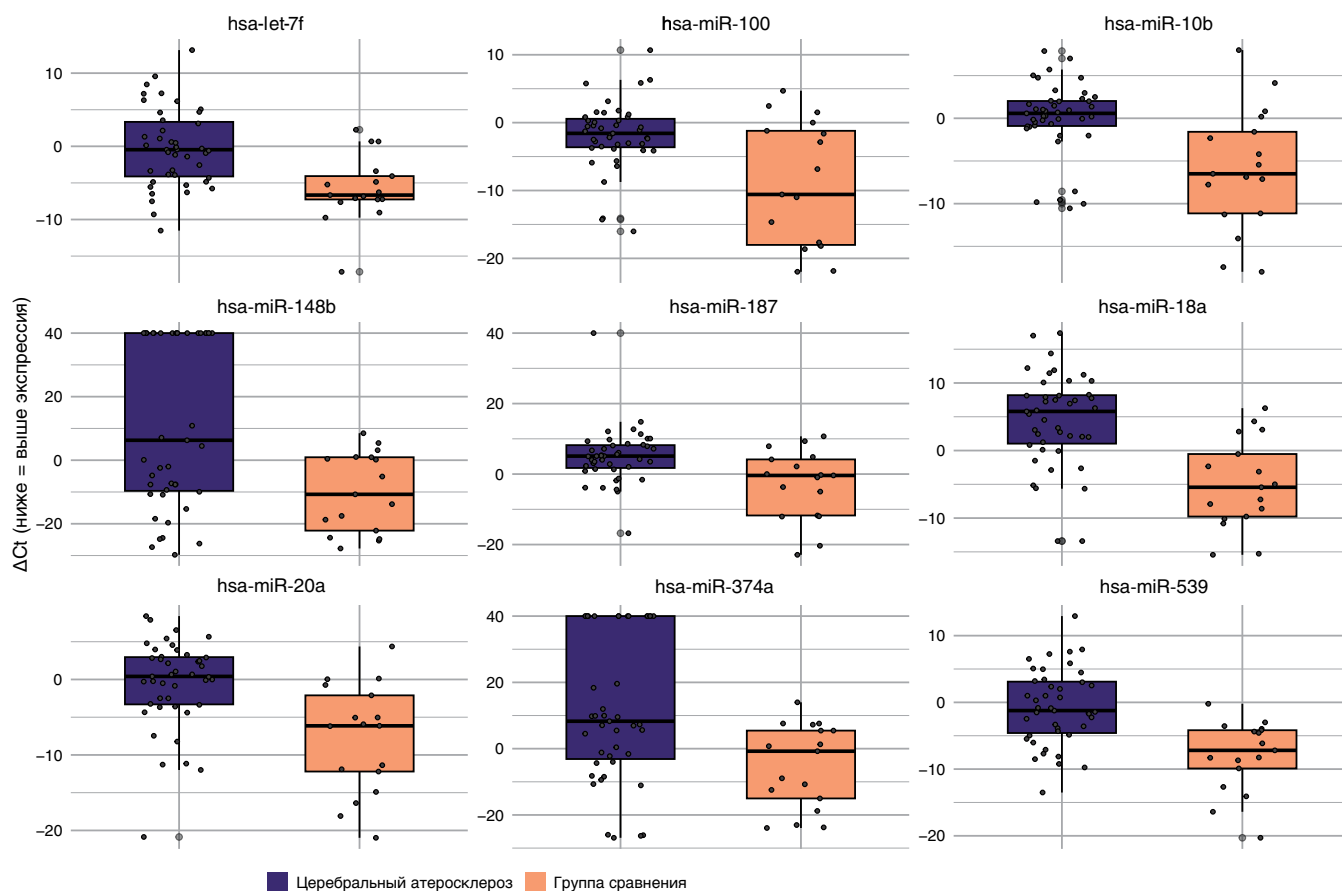


Рис. 2. Box plot экспрессии статистически значимо дифференциально экспрессируемых экзосомальных микроРНК.

По оси Y – нормализованные значения ΔSt ; точки соответствуют индивидуальным образцам; толстая линия – медиана; вертикальные линии – $1,5 \times$ межквартильный размах.

важное экзосомальное обеднение микроРНК, проявляющееся однонаправленным снижением их уровней в составе циркулирующих экзосом у пациентов с ЦА.

Снижение экзосомальной экспрессии hsa-miR-18a и hsa-miR-20a, входящих в кластер miR-17-92, представляет особый интерес. Известно, что miR-18a является активным промотором пролиферации, миграции и дифференцировки ГМК сосудов [10], и ранее было показано, что

её уровень в плазме крови повышен у пациентов с атеросклерозом [11]. Другими исследователями был продемонстрирован кардиопротективный эффект сниженной экспрессии miR-18a [12], реализуемый посредством инактивации оси Akt/mTOR. miR-20a является, по-видимому, противовоспалительной микроРНК, ингибирующей каскады TLR4–NF- κ B/NLRP3 в эндотелиальных клетках, экспрессия которой подавляется окислительными липопротеидами низкой плотности [13]. В нашей работе значимое

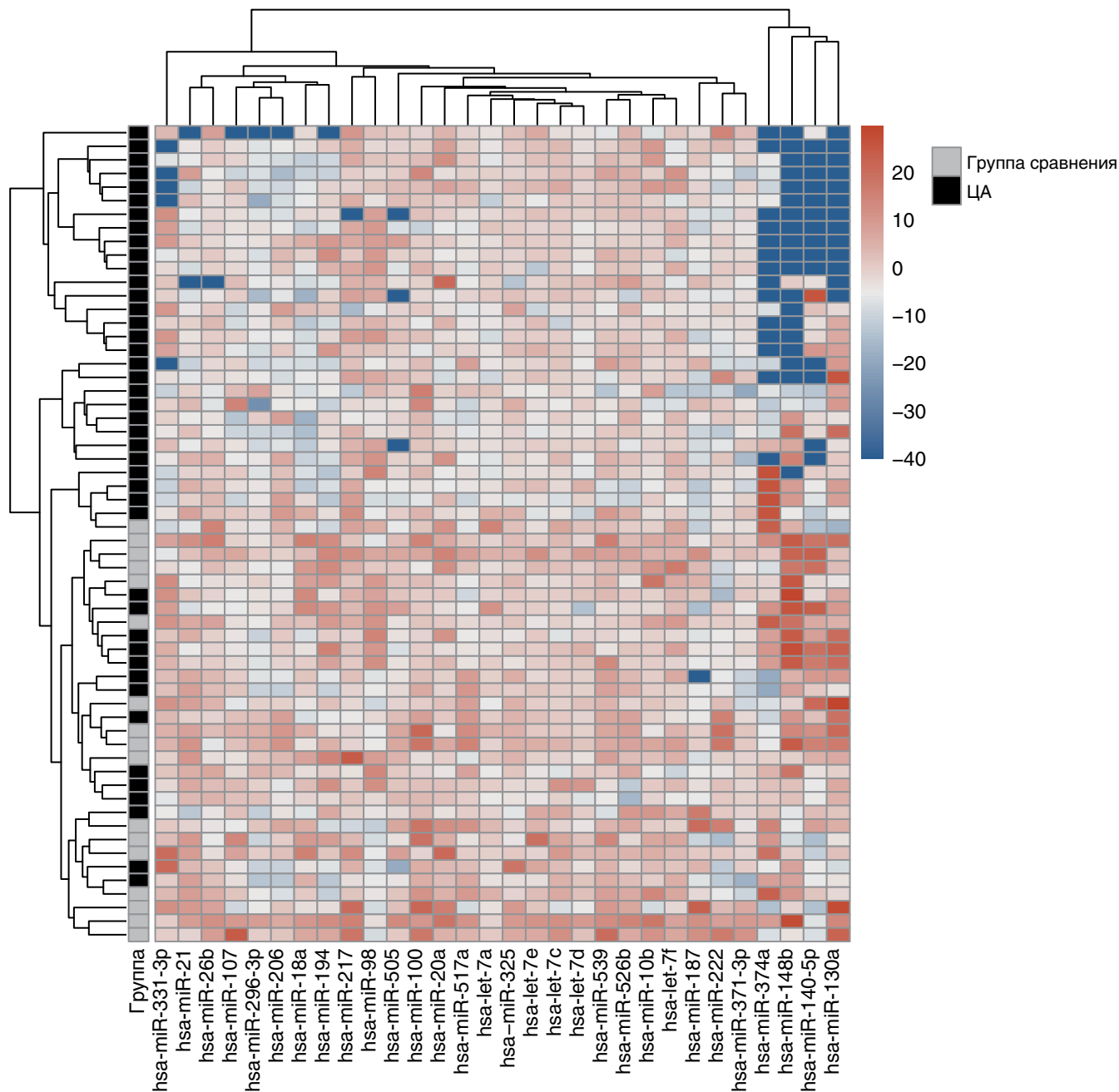


Рис. 3. Тепловая карта 30 наиболее дифференциально экспрессируемых экзосомальных микроРНК у пациентов с ЦА по сравнению с группой сравнения.

Цвет отражает нормализованный уровень экспрессии ($-\Delta Ct$): красный – высокая экспрессия, синий – низкая. Образцы сгруппированы по принадлежности к группе (светло-серый – контроль, темно-серый – атеросклероз). Иерархическая кластеризация проведена по строкам (образцам) и столбцам (микроРНК).

снижение экспрессии этих микроРНК в экзосомах пациентов с ЦА продемонстрировано впервые.

hsa-miR-100 усиленно экспрессируется в эндотелии и проявляет противовоспалительные свойства за счёт усиления аутофагии в сосудистой стенке [14]. Ранее нами было продемонстрировано снижение её плазменного уровня у пациентов с интракраниальным атероскле-

розом [15]; аналогичное изменение экзосомальной экспрессии подтверждает её потенциальную значимую роль в развитии ЦА в качестве атеропротективной молекулы. Более сложной оказалась интерпретация сниженной экспрессии miR-10b в нашей работе – так, ряд исследователей выделяет именно гиперэкспрессию этой микроРНК в качестве проатерогенного фактора: в частности, у пациентов с нестабильной стенокардией [16], у пациентов

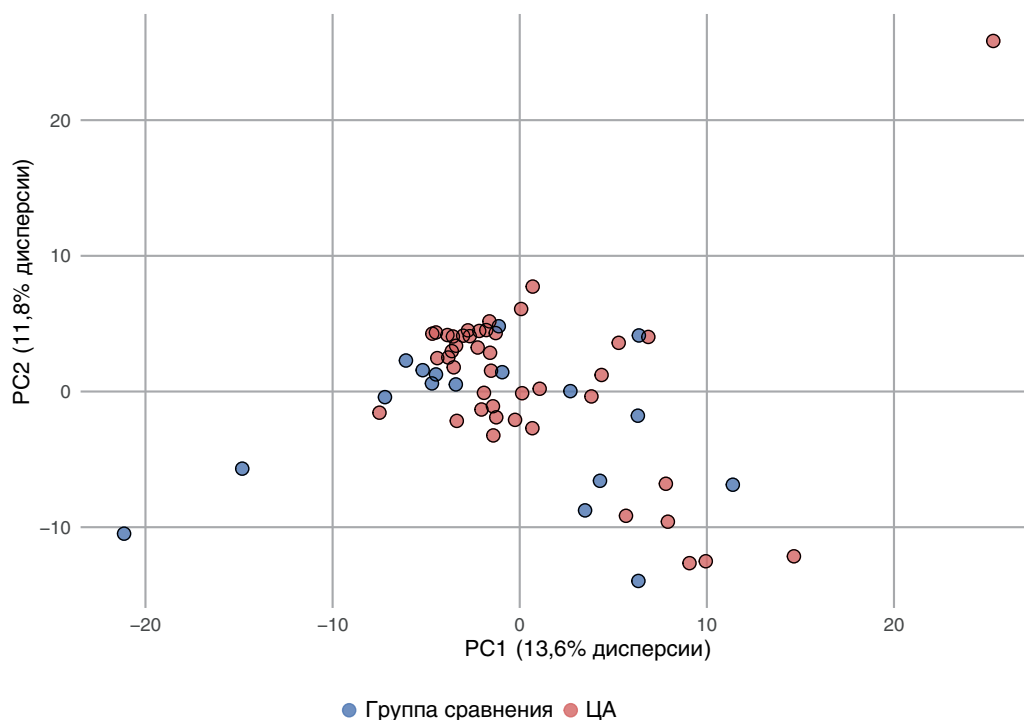


Рис. 4. Анализ главных компонент экзосомальных микроРНК.

Каждая точка — один образец; цвет обозначает принадлежность к группе: голубой — контроль, красный — ЦА. Средняя ширина силуэта 0,55, что свидетельствует об умеренно выраженной кластерной структуре и требует осторожной интерпретации в связи с гетерогенностью и дисбалансом групп.

с интракраниальным атеросклерозом [17]. Одним из возможных объяснений данного противоречия может служить отсутствие чёткой корреляции между лейкоцитарной и экзосомальной экспрессией для ряда микроРНК. С другой стороны, по крайней мере в случае нестабильной стенокардии, экспрессия miR-10b была выше у пациентов с активным прогрессированием коронарного атеросклероза, в то время как в нашей работе образцы крови отбирались в значительном временном диапазоне от острого цереброваскулярного эпизода (если таковой имелся в анамнезе).

hsa-let-7f (lethal-7) была одной из первых открытых микроРНК, которая отличается высокой консервативностью среди животных видов. В контексте атеросклероза имеются данные, демонстрирующие высокую тропность этой микроРНК к структурам бляшки и формированию потенциального атеропротективного ответа в ней [18]. В то же время снижение экзосомальной экспрессии let-7f было обнаружено у пациентов с сахарным диабетом — одним из важнейших факторов риска ЦА [19].

Важным атеропротективным фактором, который подтвердил свою роль в нашей работе, стала сниженная экспрессия hsa-miR-148b — по данным X. Zhang и соавт., эта микроРНК значительно хуже экспрессируется в атеросклеротических бляшках, а повышение её уровня ведёт к ингибированию пролиферации и миграции ГМК сосудов [20]. Выявленное снижение экзосомального уровня

miR-539 при ЦА хорошо согласуется с экспериментальными данными, указывающими на её ингибирующую роль в пролиферации и миграции ГМК сосудов [21]. Дефицит miR-539-5p может способствовать патологическому ремоделированию сосудистой стенки и утолщению интимы. Экзосомальное обеднение данной микроРНК может отражать смещение баланса в сторону проатерогенного фенотипа ГМК сосудов.

miR-187-3p известна как ключевой регулятор интерлейкин-10-опосредованного противовоспалительного ответа в макрофагах — так, при недостаточном её уровне повышается продукция таких провоспалительных факторов, как фактор некроза опухоли- α , интерлейкин-6 [22]. Снижение её экзосомальной экспрессии при ЦА подчёркивает роль хронического воспаления при этой патологии. Снижение экспрессии miR-374 при ЦА в нашем исследовании не согласуется с данными о проатерогенной роли этой микроРНК в когорте пациентов с асимптомным каротидным атеросклерозом [23]. Такое расхождение между «общей» циркулирующей фракцией и экзосомальной фракцией является, по-видимому, типичным для микроРНК: экзосомальный пул отражает не только уровень экспрессии, но и селективный транспорт микроРНК.

Настоящее исследование имеет ряд ограничений, которые следует учитывать при интерпретации полученных результатов. Прежде всего, работа носит пилотный, гипотезогенерирующий характер и выполнена на относи-

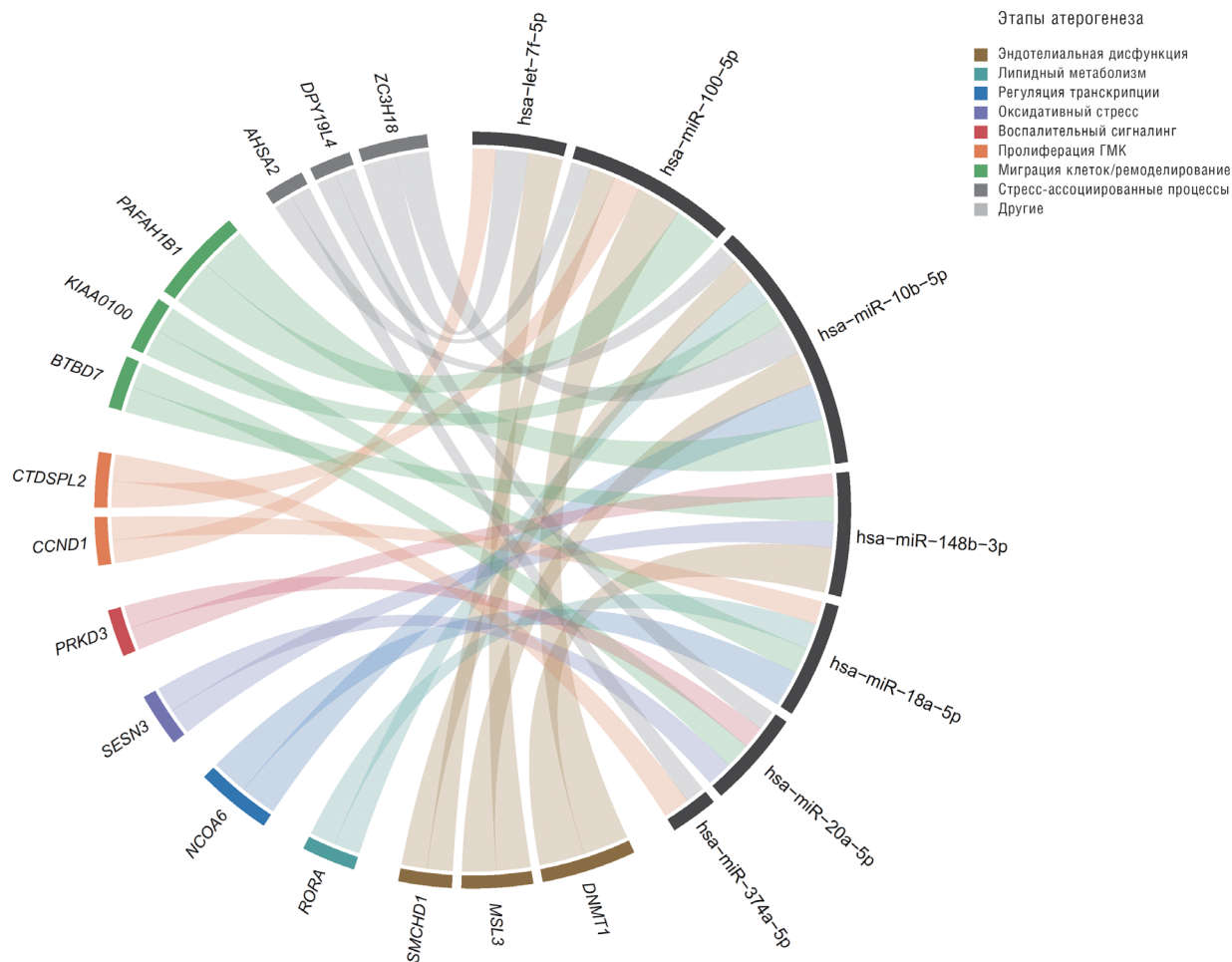


Рис. 5. Хордовая диаграмма микроРНК–таргетные гены на основании базы данных miRTarBase (онлайн-ресурс MIENTURNET). Выделены взаимосвязи с $FDR < 0,1$ и количеством микроРНК, регулирующих один ген > 3 . Толщина линии пропорциональна силе взаимодействия; выделены не более 2 микроРНК на 1 ген; цветовая гамма соответствует предположительной роли микроРНК/гена в атерогенезе.

тельно ограниченной выборке пациентов, что снижает статистическую мощность анализа и ограничивает возможность экстраполяции результатов на более широкую популяцию. В рамках настоящего исследования не проводилась независимая техническая валидация для статистически значимых микроРНК, что требует подтверждения полученных сигналов в отдельной когорте и на альтернативной аналитической платформе. Кроме того, группы исследования различались по возрасту, полу и коморбидному фону, в частности по распространенности сахарного диабета, что могло оказывать влияние на профиль микроРНК независимо от наличия ЦА.

Отсутствие группы здорового контроля и использование клинической группы сравнения ограничивает возможность полного отделения эффектов ЦА от возраст-ассоциированных и связанных с цереброваскулярной патологией изменений. В этой связи результаты следует интерпретировать как основу для последующей валидации в более крупных, возраст- и коморбидно-сопоставимых выборках, а также с независимой технической валидацией.

Важным методологическим ограничением является кросс-секционный дизайн исследования, не позволяющий оценить динамику экзосомальной экспрессии микроРНК в зависимости от стадии атерогенеза, активности процесса или проводимой терапии. Также в рамках данной работы не проводилась функциональная валидация выявленных микроРНК–таргетных взаимодействий *in vitro* или *in vivo*, а сетевой анализ микроРНК–геномишенной основывался на биоинформатических предсказаниях и данных ранее опубликованных исследований.

Следует отметить, что экзосомальная фракция микроРНК отражает не только уровень клеточной экспрессии, но и процессы селективной сортировки и секреции микроРНК, что затрудняет прямое сопоставление полученных данных с результатами исследований, выполненных на плазменной, лейкоцитарной или тканевой фракции. Наконец, отсутствие морфологической характеристики атеросклеротических бляшек (стабильность, состав, признаки воспаления) ограничивает возможность сопоставления молекулярных изменений с фенотипом поражения сосудистой стенки.

Заключение

В настоящем исследовании впервые на российской когорте пациентов показано, что ЦА ассоциирован со значительным и согласованным снижением (обеднением) экзосомальной экспрессии ряда ключевых микроРНК, вовлечённых в регуляцию воспаления, эндотелиальной функции и сосудистого ремоделирования. Полученные данные могут служить подтверждением концепции нарушения экзосомально-опосредованной межклеточной

коммуникации как одного из ключевых молекулярных механизмов развития и прогрессирования атеросклеротического поражения артерий головного мозга.

Выявленный профиль экзосомальных микроРНК и ассоциированных с ними целевых генов формирует основу для дальнейших исследований, направленных на разработку молекулярных биомаркеров ЦА, а также на уточнение патогенетических мишеней для персонализированной профилактики и терапии цереброваскулярных заболеваний.

Список источников | References

- Libby P, Ridker PM, Hansson GK. Progress and challenges in translating the biology of atherosclerosis. *Nature*. 2011;473(7347):317–325. doi: 10.1038/nature10146
- Zhu Y, Hu Z, Liu J, et al. Epigenetic-ncRNA crosstalk in atherosclerosis: mechanisms, disease progression and therapeutic potential (Review). *Int J Mol Med*. 2025;56(5):180. doi: 10.3892/ijmm.2025.5621
- Tanashyan MM, Shabalina AA, Annushkin VA, et al. Circulating microRNAs in carotid atherosclerosis: complex interplay and possible associations with atherothrombotic stroke. *Int J Mol Sci*. 2024;25(18):10026. doi: 10.3390/ijms251810026
- Раскуражев А.А., Шабалина А.А., Кузнецова П.И., Танашиян М.М. МикроРНК как значимые биомаркеры атеросклеротической цереброваскулярной патологии. *Анналы клинической и экспериментальной неврологии*. 2022;16(1):5–13.
- Raskurazhev AA, Shabalina AA, Kuznetsova PI, Tanashyan MM. MicroRNA as significant biomarkers of cerebrovascular atherosclerosis. *Annals of Clinical and Experimental Neurology*. 2022;16(1):5–13. doi: 10.54101/ACEN.2022.1.1
- Chen YF, Luh F, Ho YS, Yen Y. Exosomes: a review of biologic function, diagnostic and targeted therapy applications, and clinical trials. *J Biomed Sci*. 2024;31(1):67. doi: 10.1186/s12929-024-01055-0
- Lee KWA, Chan LKW, Hung LC, et al. Clinical applications of exosomes: a critical review. *Int J Mol Sci*. 2024;25(14):7794. doi: 10.3390/ijms25147794
- Rizzuto AS, Fichtner I, Carugo S, et al. The role of extracellular vesicle-derived mirna in the atherosclerotic burden. *Am J Pathol*. 2025;195(12):2274–2287. doi: 10.1016/j.ajpath.2025.08.006
- Letonja J, Petrović D. A review of microRNAs and lncRNAs in atherosclerosis as well as some major inflammatory conditions affecting atherosclerosis. *Biomedicines*. 2024;12(6):1322. doi: 10.3390/biomedicines12061322
- Peña-Peña M, Zepeda-García Ó, Posadas-Sánchez R, et al. A plasma extracellular vesicle-derived microRNA signature as a potential biomarker for subclinical coronary atherosclerosis. *Int J Mol Sci*. 2025;26(17):8727. doi: 10.3390/ijms26178727
- Kee HJ, Kim GR, Cho SN, et al. miR-18a-5p microRNA increases vascular smooth muscle cell differentiation by downregulating Syndecan4. *Korean Circ J*. 2014;44(4):255–263. doi: 10.4070/kcj.2014.44.4.255
- Teng P, Liu Y, Zhang M, Ji W. Diagnostic and prognostic significance of serum miR-18a-5p in patients with atherosclerosis. *Clin Appl Thromb Off J Int Acad Clin Appl Thromb*. 2021;27:10760296211050642. doi: 10.1177/10760296211050642
- Lin B, Feng D, Xu J. Cardioprotective effects of microRNA-18a on acute myocardial infarction by promoting cardiomyocyte autophagy and suppressing cellular senescence via brain derived neurotrophic factor. *Cell Biosci*. 2019;9:38. doi: 10.1186/s13578-019-0297-8
- Chen M, Li W, Zhang Y, Yang J. MicroRNA-20a protects human aortic endothelial cells from Ox-LDL-induced inflammation through targeting TLR4 and TXNIP signaling. *Biomed Pharmacother*. 2018;103:191–197. doi: 10.1016/j.biopha.2018.03.129
- Pankratz F, Hohnloser C, Bemtgen X, et al. MicroRNA-100 suppresses chronic vascular inflammation by stimulation of endothelial autophagy. *Circ Res*. 2018;122(3):417–432. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.117.311428
- Tanashyan MM, Raskurazhev AA, Shabalina AA, et al. Differential pattern of circulating microRNA expression in patients with intracranial atherosclerosis. *Biomedicines*. 2025;13(2):514. doi: 10.3390/biomedicines13020514
- Kowara M, Kopka M, Kopka K, et al. MicroRNA inhibiting atheroprotective proteins in patients with unstable angina comparing to chronic coronary syndrome. *Int J Mol Sci*. 2024;25(19):10621. doi: 10.3390/ijms251910621
- Jiang H, Toscano JF, Song SS, et al. Differential expression of circulating exosomal microRNAs in refractory intracranial atherosclerosis associated with antiangiogenesis. *Sci Rep*. 2019;9(1):19429. doi: 10.1038/s41598-019-54542-y
- Egea V, Megens RTA, Santovito D, et al. Properties and fate of human mesenchymal stem cells upon miRNA let-7f-promoted recruitment to atherosclerotic plaques. *Cardiovasc Res*. 2023;119(1):155–166. doi: 10.1093/cvr/cvac022
- Santovito D, De Nardis V, Marcantonio P, et al. Plasma exosome microRNA profiling unravels a new potential modulator of adiponectin pathway in diabetes: effect of glycemic control. *J Clin Endocrinol Metab*. 2014;99(9):E1681–1685. doi: 10.1210/jc.2013-3843
- Zhang X, Shi H, Wang Y, et al. Down-regulation of hsa-miR-148b inhibits vascular smooth muscle cells proliferation and migration by directly targeting HSP90 in atherosclerosis. *Am J Transl Res*. 2017;9(2):629–637.
- Zhang Y, Tang Y, Yan J. LncRNA-XIST Promotes proliferation and migration in ox-LDL stimulated vascular smooth muscle cells through miR-539-5p/SPP1 axis. *Oxid Med Cell Longev*. 2022;2022:9911982. doi: 10.1155/2022/9911982
- Rossato M, Curtale G, Tamassia N, et al. IL-10-induced microRNA-187 negatively regulates TNF- α , IL-6, and IL-12p40 production in TLR4-stimulated monocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2012;109(45):E3101–3110. doi: 10.1073/pnas.1209100109
- Wang W, Ma F, Zhang H. MicroRNA-374 is a potential diagnostic biomarker for atherosclerosis and regulates the proliferation and migration of vascular smooth muscle cells. *Cardiovasc Diagn Ther*. 2020;10(4):687–694. doi: 10.21037/cdt-20-444

Информация об авторах

Раскуражев Антон Алексеевич – канд. мед. наук, рук. лаб. нейрофармакологической фМРТ Института клинической и профилактической неврологии Российского центра неврологии и нейронаук, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-0522-767X>

Шабалина Алла Анатольевна – д-р мед. наук, в. н. с., рук. отдела лабораторной диагностики Института клинической и профилактической неврологии Российского центра неврологии и нейронаук, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-7393-0979>

Кузнецова Полина Игоревна – канд. мед. наук, с. н. с. 1-го неврологического отделения Института клинической и профилактической неврологии Российского центра неврологии и нейронаук, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-4626-6520>

Аннушкин Владислав Александрович – канд. мед. наук, врач-невролог 1-го неврологического отделения Института клинической и профилактической неврологии Российского центра неврологии и нейронаук, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-9120-2550>

Танашян Маринэ Мовсесовна – д-р мед. наук, профессор, академик РАН, зам. директора по научной работе, рук. 1-го неврологического отделения Института клинической и профилактической неврологии Российского центра неврологии и нейронаук, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-5883-8119>

Вклад авторов: *Раскуражев А.А.* – разработка концепта, планирование и проработка исследования, написание рукописи, статистический анализ и визуализация, финальная корректировка текста рукописи; *Шабалина А.А.* – планирование и проработка исследования, лабораторный этап исследования, финальная корректировка текста рукописи; *Кузнецова П.И.* – набор пациентов, анализ источников литературы, написание черновика рукописи; *Аннушкин В.А.* – набор пациентов, осмотр пациентов, ведение базы данных, анализ источников литературы; *Танашян М.М.* – разработка концепта, планирование и проработка исследования, административная поддержка, финальная корректировка текста рукописи.

Information about the authors

Anton A. Raskurazhev – Cand. Sci. (Med.), Head, Laboratory of neuropharmacological fMRI, Institute of Clinical and Preventive Neurology, Russian Center of Neurology and Neurosciences, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-0522-767X>

Alla A. Shabalina – Dr. Sci. (Med.), leading researcher, Head, Laboratory diagnostics department, Institute of Clinical and Preventive Neurology, Russian Center of Neurology and Neurosciences, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-7393-0979>

Polina I. Kuznetsova – Cand. Sci. (Med.), researcher, 1st Neurological department, Institute of Clinical and Preventive Neurology, Russian Center of Neurology and Neurosciences, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-4626-6520>

Vladislav A. Annushkin – Cand. Sci. (Med.), neurologist, 1st Neurological department, Institute of Clinical and Preventive Neurology, Russian Center of Neurology and Neurosciences, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-9120-2550>

Marine M. Tanashyan – Dr. Sci (Med), Professor, Full Member of RAS, Deputy Director for Science, Head, 1st Neurological Department, Institute of Clinical and Preventive Neurology, Russian Center of Neurology and Neurosciences, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-5883-8119>

Author contribution: *Raskurazhev A.A.* – study concept development, study design and planning; patient recruitment, drafting of the initial manuscript, statistical analysis and data visualization, final revision of the manuscript; *Shabalina A.A.* – study design and planning, laboratory investigations, final revision of the manuscript; *Kuznetsova P.I.* – patient recruitment, literature review, drafting of manuscript sections; *Annushkin V.A.* – patient recruitment, clinical examination of patients, database management, literature review; *Tanashyan M.M.* – study concept development, study design and planning, administrative support, final revision of the manuscript.