

Зміни експресії довгих некодуючих РНК H19, TUG1, GAS5, MIAT при ішемії-реперфузії міокарда

М. Хецуріані, Т.І. Древицька, А.М. Шиш

Інститут фізіології імені Богомольця НАН України, Київ; e-mail: khetsuriani@biph.kiev.ua

Довгі некодуючі РНК – найчисленніша група транскриптів, що виконують різноманітні функції, в тому числі при розвитку серцево-судинних патологій. Ми досліджували зміни експресії чотирьох довгих некодуючих РНК (H19, TUG1, GAS5, MIAT) за умов аноксії-реоксигенації у культурі кардіоміоцитів неонатальних щурів та ішемії-реперфузії у дорослих щурів лінії Вістар. Встановлено достовірне зниження експресії усіх чотирьох довгих некодуючих РНК у культурі клітин за експериментальних умов. Режим довгої аноксії-реоксигенації призвів до стрімкого підвищення рівня експресії довгої некодуючої РНК MIAT вівчі, проте порівняно із нормоксією ці зміни були недостовірними. Після ішемії-реперфузії у міокарді щурів підвищувався вміст довгої некодуючої РНК TUG1 у 22 рази, при цьому експресія H19 знижувалася у 3,79 раза, а у плазмі крові щурів підвищувалася експресія довгої некодуючої РНК MIAT у 3,79 раза. Отримані результати дають змогу розглядати довгі некодуючі РНК H19 та TUG1 як потенційні мішені при ішемічному ушкодженні міокарда, а MIAT – як біомаркера серцево-судинних патологій.

Ключові слова: довгі некодуючі РНК; ішемія; серце; міокард; кардіоміоцит; H19; MIAT; TUG1.

ВСТУП

Вже протягом кількох десятиліть серцево-судинні захворювання (ССЗ) займають перше місце серед причин смертності населення у більшості країн світу [1]. Не виключенням є і Україна, де за даними Всесвітньої організації охорони здоров'я (ВООЗ) від ССЗ щороку помирає більше ніж 450 тис. людей [2]. У сучасній кардіологічній практиці чільне місце посідають проблеми, пов'язані із діагностикою, лікуванням і профілактикою ішемічної хвороби серця (ІХС) та гострих коронарних синдромів. Понад 50% смертей від ССЗ асоційовані із ІХС [3]. А на гострий інфаркт міокарда припадає 33% смертей у структурі смертності від ССЗ [4]. Пошкодження серцевого м'яза, що виникає внаслідок інфаркту міокарда, є результатом двох процесів – ішемії та реперфузії [5]. Реперфузійне ушкодження виникає внаслідок відновлення кровотоку ішемізованих ділянок, що є причиною майже половини зони некрозу при гострому інфаркті міокарда [6].

© Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, 2024

© Видавець ВД "Академперіодика" НАН України, 2024

Сучасні дослідження здебільшого базуються на вивченні ролі субклітинних структур та окремих молекул у патогенезі ССЗ. Одними із регуляторів як фізіологічних, так і патологічних процесів у серці є довгі некодуючі рибонуклеїнові кислоти (РНК, long non-coding RNAs – lncRNAs). Це РНК, що не кодують білки, а їх розмір перевищує 200 нуклеотидів. Біогенез lncRNAs ідентичний такому у матричних РНК (мРНК). Зчитування lncRNAs здійснюється за участю транскрипційних факторів, промоторних елементів та відповідних модифікацій гістонів [7].

Певний час вважалося, що транскрипт, що не кодує білки, є «сміттєвим». Але з відкриттям ролі окремих некодуючих РНК, а згодом – мікроРНК і lncRNAs ця парадигма була спростована. Біоінформатичні підрахунки показують, що тільки у людини може бути ідентифіковано понад 270 тис. lncRNAs [8]. Кожна з цих молекул виконує певну функцію. Наразі відомо, що lncRNAs можуть бути

сигнальними молекулами, молекулярними пастками (наприклад, для мікроРНК), енхансерами, адапторними молекулами тощо.

Цікаво, що на відміну від мікроРНК, lncRNAs є набагато менш консервативними у різних видів. Деякі з них можуть бути тканинспецифічними – здебільшого експресуватися тільки у певних клітинах. Наразі описано десятки кардіоспецифічних lncRNAs. Але у нашій роботі ми зосередилися на експресії чотирьох lncRNAs, що не проявляють кардіоспецифічної експресії, але при цьому беруть участь у фізіологічних та патологічних процесах серцево-судинної системи. Це lncRNAs H19, TUG1 (Taurine Upregulated Gene 1), GAS5 та MIAT (Myocardial Infarction–Associated Transcript). У деяких працях показано, що вони можуть бути залучені до патогенезу інфаркту міокарда. Наприклад, lncRNAs H19 та GAS5 задіяні у механізмах розвитку фіброзу [9, 10]. TUG1 сприяє апоптозу кардіоміоцитів, а MIAT бере участь у різних патогенетичних механізмах [11, 12].

Метою нашого дослідження було визначити рівень експресії lncRNAs H19, TUG1, GAS5 та MIAT за умов аноксії-реоксигенації у первинній культурі кардіоміоцитів неонатальних щурів та ішемії-реперфузії у щурів лінії Вістар.

МЕТОДИКА

Дослідження проводили на первинній культурі кардіоміоцитів щурів та на дорослих щурах лінії Вістар з урахуванням Міжнародних принципів Європейської конвенції про захист тварин, які використовуються для експериментальних цілей (Страсбург, 1986).

Виділення і культивування кардіоміоцитів здійснювали таким чином. Неонатальних щурів віком до 48 год знерухомлювали цервікальною дислокацією. Через поздовжній розріз грудної клітки виймали серце та відокремлювали шлуночки. Далі їх відмивали у буферному розчині, що містив (ммоль/л):

HEPES – 20, KCl – 5,4, NaCl – 116,4, глюкозу – 5,5, Na_2HPO_4 – 0,4 та K_2HPO_4 – 0,4. Шлуночки подрібнювали, після чого проводили ферментативне розщеплення у середовищі виділення (на основі вищезазначеного буфера), що містило колагеназу II типу (1,75 мг) та панкреатин (3 мг) на 5 мл розчину. Ресуспендували клітини у середовищі для культивування такого складу: середовище Ігла в модифікації Дульбекко (DMEM), 199 (із співвідношення DMEM/199 – 4:1), теляча сироватка – 8%, Na_2CO_3 – 4,2 ммоль/л, HEPES – 15 ммоль/л та антибіотики (стрептоміцин – 100 мкг/мл, гентаміцин – 0,05 мг/мл, пеніцилін – 100 ОД/мл).

Підраховували клітини з використанням світлової мікроскопії після фарбування 0,2%-м розчином трипанового синього. Культивували протягом доби при 37°C у газовому середовищі, яке містило 5% CO_2 та 95% атмосферного повітря.

Аноксію-реоксигенацію проводили у двох режимах – короткому та довгому. Коротку аноксію моделювали аерацією клітин безкисневою газовою сумішшю (5% CO_2 та 95% Ar) протягом 30 хв. Далі змінювали живильне середовище та культивували клітини за вихідних умов протягом 60 хв – реоксигенація. Довгу аноксію проводили протягом 60 хв і з реоксигенацією протягом 24 год. Усього було зібрано по 8 контрольних та експериментальних зразків короткої та довгої аноксії-реоксигенації.

Кількість живих, некротичних та апоптотичних клітин визначали за допомогою фарбування кардіоміоцитів біс-бензimidом (Hoechst 33342) та йодидом пропідіуму концентрацією 8,75 мкмоль/л. Підрахунок живих та мертвих клітин здійснювали за допомогою флуоресцентної мікроскопії (Nikon Eclipse E200, Японія).

Для моделювання ішемії-реперфузії міокарда використовували щурів лінії Вістар віком 6 міс та масою 280–320 г. Всього у групі з удаваною операцією було 8 щурів, а в експериментальній – 9. Тварин

нарколізували внутрішньоочеревинним введенням уретану у дозі 1,5 г/кг. Штучну вентиляцію легень (ШВЛ) здійснювали через трахеостому за допомогою апарату Harvard (Великобританія). Частота дихання була 60/хв, дихальний об'єм – 3 мл/100 г маси тіла.

Доступ до серця виконували через четверте міжребер'я з попереднім діагональним розтином шкіри від мечоподібного відростка. Надалі розводили м'язи та накладали лігатуру на стовбур лівої коронарної артерії на 40 хв (ішемія), після чого лігатуру знімали на 120 хв (реперфузія). Удавану операцію здійснювали простим накладанням шовного матеріалу без перетискання артерії на 40 хв та його видаленням на 120 хв.

Для визначення зони ризику серцевого м'яза внаслідок ішемії-реперфузії у хвостову вену вводили 1 мл розчину йодиду пропідіуму (5 мг/мл). Частку, яку займає зона ризику, визначали за допомогою морфометричної програми ImageJ («National Institutes of Health», США).

Виділяли тотальну РНК з клітин та тканин міокарда гуанідин-ізотіоціанат-фенолхлороформною екстракцією з використанням реагенту Trizol («Invitrogen», США). Отримані зразки РНК розводили у 50 мкл дистильованої води, після чого – вимірювали концентрацію РНК спектрофотометричним методом (NanoDrop ND1000, США).

На наступному етапі були отримані комплементарні ДНК (кДНК) за допомогою реакції зворотної транскрипції, яку проводили у два етапи. На початку готували суміш із 1 мкл гексамерного праймера (Random Hexamer primer), 6 мкл тотальної РНК та 5 мкл очищеної від нуклеаз H₂O. Дали суміш інкубували при 70°C впродовж 5 хв на ампліфікаторі Gene Amp® PCR System 2700, Applied Biosystems (США). На другому етапі до суміші додавали 2 мкл 10-кратного розчину нуклеотидів (dNTP), 4 мкл буфера (Buffer RT), 0,5 мкл інгібітора РНКаз (Ribo Lock RNase inhibitor) та 0,9 мкл зворотної транскриптази (RevertAid

H Minus Reverse Transcriptase). Отримані зразки залишали при 42°C протягом 60 хв, після чого інкубували при 70°C впродовж 10 хв. Зворотну транскрипцію для РНК плазми робили з використанням специфічних петлевих праймерів для мікроРНК cel-miR-39 (miR Neasy Serum/Plasma Spike-In Control, Syn-celmiR-39 miRNA, Lot No. 227926630, США), яку додавали у зразки плазми крові перед екстракцією РНК. МікроРНК cel-miR-39 використовували як нормалізований контроль для визначення відносної експресії lncRNAs H19, TUG1, GAS5 та MIAT у плазмі крові щурів.

Полімеразну ланцюгову реакцію у реальному часі проводили на термоциклері 7500 Fast Real Time PCR від «Applied Biosystems» (США). Для цього у 96-лунковий планшет вносили по 10 мкл суміші із 5 мкл універсальної суміші для кількісної ПЛР (Sybr Green max), 2 мкл кДНК, 0,08 мкл специфічних праймерів для lncRNAs H19, TUG1, GAS5 та MIAT, 0,2 мкл референсного барвника Rox (1:9) та 2,72 мкл H₂O. Денатурацію кДНК здійснювали при 95°C протягом 15 с. Відпал праймерів та елонгацію проводили при 60°C протягом 1 хв. Програма полімеразної ланцюгової реакції у реальному часі складалася із 50 циклів.

Для проведення полімеразної ланцюгової реакції у реальному часі були використані специфічні праймери для lncRNAs H19, TUG1, GAS5 та MIAT з такими послідовностями:

H19 прямий –
5'-GCACAGGATGAAGCCAGACAAGG-3',
H19 зворотний –
5'-TCTCCGAGACACCGATCACTGC-3';
TUG1 прямий –
5'-ACAGTTTCCCTCTACCCAGTG-3';
TUG1 зворотний –
5'-GCSTATGTCAAACCTTTGCCCA-3';
GAS5 прямий –
5'-TCTCACAGGCAGTTCTGTGG-3';
GAS5 зворотний –
5'-ATCCATCCAGTCACCTCTGG-3;

MIAT прямий –
 5`-CGGGTACTTGAACACSTTTCT-3;
 MIAT зворотний –
 5`-ATCCTGTCCTCCCCAGTACC-3;
 Експресію lncRNAs H19, TUG1, GAS5 та MIAT визначали за відношенням до експресії референсного гена β-актину:
 β-актин прямий –
 5`-CTTGCAGTCTCCTCCGTCGCC-3`;
 β-актин зворотний –
 5`-CTTGCTCTGGGCCTCCTCGTCGC-3`.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

За результатами дослідження на первинній культурі кардіоміоцитів неонатальних щурів, кількість некротичних і апоптотичних клітин за умов нормоксії становила $6,72 \pm 1,21\%$, при короткій аноксії-реоксигенації – $19,58 \pm 4,65\%$, а при довгій – $27,86 \pm 6,74\%$ (рис. 1). Число некротичних і апоптотичних клітин достовірно збільшувався у 2,91 раз за умов 30 хв аноксії та 60 хв реоксигенації, та у 4,15 раз після 60 хв аноксії та 24 год реоксигенації.

У культурах кардіоміоцитів неонатальних щурів за умов нормоксії, короткої та довгої аноксії-реоксигенації нами було визначено відносну експресію lncRNAs H19, TUG1, GAS5 та MIAT (рис. 2).

Рівень відносної експресії lncRNA H19

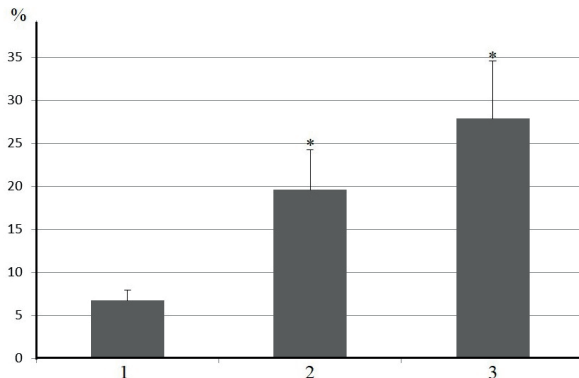


Рис. 1. Кількість некротичних і апоптотичних клітин за умов нормоксії, короткої (0,5/1) та довгої (1/24) аноксії-реоксигенації: 1 – нормоксія, 2 – коротка аноксія-реоксигенація, 3 – довга аноксія-реоксигенація. *P < 0,05 щодо нормоксії

достовірно знижується у 13,18 раза після короткої та у 3,33 раза після довгої аноксії-реоксигенації порівняно з нормоксією. Подібним чином «поводить» себе і lncRNA TUG1. За умов короткої аноксії-реоксигенації рівень TUG1 достовірно знижується у 8,84 раза. Але вже після довгої аноксії-реоксигенації експресія lncRNA TUG1 відновлюється до 63% від контрольних значень, але це порівняння не є достовірним. Рівень експресії lncRNA GAS5 у культурі клітин знижується у більш ніж 8 разів за умов короткої аноксії-реоксигенації. Але на відміну від lncRNAs H19 чи TUG1 при довгій аноксії-реоксигенації експресія не збільшується, а залишається на рівні короткої аноксії-реоксигенації. Встановлено значне зниження рівня експресії lncRNA MIAT у культурі кардіоміоцитів за умов короткої аноксії-реоксигенації майже у 19 разів порівняно із нормоксичними показниками. Цікаво, що після довгої аноксії-реоксигенації рівень експресії lncRNA MIAT недостовірно підвищується майже вдвічі.

У наступній частині роботи ми визначали рівень відносної експресії lncRNAs H19, TUG1, GAS5 та MIAT при моделюванні ішемії-реперфузії у щурів. Для початку нами було визначено рівень зони ризику міокарда відносно зони нормальної перфузії. На рис. 3.

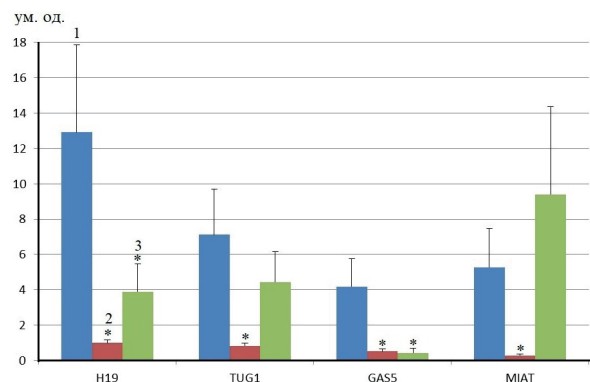


Рис. 2. Рівень відносної експресії lncRNAs H19, TUG1, GAS5 та MIAT у первинній культурі кардіоміоцитів неонатальних щурів: 1 – нормоксія, 2 – коротка аноксія-реоксигенація (0,5/1), 3 – довга аноксія-реоксигенація (1/24). *P < 0,05 щодо нормоксії

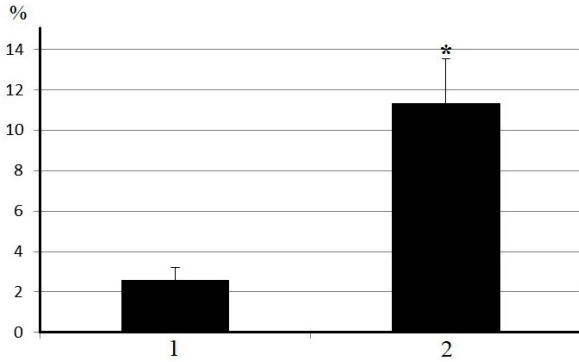


Рис. 3. Рівень зони некрозу міокарда за умов ішемії-реперфузії та удаваної операції, прижиттєве фарбування розчином йодиду пропідіуму: 1 – удавана операція, 2 – ішемія-реперфузія. *P < 0,05 відносно значень при удаваній операції

показано, що за умов ішемії-реперфузії зона некрозу сягає 11,37% порівняно із удаваною операцією (2,59%).

Рівень відносної експресії lncRNAs H19, TUG1, GAS5 та MIAT ми визначали у міокарді, а також у плазмі крові щурів. Результати експресії lncRNAs у міокарді щурів наведені на рис. 4, а.

Встановлено, що рівень відносної експресії lncRNA H19 знижується у 3,79 раза після ішемії-реперфузії. Рівень експресії lncRNA TUG1 достовірно збільшується більше ніж у 22 рази після ішемії-реперфузії. Зміни у експресії GAS5 та MIAT були

недостовірними: зниження lncRNA GAS5 на 26,24%, а MIAT – збільшення на 49,11%.

Дещо інакшу картину ми спостерігали при аналізі відносної експресії lncRNAs H19, TUG1, GAS5 та MIAT у плазмі крові щурів (див. рис. 4, б). Статистично значущими виявилися лише відмінності у експресії lncRNA MIAT. Після ішемії-реперфузії її рівень у плазмі крові збільшився у 2,3 раза. Експресія lncRNA H19 недостовірно знижується на 32,43%, TUG1 збільшується на 38,95%, а GAS5 – на 33,64%.

Слід відмітити, що і аноксія-реоксигенація первинної культури кардіоміоцитів, і ішемія-реперфузія суттєво впливають на експресію вибраних lncRNAs. Такі зміни (що подекуди сягають десятки разів) вказують на можливу їх участь у реалізації патологічних змін у міокарді. Було повідомлено кардіопротективну роль lncRNA H19, яка пригнічує гіпертрофію міокарда, утворюючи молекулярну пастку для miR-145 [13]. Gong та співавт. [14] показали, що lncRNA H19 захищає кардіоміоцити під час гіпоксичного ушкодження. Вони запропонували молекулярний механізм кардіопротекції через активацію lncRNA H19 сигнальних шляхів PI3K/АКТ та ERK/p38, що мають важливе значення у захисті клітин міокарда від ішемічного ушкодження. Інші

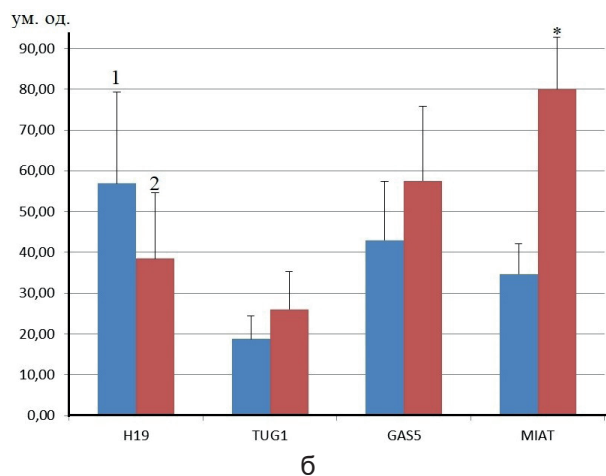
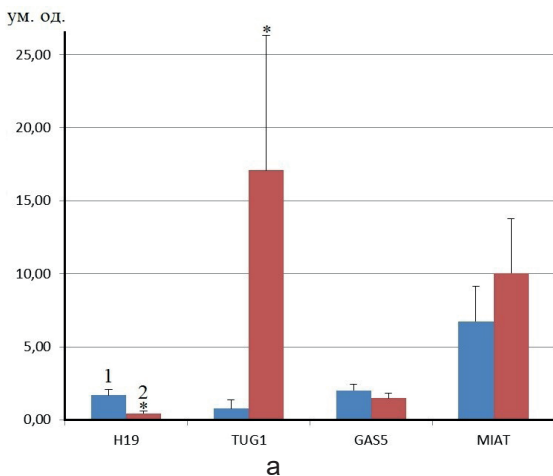


Рис. 4. Рівень відносної експресії lncRNAs H19, TUG1, GAS5 та MIAT у міокарді (а) та у плазмі крові (б) щурів: 1 – удавана операція, 2 – ішемія-реперфузія. *P < 0,05 відносно значень при удаваній операції

дослідники довели, що надекспресія H19 пригнічує апоптоз кардіоміоцитів неонатальних щурів [15]. Ці дані цілком узгоджуються із результатами, які були отримані нами, оскільки рівень експресії lncRNA H19 у нас знижувався, як при аноксії-реоксигенації, так і ішемії-реперфузії.

Для TUG1 показано, що ця lncRNA бере участь у реалізації ішемічного ушкодження міокарда через утворення молекулярної пастки для miR-132 [16]. У наших дослідженнях експресія lncRNA TUG1 достовірно збільшується більш ніж у 22 рази в міокарді після ішемії-реперфузії. Ми вважаємо, що до регуляції експресії TUG1 також може бути залучений транскрипційний фактор, що індукується гіпоксією (HIF-1 α). Це припущення вимагає подальших досліджень із встановлення такої ролі для HIF-1 α . Відомо, що він може зв'язуватися із промоторними ділянками гена lncRNA TUG1, посилюючи експресію останнього [11]. Показано, що TUG1 утворює нуклеопротейновий комплекс з білком FUS (fused in sarcoma), котрий залучений до регенерації серцевого м'язу після інфаркту міокарда. У нашому дослідженні достовірно збільшення експресії TUG1 показано тільки для міокарда після ішемії-реперфузії. При короткій аноксії-реоксигенації вона навпаки суттєво зменшується, але після довгої аноксії-реоксигенації – зростає. Така невідповідність між експресією lncRNA TUG1 у первинній культурі кардіоміоцитів та міокарді дорослих щурів імовірно спричинена декількома факторами. По-перше, це поліфункціональність lncRNAs. Одна й та сама lncRNA може бути задіяна до різних молекулярних механізмів, як-то молекулярні пастки для мікроРНК, утворення комплексів із білками, та навіть формування триплексів із промоторними ділянками ДНК. Друга можлива причина полягає у різному профілі експресії кардіоміоцитів неонатальних та дорослих щурів.

Досить неоднозначні результати нами були отримані стосовно експресії lncRNA

GAS5. Достовірно зниження відносної експресії ми спостерігали лише після короткої та довгої аноксії-реоксигенації. Стосовно ролі цієї lncRNA точаться дискусії, оскільки різні групи дослідників дійшли діаметрально різних висновків. Наприклад, у праці Du та співавт. [17] показано, що пригнічення експресії GAS5 знижує рівень апоптозу та захищає кардіоміоцити від загибелі, спричиною гіпоксією. Водночас дані Hao та співавт. вказують на зворотне – про зменшення апоптозу кардіоміоцитів [18]. Цікаво, що і перше, і друге твердження можуть бути цілком правдивими, враховуючи згадану поліфункціональність, а також інтерактом lncRNAs. Так, у 2011 р. була запропонована теорія конкурентних ендогенних РНК, суть якої зводиться до того, що lncRNAs можуть конкурувати із матричними РНК за сайти зв'язування із мікроРНК [19]. Таким чином, lncRNAs формують мережу, яка регулює трансляцію матричних РНК. Цілком імовірно, що GAS5 залучена до такої регуляції, але залежно від різних умов (наприклад, ішемічне ушкодження), а також наявності інших РНК (з якими GAS5 може взаємодіяти або конкурувати за сайти зв'язування із мікроРНК) це призводить до різних (інколи і діаметрально протилежних) наслідків.

Наразі lncRNA MIAT розглядають як потенційний маркер серцево-судинних патологій, зокрема інфаркту міокарда. У нашому дослідженні рівень її експресії знижується після короткої, але стрімко зростає після довгої аноксії-реоксигенації, хоча відмінності відносно експресії у нормоксичних кардіоміоцитів є недостовірними. Ми припускаємо, що інші режими аноксії-реоксигенації із більш ушкоджуючим впливом на кардіоміоцити могли б призвести до істотнішого зростання MIAT. Цікавим є той факт, що коротка аноксія-реоксигенація спричинює зниження експресії MIAT, а зростання вже спостерігається при довгій аноксії-реоксигенації. Це спонукає нас до

проведення наступних експериментів із визначенням рівня експресії MIAT у плазмі щурів на різних етапах реперфузії.

ВИСНОВКИ

Нами було показано, що за умов аноксії-реоксигенації та ішемії-реперфузії спостерігаються зміни у експресії lncRNAs H19, TUG1, GAS5 та MIAT. Отримані результати дають нам привід вважати, що надекспресія H19, а також пригнічення експресії TUG1 зменшують ушкоджуючий вплив інфаркту міокарда на серцевий м'яз. Довга некодуєча РНК MIAT може розглядатися як потенційний біомаркер серцево-судинних патологій, адже рівень її експресії у плазмі крові достовірно збільшується після ішемії-реперфузії.

The authors of this study confirm that the research and publication of the results were not associated with any conflicts regarding commercial or financial relations, relations with organizations and/or individuals who may have been related to the study, and interrelations of co-authors of the article.

M. Khetsuriani, T.I. Drevytska, A.M. Shysh

CHANGES IN THE EXPRESSION OF LONG NON-CODING RNAs H19, TUG1, GAS5, MIAT DURING MYOCARDIAL ISCHEMIA-REPERFUSION

Bogomoletz Institute of Physiology, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv; e-mail: khetsuriani@biph.kiev.ua

Long non-coding RNAs (lncRNAs) are the most numerous group of transcripts performing various functions, including the development of cardiovascular pathologies. We investigated the changes in expression of four long non-coding RNAs (H19, TUG1, GAS5, MIAT) under conditions of anoxia-reoxygenation in neonatal rat cardiomyocyte culture and ischemia-reperfusion in adult Wistar rats. A significant decrease in the expression of all four long non-coding RNAs in cell culture under experimental conditions was established. The regime of prolonged anoxia-reoxygenation led to a sharp increase in the expression level of long non-coding RNA MIAT by twice, but compared to normoxia, these changes were not significant. After ischemia-reperfusion in rat myocardium, the

content of long non-coding RNA TUG1 increased by 22 times, while the expression of H19 decreased by 3.79 times, and in rat plasma, the expression of long non-coding RNA MIAT increased by 3.79 times. The obtained results allow considering long non-coding RNAs H19 and TUG1 as potential targets in ischemic myocardial injury, and MIAT as a biomarker of cardiovascular pathologies.

Key words: long non-coding RNAs; ischemia; heart; myocardium; cardiomyocyte; H19; MIAT; TUG1.

REFERENCES

1. Mc Namara K, Alzubaidi H, Jackson JK. Cardiovascular disease as a leading cause of death: how are pharmacists getting involved? *Integr Pharm Res Pract.* 2019 Feb 4;8:1-11.
2. Visseren FLJ, Mach F, Smulders YM, Carballo D, Koskinas KC, Bäck M, et al. Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice. *Eur Heart J.* 2021 Sep 7;42(34):3227-337.
3. Murphy SL, Xu J, Konachek KD. Division of vital statistics: Deaths: Final data for 2010. *Natl Vital Stat Rep.* 2013;61:1-117.
4. Go AS, Mozaffarian D, Roger VL, Benjamin EJ, Berry JD, Blaha MJ, et al. Heart disease and stroke statistics-2014 update: A report from the American Heart Association. *Circulation.* 2014;129:e28-92.
5. Ibáñez B, Heusch G, Ovize M, Van de Werf F. Evolving therapies for myocardial ischemia/reperfusion injury. *J Am Coll Cardiol.* 2015 Apr 14;65(14):1454-71.
6. Yang XC, Liu Y, Wang LF, Cui L, Wang T, Ge YG, Wang HS, Li WM, Xu L, Ni ZH, Liu SH, Zhang L, Jia HM, Vinten-Johansen J, Zhao ZQ. Reduction in myocardial infarct size by postconditioning in patients after percutaneous coronary intervention. *J Invasive Cardiol.* 2007 Oct;19(10):424-30.
7. M. Khetsuriani, V. Dosenko. Long non-coding RNAs as regulators of physiological and pathological processes of the cardiovascular system. *Fiziol Zh.* 2020; 66(4): 72-84.
8. Ma L, Cao J, Liu L, Du Q, Li Z, Zou D, Bajic VB, Zhang Z. LncBook: a curated knowledgebase of human long non-coding RNAs. *Nucl Acids Res.* 2019 Jan 8;47(D1):D128-34.
9. Busscher D, Boon RA, Juni RP. The multifaceted actions of the lncRNA H19 in cardiovascular biology and diseases. *Clin Sci (Lond).* 2022 Aug 12;136(15):1157-78.
10. Liu HL, Chen CH, Sun YJ. Overexpression of lncRNA GAS5 attenuates cardiac fibrosis through regulating PTEN/MMP-2 signal pathway in mice. *Eur Rev Med Pharm Sci.* 2019 May;23(10):4414-8.
11. Wang YW, Dong HZ, Tan YX, Bao X, Su YM, Li X, Jiang F, Liang J, Huang ZC, Ren YL, Xu YL, Su Q. HIF-1 α -regulated lncRNA-TUG1 promotes mitochondrial dysfunction and pyroptosis by directly binding to FUS in myocardial infarction. *Cell Death Disc.* 2022 Apr 8;8(1):178.

12. Yang C, Zhang Y, Yang B. MIAT, a potent CVD-promoting lncRNA. *Cell Mol Life Sci.* 2021 Dec 18;79(1):43.
13. Wang H, Lian X, Gao W, Gu J, Shi H, Ma Y, Li Y, Fan Y, Wang Q, Wang L. Long noncoding RNA H19 suppresses cardiac hypertrophy through the MicroRNA-145-3p/SMAD4 axis. *Bioengineered.* 2022 Feb;13(2):3826-39.
14. Gong LC, Xu HM, Guo GL, Zhang T, Shi JW, Chang C. Long non-coding RNA H19 protects H9c2 cells against hypoxia-induced injury by targeting microrna-139. *Cell Physiol Biochem.* 2017;44(3):857-69.
15. Zhang L, Liu T, Wang P, Shen Y, Huang T. Overexpression of long noncoding RNA H19 inhibits cardiomyocyte apoptosis in neonatal rats with hypoxic-ischemic brain damage through the miR-149-5p/LIF/PI3K/Akt axis. *Biopreserv Biobank.* 2021 Oct;19(5):376-85.
16. Su Q, Liu Y, Lv XW, Dai RX, Yang XH, Kong BH. LncRNA TUG1 mediates ischemic myocardial injury by targeting miR-132-3p/HDAC3 axis. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2020 Feb 1;318(2):H332-44.
17. Du J, Yang ST, Liu J, Zhang KX, Leng JY. Silence of LncRNA GAS5 protects cardiomyocytes H9c2 against hypoxic injury via sponging miR-142-5p. *Mol Cells.* 2019 May 31;42(5):397-405.
18. Hao S, Liu X, Sui X, Pei Y, Liang Z, Zhou N. Long non-coding RNA GAS5 reduces cardiomyocyte apoptosis induced by MI through sema3a. *Int J Biol Macromol.* 2018 Dec;120(Part A):371-7.
19. Pu M, Chen J, Tao Z, Miao L, Qi X, Wang Y, et al. Regulatory network of miRNA on its target: coordination between transcriptional and post-transcriptional regulation of gene expression. *Cell Mol Life Sci.* 2019 Feb;76(3):441-51.

*Матеріал надійшов
до редакції 13.11.2023*