

Association of the rs7887062 Polymorphism in Lnc-Ang362 with Atherosclerotic Coronary Artery Disease in Low Risk Patients

Khadijeh Bazooei¹,
Mahboobeh Nasiri¹,
Hajar Kamfirouzi²

¹ Assistant Professor, Department of Biology, Islamic Azad University, Arsanjan Branch, Arsanjan, Iran

² MD, Cardiovascular Research Center, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran

(Received March 11, 2017 ; Accepted December 11, 2017)

Abstract

Background and purpose: A long non-coding transcript Lnc-Ang362 plays critical role on the expression of miR-221 and miR-222. Knockdown of Lnc-Ang362 reduces the expression of these miRNAs as well as vessel smooth muscle cell proliferation in response to vascular injury. This study, for the first time, considered the possible association between Lnc-Ang362 rs7887062A/G polymorphism with the risk of atherosclerotic coronary artery disease (CAD) in low risk patients.

Materials and methods: In this case-control study, 299 subjects, including 150 patients with atherosclerotic CAD and 149 healthy individuals (control group) enrolled. Genotyping of the rs7887062 was done using PCR-RFLP method. Data were analyzed using SPSS v.19.

Results: The frequency of heterozygote AG and G-allele carriage (GG+AG) genotypes were greater in controls compared to the patients, supporting the protective role against CAD. The G allele reduced the risk of disease (OR: 0.32, 95%CI: 0.15- 0.7, P=0.004). In cross tabulation of the study population based on gender, reduced risk of CAD in the presence of AG and G-carriage genotypes was seen in both males and females.

Conclusion: Lnc-Ang362 variant could be considered as a molecular screening marker for low risk susceptible subjects to atherosclerotic CAD.

Keywords: Lnc-Ang362, coronary artery disease, polymorphism

J Mazandaran Univ Med Sci 2018; 28 (161): 24-32 (Persian).

ارتباط پلی مورفیسم rs7887062 در Lnc-Ang362 با بیماری های عروق کرونر آترواسکلروتیک در مبتلایان بدون فاکتورهای خطر

خدیجه بازویی^۱

محبوبه نصیری^۱

هاجر کامفیروزی^۲

چکیده

سابقه و هدف: رونوشت غیرکدکننده طولیل Lnc-Ang362 نقش اساسی در بیان miR-221 و miR-222 ایفا می کند. ناک داون Lnc-Ang362 منجر به کاهش بیان این دو میکرو RNA و همچنین کاهش تکثیر سلول های ماهیچه صاف عروق، در پاسخ به آسیب عروقی می شود. در این مطالعه برای اولین بار ارتباط احتمالی بین پلی مورفیسم rs7887062A/G، Lnc-Ang362 با خطر بروز بیماری عروق کرونر آترواسکلروتیک در بیماران با ریسک پایین مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش ها: در این مطالعه مورد-شاهدی، ۲۹۹ نفر شامل ۱۵۰ بیمار مبتلا به اختلال عروق کرونر آترواسکلروتیک و ۱۴۹ فرد سالم به عنوان گروه کنترل مورد بررسی قرار گرفتند. تعیین ژنوتیپ مارکر پلی مورفیسم rs7887062 A/G با روش PCR-RFLP انجام گرفت و نتایج توسط نرم افزار آماری SPSS 19 تجزیه و تحلیل شد.

یافته ها: ارتباط معنی داری در جهت کاهش خطر بروز بیماری عروق کرونر بین ژنوتیپ هتروزیگوت AG و ژنوتیپ های حامل آلل G (GG+AG) مشاهده گردید. آلل G ریسک بروز بیماری را کاهش می دهد ($p = 0/004$) ($OR: 0/32$ ، درصد، $CI: 0/15-0/7$). در تقسیم بندی جمعیت براساس جنسیت، کاهش ریسک بروز بیماری در حضور ژنوتیپ هتروزیگوت و ژنوتیپ های حامل آلل G در جمعیت زنان و مردان مشاهده شد.

استنتاج: واریانت رونوشت Lnc-Ang362 احتمالاً می تواند به عنوان مارکر مولکولی برای غربالگری افراد کم خطر مستعد بروز بیماری های عروق کرونر آترواسکلروتیک در نظر گرفته شود.

واژه های کلیدی: Lnc-Ang362، بیماری های عروق کرونر، پلی مورفیسم

مقدمه

عوامل ژنتیکی و محیطی می باشد که شناسایی این عوامل اطلاعات ارزشمندی برای پیشگیری و کنترل CAD فراهم می کند (۲). نتایج مطالعات متعدد نشان داده است که شیوع بیماری های عروق کرونر در تمام سنین،

بیماری های عروق کرونر قلب (coronary artery disease, CAD) به عنوان شایع ترین بیماری های قلبی-عروقی و اولین عامل مرگ و میر در جهان شناخته شده است (۱). فنوتیپ بیماری حاصل تعامل طیف وسیعی از

E-mail: nasiri@iaua.ac.ir

مؤلف مسئول: محبوبه نصیری- ارسنجان: بلوار دانشگاه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارسنجان

۱. استادیار، گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ارسنجان، ارسنجان، ایران

۲. متخصص قلب و عروق، مرکز تحقیقات قلب و عروق، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۱۲/۲۱ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۳۹۵/۱۲/۲۱ تاریخ تصویب: ۱۳۹۶/۹/۲۰

در مردان بیش‌تر از زنان است و سن بروز در مردان حدود ۱۰ سال زودتر از زنان می‌باشد (۳). استعمال سیگار، هیپرکلسترولمی، دیابت، پرفشاری خون، چاقی، سن، سابقه خانوادگی و جنسیت مذکر از جمله فاکتورهای خطر در بروز این گروه از بیماری‌ها، شناخته شده است (۴). از آنجایی که هر یک از این فاکتورهای خطر دارای زمینه ژنتیکی پیچیده‌ای هستند، در مطالعات مختلف به‌طور جداگانه به تأثیر مستقیم فاکتورهای محیطی، فاکتورهای ژنتیکی و یا میانکنش عوامل ژنتیکی-محیطی در بروز بیماری‌های عروق کرونر پرداخته شده است (۵).

شناسایی نواحی وسیع بین ژنی در ژنوم پستانداران که در سطح RNA رونویسی می‌شوند، اما هیچ پروتئینی را کدگذاری نمی‌کنند، منجر به مطرح شدن بحث جدیدی تحت عنوان RNA های غیرکدکننده یا ncRNAs در علم زیست‌شناسی مولکولی گردید (۶). رونوشت‌های غیرکدکننده طویل (long non-coding RNAs, lncRNAs) گروهی از توالی‌های غیرکدکننده با طول بیش از ۲۰۰ نوکلئوتید می‌باشند که ۸۰ درصد کل رونوشت‌های حاصل از رونویسی از ژن‌های موجود در ژنوم انسان را شامل می‌شوند (۸،۷). این رونوشت‌ها در فرایندهای بیولوژیکی مهمی نظیر تغییر مدل کروماتین، نسخه‌برداری ژن و حمل و نقل پروتئین‌ها مشارکت می‌کنند (۹). اخیراً ارتباط تغییرات بیان ژن و واریانت‌های توالی این رونوشت‌ها با بیماری‌های پیچیده انسانی از جمله بیماری‌های عروق کرونر، بیماری‌های خودایمنی، اختلالات عصب‌شناختی و سرطان‌های مختلف شناخته شده است (۱۰). رونوشت غیرکدکننده طویل Lnc-Ang362 (MIR222HG= host gene) توسط ژنی در موقعیت Xp11.3 کد می‌شود و در پستانداران بسیار حفاظت شده است (۱۱). با توجه به اینکه جایگاه شروع رونویسی از miR-221 و miR-222 که در مجاورت ژن Lnc-Ang362 قرار گرفته‌اند در لوکوس Lnc-Ang362 قرار دارد، تصور می‌شود بیان این سه ژن از مسیر مشترکی که وابسته به Lnc-Ang362 است تنظیم

می‌گردد، به‌طوری‌که Lnc-Ang362 مانند یک رونوشت میزبان برای miR-221 و miR-222 عمل می‌کند (۱۲). این دو miRNA نقش مهمی در تکثیر سلول‌های ماهیچه صاف عروق و هاپرپلازی نئوپلاستیک در پاسخ به آسیب عروقی دارند و در نهایت پاسخ به آنژیوتانسین II را میانجی‌گری می‌کنند (۱۳). miR-221 و miR-222 به وفور در دیواره عروق وجود دارند و به دنبال آسیب لایه اینتیمای آن‌ها به شدت افزایش می‌یابد (۱۴). بنابراین، به نظر می‌رسد که این دو miRNA دارای اثر pro-proliferative روی سلول‌های عضله صاف عروق هستند (۱۵). کاهش بیان miR-221 و miR-222 و کاهش رشد سلول‌های ماهیچه صاف عروق در پاسخ به ناک داون Lnc-Ang362 رخ می‌دهد، که نشان‌دهنده نقش و عملکرد Lnc-Ang362 در فعالیت سلول‌های ماهیچه صاف عروق و آنژیوتانسین II می‌باشد. آنژیوتانسین II یک هورمون پپتیدی کوچک است که در فرآیندهایی از جمله انقباض عروق، التهاب، فیروز و رشد عروق درگیر است (۱۳).

پلی‌مورفیسم rs7887062 A/G یک واریانت اگزونی در توالی غیرکدکننده Lnc-Ang362 می‌باشد که با فراوانی الل مینور G برابر با ۰/۱۵ در جمعیت دیده می‌شود. احتمال می‌رود این تغییر نوکلئوتیدی به صورت عملکردی روی بیان رونوشت Lnc-Ang362 و در نتیجه، بیان miR-221 و miR-222 تأثیر داشته باشد. این مطالعه، با توجه به ارتباط پیچیده بین رونوشت حاصل از ژن Lnc-Ang362، miR-221 و miR-222، با هدف بررسی ارتباط بین پلی‌مورفیسم rs7887062 A/G در توالی Lnc-Ang362 با بروز بیماری‌های عروق کرونر در افراد بدون فاکتورهای خطر بیماری به منظور ایجاد دانش بنیادی در ارتباط با نقش توالی‌های غیرکدکننده در پاتوژنز CAD و شناسایی مارکرهای مولکولی که توانایی بالقوه در هدف‌گیری درمان مولکولی دارند، در جنوب ایران انجام شد.

مواد و روش ها

در این مطالعه مورد-شاهدی، ۱۵۰ فرد مبتلا به بیماری عروق کرونر که توسط متخصص قلب و عروق در بیمارستان قلب الزهراء شیراز در فاصله زمانی مهرماه ۱۳۹۴ تا تیر ماه ۱۳۹۵ براساس وجود آسیب‌های آترواسکلروتیک پس از انجام آنژیوگرافی تشخیص داده شدند، به عنوان گروه بیمار وارد مطالعه شدند. معیارهای ورود افراد به مطالعه شامل عدم سابقه بیماری دیابت، پرفشاری خون و هیپرکلسترولمی بوده است. با توجه به محدود شدن اندازه نمونه‌ها و محدودیت زمانی، تعدادی بیمار از بین افرادی که دارای سابقه خانوادگی بیماری‌های قلبی و یا مصرف کننده سیگار بودند، انتخاب شدند. گروه کنترل شامل ۱۴۹ فرد سالمی بود که از نظر سن (± 5 سال) و جنس با گروه بیمار همسان‌سازی گردید. مطابق با شرح حال این افراد، هیچ‌گونه سابقه ناهنجاری قلبی وجود نداشته است. نمونه‌های خون افراد سالم، از مراجعین به آزمایشگاه درمانگاه کیمیا جمع‌آوری گردید و تمام افراد فرم رضایت آگاهانه شرکت در طرح تحقیقاتی را تکمیل کردند. این مطالعه به تصویب کمیته پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارسنجان رسید.

استخراج DNA و تعیین ژنوتیپ با روش PCR-RFLP

پس از خارج کردن نمونه‌های خون از فریزر و ذوب شدن آنها در دمای آزمایشگاه، استخراج DNA با روش رسوب‌دهی با نمک اشباع انجام گرفت. کیفیت DNA های استخراج شده روی ژل آگارز ۱ درصد بررسی شد. توالی مجاور ناحیه پلی‌مورف rs7887062A/G توسط یک جفت پرایمر که توسط نرم‌افزار ID 7.5 allele طراحی شده بودند، تکثیر گردید. توالی پرایمرهای مورد استفاده به صورت، پرایمر مستقیم (F) 5'-CTAATTCTGAAAGCATCCCC' و پرایمر معکوس (R) 5'-TGAGAAGAAGCCAGGTAAT3' بوده است. واکنش PCR در حجم ۱۲/۵ میکرولیتر

شامل ۶/۲۵ میکرولیتر مسترمیکس (شرکت یکتا تجهیز آزما، ساخت ایران)، ۰/۵ میکرولیتر از هر پرایمر، ۰/۵ میکرولیتر DNA و ۴/۷۵ میکرولیتر آب استریل انجام شد. واکنش در دمای اتصال ۵۴ درجه سانتی‌گراد و برای ۳۰ سیکل تکرار گردید. محصولات حاصل از تکثیر با روش PCR روی ژل آگارز ۲ درصد ارزیابی شد. حدود ۱۰ میکرو لیتر از محصول PCR هر نمونه توسط آنزیم محدودگر XmiI (ACCI) (شرکت Fermentas، ساخت فرانسه) در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۶ ساعت هضم گردید. نتایج حاصل از هضم آنزیمی روی ژل آگارز ۲/۵ درصد مورد بررسی قرار گرفت.

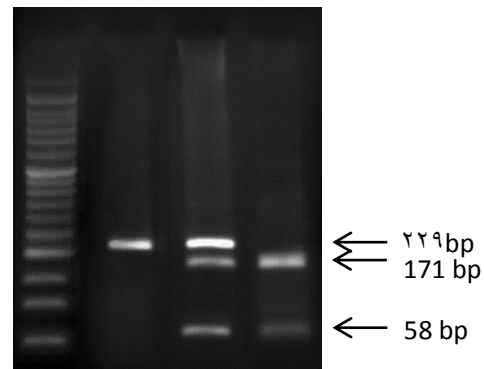
آنالیز آماری توسط نرم افزار SPSS نسخه ۱۹ انجام گرفت. متغیرهای کیفی به صورت فراوانی (درصد) و متغیرهای کمی به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار گزارش گردید. فراوانی‌های ژنوتیپی و آللی به صورت دستی محاسبه شد و تأثیر احتمالی ژنوتیپ‌ها روی ریسک بروز بیماری با آزمون رگرسیون لجستیک و محاسبه نسبت شانس (OR) با فاصله اطمینان ۹۵ درصد (95%CI) بررسی گردید و P کم‌تر از ۰/۰۵ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته ها

الگوی تفکیک محصولات PCR در ژل الکتروفورز برای تعدادی از نمونه‌های هضم شده توسط آنزیم XmiI روی ژل آگارز ۲/۵ درصد در تصویر شماره ۱ نشان داده شده است.

در این مطالعه ۱۵۰ فرد مبتلا به بیماری های عروق کرونر که فاقد فاکتورهای خطر برای بیماری بودند، با میانگین سن $51/45 \pm 10/70$ و ۱۴۹ فرد سالم با میانگین سن $51/94 \pm 10/15$ بررسی شدند. نسبت جنسی (مرد: زن) در این مطالعه ۲ به ۱ به دست آمد، به این مفهوم که بیماری در مردان با شیوع ۲ برابر نسبت به زنان بروز نموده است. اختلاف آماری معنی‌داری بین شاخص توده بدنی (BMI) در دو گروه بیمار و سالم مشاهده شد ($p=0/03$). وجود سابقه خانوادگی برای بیماری‌های

قلبی اختلاف آماری معنی داری بین دو گروه نشان نداد ($p=0/63$, $OR: 0/84$). مصرف کنندگان سیگار در گروه بیماری به طور قابل توجهی نسبت به گروه کنترل بیش تر بودند ($p \leq 0/001$ ، خصوصیات دموگرافیک جمعیت مورد بررسی در جدول شماره ۱ آورده شده است.



تصویر شماره ۱: الکتروفورتوگراف مربوط به هضم آنزیمی پلی مورفیسم rs7887062 با آنزیم XmiI. به ترتیب از راست به چپ نمونه‌ها دارای ژنوتیپ GG (حاصل برش توسط آنزیم XmiI در حضور آلل G)، AG و (محصول PCR حامل آلل A که توسط آنزیم برش نمی‌خورد) می‌باشند. چاهک سمت چپ ساینز مارکر ۵۰ جفت بازی است.

جدول شماره ۱: ویژگی‌های عمومی جمعیت مورد مطالعه

خصوصیات	کنترل (n=149)	بیمار (n=150)	سطح معنی داری
میانگین سن (سال)	51/94 ± 10/15	51/45 ± 10/70	* 0/69
شاخص توده بدنی (kg/m ²)	26/40 ± 3/72	25/50 ± 3/50	0/03
نسبت جنسی (مرد/زن)	50/99	45/105	-
سابقه خانوادگی			** 0/63
ندارند	129 ^b (86/6)	130 (88/4)	
دارند	20 (13/4)	17 (11/6)	
استعمال سیگار			< 0/001
ندارند	118 (79/2)	71 (48/3)	
دارند	31 (20/8)	76 (51/7)	

* آزمون t-مستقل، ** آزمون خی دو پیرسون

معنی داری نشان نداد ($p=0/37$, $\chi^2=0/79$, $df=1$). فراوانی ژنوتیپ‌های AA، AG و GG در جمعیت کنترل به ترتیب ۸۳/۹، ۱۴/۸ و ۱/۳ درصد و در جمعیت بیمار به ترتیب ۹۵/۳، ۳/۳ و ۱/۳ درصد بوده است. نتایج آزمون رگرسیون لجستیک نشان داد در حضور ژنوتیپ هتروزیگوت AG و ژنوتیپ‌های حامل حداقل یک آلل G (GG+AG)، ریسک بروز بیماری کاهش می‌یابد. در جدول شماره ۲ ارتباط پلی مورفیسم rs7887062 با بروز CAD بیان شده است. فراوانی آلل G، در بیماران ۰/۰۳ و در افراد سالم گروه کنترل ۰/۰۹ به دست آمده است. این اختلاف از نظر آماری معنی دار بوده، و اثر محافظتی روی ریسک بروز بیماری را نشان داد ($p=0/004$ ، $OR: 0/32$ ، $95\%CI: 0/15-0/7$).

جدول شماره ۲: ارتباط پلی مورفیسم rs7887062 با بروز CAD

ژنوتیپ/آلل	کنترل (درصد) n=149	بیمار (درصد) n=150	سطح معنی داری *	OR (95%CI)
جمعیت کل				
AA	125 (83/9)	143 (95/3)	-	reference
AG	22 (14/8)	5 (3/3)	0/02	0/19 (0/07-0/54)
GG	2 (1/3)	2 (1/3)	0/89	0/87 (0/12-6/3)
GG+AG	24 (16/1)	7 (4/6)	0/02	0/25 (0/11-0/61)
A	22 (14/8)	291 (19/7)	-	reference
G	26 (17/4)	9 (6/0)	0/04	0/32 (0/15-0/7)
مرد				
AA	84 (56/4)	99 (66/0)	-	reference
AG	14 (9/4)	4 (2/7)	0/1	0/24 (0/07-0/86)
GG	1 (0/7)	2 (1/3)	0/66	1/69 (0/15-19/04)
GG+AG	15 (9/8)	6 (4/0)	0/03	0/33 (0/12-0/91)
A	22 (14/8)	291 (19/7)	-	reference
G	26 (17/4)	9 (6/0)	0/07	0/45 (0/18-1/07)
زن				
AA	41 (27/1)	44 (29/3)	-	reference
AG	8 (5/4)	1 (0/7)	0/4	0/11 (0/01-0/97)
GG	1 (0/7)	0 (0/0)	1/00	0/00
GG+AG	9 (6/0)	1 (0/7)	0/03	0/10 (0/01-0/85)
A	22 (14/8)	291 (19/7)	-	reference
G	26 (17/4)	9 (6/0)	0/03	0/10 (0/01-0/81)

* آزمون رگرسیون لجستیک، مقادیر $p < 0/05$ معنی دار در نظر گرفته شده است.

در آنالیزهای بعدی، جمعیت براساس جنسیت تقسیم‌بندی گردید و ارتباط ژنوتیپی و آللی در جایگاه پلی مورفیسم rs7887062A/G با ریسک بروز بیماری به طور مستقل در دو جنس بین گروه سالم و بیمار مقایسه شد. اثر محافظتی در برابر بروز بیماری CAD،

مقایسه فراوانی ژنوتیپی مشاهده شده در ارتباط با پلی مورفیسم rs7887062A/G با مقادیر مورد انتظار براساس تعادل هاردی-واینبرگ در جمعیت کنترل اختلاف

برای ژنوتیپ هتروزیگوت AG و ژنوتیپ‌های حامل آلل G در هر دو جمعیت زنان و مردان به دست آمد ($p < 0.05$). در جمعیت مردان ارتباط آللی با ریسک بروز بیماری دیده نشد ($p = 0.07$ ، CI: $0.18-1.07$ ، $p = 0.45$ OR)، این درحالی است که در جمعیت زنان کاهش ریسک بروز بیماری در حضور آلل G مشاهده گردید ($p = 0.03$ ، CI: $0.01-0.81$ ، $p = 0.10$ OR). جزئیات اطلاعات آماری در جدول ۲ مشخص گردید.

بحث

ترانسکریپتوم شامل مجموعه هتروژنی از انواع مختلف RNA است که تنها درصد کمی از آن‌ها (۲ درصد) حاوی اطلاعات ژنتیکی برای سنتز پروتئین می‌باشند (۱۶). lncRNAها بخش قابل توجه‌ای از این هتروژنی را شامل می‌شوند و با توجه به نقش‌های تنظیمی مهمی که برای آن‌ها شناخته شده است، در سال‌های اخیر توجه محققان زیادی را به خود جلب کرده است (۹). تغییر عملکرد و بیان RNAهای غیرکدکننده با اختلالات قلبی - عروقی همچون انفارکتوس میوکارد، هیپرتروفی قلب و بیماری‌های عروق کرونر ارتباط دارد (۱۷-۱۹). تکامل قلب یک فرایند بیولوژیکی از تمایز متقارن انواع مختلف سلول می‌باشد که در این فرایند، تنظیم دقیق بیان ژن در مکان و زمان مناسب بسیار اهمیت دارد. با توجه به نقش تنظیمی lncRNAها در مراحل مختلف بیان ژن، جای تعجب نیست که RNAهای غیرکدکننده طولی همچون Fendrr، Braveheart (Bvht) و Kcnq1ot1 در تکامل قلب دخیل هستند، که این موضوع با مطالعات اخیر که انجام شده است به اثبات رسید (۲۰). جایگاه 9p21 یک جایگاه کروموزومی مستعد برای CAD می‌باشد، که با آنالیز تعیین توالی وجود ژن کدکننده نوعی lncRNA به نام ANRIL در این ناحیه نقشه‌برداری شده است (۲۱-۲۳). در مطالعات پیوستگی توسط Congrains و همکاران در

سال ۲۰۱۲، ارتباط پلی‌مورفیسم‌های بین دو توالی غیرکدکننده ANRIL و CDKN2A/B با اختلالات قلبی - عروقی تأیید گردید و مشخص شد که پلی‌مورفیسم‌های ناحیه 9p21 بیان ژن ANRIL را به شدت تحت تأثیر قرار می‌دهند (۲۴). در راستای این مطالعه، Gao و همکاران در مطالعه‌ی خود در سال ۲۰۱۵، با بررسی ارتباط پلی‌مورفیسم‌های توالی غیرکدکننده طولی H19 با بیماری‌های عروق کرونر در جمعیت چین، برای اولین بار مشخص نمودند که پلی‌مورفیسم‌های رایج ژن H19 با خطر ابتلا به بیماری عروق کرونر شدید در جمعیت چین ارتباط دارد (۲۵). در مطالعه Tang و همکاران در سال ۲۰۱۶، در بررسی ارتباط پلی‌مورفیسم‌های توالی lincRNA-p21 با استعداد ابتلا به بیماری‌های عروق کرونر در جمعیت چین، اثر حفاظتی هاپلوتیپ G-A-A-G در برابر بروز بیماری‌های قلبی - عروقی دیده شد که نتیجه این مطالعه در راستای نتایج مطالعات قلبی بوده است (۲۶). نتایج مطالعات پیوستگی مؤید تأثیر توالی‌های lncRNA در پاتوژن بیماری‌های قلبی - عروقی است، اما این مطالعات در ابتدای راه بوده و انجام مطالعات ژنومیکس عملکردی جهت روشن شدن مکانیسم دخالت lncRNAs در پاتوژن بیماری‌های قلبی - عروقی ضروری و اجتناب‌ناپذیر است. به‌عنوان نمونه برخی lncRNAs علاوه بر دخالت مستقیم در روند بیماری‌زایی، به‌طور غیرمستقیم با اثر روی رونوشت‌های دیگر سلول مانند انواع miRNAها و ایجاد تغییر و خنثی کردن عملکرد آن‌ها نیز در فرایندهای بیولوژیکی و مسیرهای بیماری‌زایی دخالت می‌کنند (۱۲). یکی از انواع همراهی عملکرد lncRNA با miRNAs مربوط به رونوشت Lnc-Ang362 می‌باشد که در تنظیم بیان دو miRNA شامل miR-221 و miR-222 درگیر است، به‌طوری‌که بیان سه رونوشت در پاسخ به آنژیوتانسین II القاء می‌گردد (۱۲). این دو miRNAs به وفور در سلول‌های اندوتلیال عروق بیان می‌شوند و اثرات آنتی-آنژیوژنیک دارند (۲۷). از طرف دیگر

miR-221 و miR-222 به‌طور مستقیم گیرنده سلول بنیادی c-kit را که نقش کلیدی در مهاجرت سلول‌های اندوتلیال دارد، هدف قرار می‌دهند (۲۷). اخیراً نیز نشان داده شده است که miR-221 و miR-222 در تنظیم منفی بیان ژن Ets-1 که فرآیندهای التهابی را هنگام التهاب عروق تنظیم می‌کند، دخالت دارند (۲۸). با توجه به نقش‌های کلیدی miR-221 و miR-222 در سلول‌های اندوتلیال و اهمیت سلامت این سلول‌ها در مسیر بیماری‌زایی CAD، با این پیش‌فرض که واریانت‌های توالی Lnc-Ang362 می‌تواند روی بیان آن و در نتیجه، بیان miR-221 و miR-222 نقش داشته باشد، در این مطالعه برای اولین بار ارتباط بین پلی‌مورفیسم rs7887062A/G در توالی غیرکدکننده طویل Lnc-Ang362 با خطر بروز بیماری‌های عروق کرونر در گروهی از بیماران فاقد فاکتورهای خطر برای CAD مورد بررسی قرار گرفت. یافته‌ها حاکی از اثر محافظتی ژنوتیپ هتروزیگوت و ژنوتیپ‌های حامل حداقل یک آلل G در برابر ریسک بروز بیماری بوده است. Lnc-Ang362 احتمالاً به‌دنبال تأثیر روی miRNA روی تکثیر سلولی و بیان اجزای ضروری پیشرفت چرخه سلولی مانند Mcm7 نیز تأثیر می‌گذارد (۱۵). آنالیزهای بیش‌تر در مورد تنظیم شروع رونویسی در Lnc-Ang362، اطلاعات مفیدی در زمینه این که چگونه دو miRNA و Lnc-Ang362 در ضمن تکثیر سلول‌های عضله صاف عروق تنظیم می‌گردند، ایجاد خواهد کرد. این احتمال نیز وجود دارد که Lnc-Ang362 اثرات مستقل از miRNA نیز داشته باشد (۱۵). یکی از محدودیت‌های مطالعه حاضر عدم بررسی ارتباط شدت بیماری (به عنوان مثال، تعداد رگ درگیر) با

ژنوتیپ‌های پلی‌مورفیسم مطالعه شده می‌باشد. از طرفی، با توجه به این که این مطالعه برای اولین بار به بررسی ارتباط پلی‌مورفیسم rs7887062A/G در توالی غیرکدکننده طویل Lnc-Ang362 با خطر بروز بیماری‌های عروق کرونر پرداخته است، پیشنهاد می‌شود که نتایج مطالعه حاضر با بررسی نمونه‌های بزرگ‌تر و همچنین در سایر جمعیت‌ها تأیید گردد.

نتیجه مطالعه حاضر بینش بنیادی در ارتباط با دخالت واریانت‌های Lnc-Ang362 در بروز بیماری‌های عروق کرونر ایجاد نموده است. اگر چه درک مکانیسم دقیق عمل این رونوشت در بیماری‌زایی CAD نیاز به مطالعات عملکردی و بررسی تغییرات بیان ژن‌های پایین دستی این مولکول دارد، با این وجود پیش‌بینی می‌شود که در آینده نزدیک lncRNAهای بیش‌تری در پاتوژنز بیماری‌های قلبی-عروقی شناسایی شوند و درک مکانیسم مولکولی عمل آن‌ها اساس کشف شیوه‌های درمانی جدید قرار گیرد.

سپاسگزاری

نویسندگان مراتب تشکر و قدردانی خود را نسبت به جناب آقای دکتر قاضی‌پور مدیریت بیمارستان خیریه قلب الزهراء شیراز و پرسنل محترم بخش آنژیوگرافی و سرپرستار بخش CCU بابت همکاری صمیمانه در امر نمونه‌گیری را ابراز می‌دارند. همچنین، از خانم نسیم جعفری کارشناس آزمایشگاه ژنتیک مولکولی برای نظارت بر حسن انجام مراحل عملی-آزمایشگاهی پروژه کمال تشکر را دارند. نتایج این تحقیق حاصل بخشی از پایان‌نامه خانم بازویی دانشجوی کارشناسی ارشد ژنتیک مولکولی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارسنجان می‌باشد.

References

1. McCullough PA. Coronary artery disease. Clinical Journal of American Society Nephrology 2007; 2(3): 611-616.
2. Wang Q. Advances in the genetic basis of coronary artery disease. Curr Atheroscler Rep 2005; 7(3): 235-241.

3. Khamis RY, Ammari T, Mikhail GW. Gender differences in coronary heart disease. *Heart* 2016;102(14):1142-1149.
4. Higgins M. Patients, families and populations at high risk for coronary heart disease. *Eur Heart J* 2001; 22(18): 1682-1690.
5. Dai X, Wiernek S, Evans JP, Runge MS. Genetics of coronary artery disease and myocardial infarction. *World J Cardiol* 2016; 8(1): 1-23.
6. Kudumula CR. Regulatory noncoding RNAs in cardiovascular disease: Shedding light on "Dark Matter". *J Cardiovasc Dis* 2015; 3: 301-307.
7. Noori-Daloi MR, Eshaghkhani Y. lncRNAs: significance and function mechanisms. *Medical Science Journal of Islamic Azad University Tehran* 2015; 25(2): 79-94 (Persain).
8. Slavoff SA, Mitchell AJ, Schwaid AG, Cabili MN, Ma J, Levin JZ, et al. Peptidomic discovery of short open reading frame–encoded peptides in human cells. *Nat Chem Biol* 2013; 9(1): 59-64.
9. Fabian MR, Sonenberg N, Filipowicz W. Regulation of mRNA translation and stability by microRNAs. *Annu Rev Biochem* 2010; 79: 351-379.
10. Li J, Xuan Z, Liu C. Long non-coding RNAs and complex human diseases. *Int J Mol Sci* 2013; 14(9): 18790-18808.
11. Chang TY, Huang TS, Wang HW, Chang SJ, Lo HH, Chiu YL, et al. miRNome traits analysis on endothelial lineage cells discloses biomarker potential circulating microRNAs which affect progenitor activities. *BMC Genomics* 2014; 15(1): 802.
12. Song X, Shan D, Chen J, Jing Q. miRNAs and lncRNAs in vascular injury and remodeling. *Sci China Life Sci* 2014; 57(8): 826-835.
13. Leung A, Trac C, Jin W, Lanting L, Akbany A, Sætrom P, et al. Novel long noncoding RNAs are regulated by angiotensin II in vascular smooth muscle cells. *Circ Res* 2013; 113(3): 266-278.
14. Ji R, Cheng Y, Yue J, Yang J, Liu X, Chen H, et al. MicroRNA expression signature and antisense-mediated depletion reveal an essential role of MicroRNA in vascular neointimal lesion formation. *Circ Res* 2007; 100(11): 1579-1588.
15. Liu X, Cheng Y, Zhang S, Lin Y, Yang J, Zhang C. A necessary role of miR-221 and miR-222 in vascular smooth muscle cell proliferation and neointimal hyperplasia. *Circ Res* 2009; 104(4): 476-487.
16. Conesa A, Madrigal P, Tarazona S, Gomez-Cabrero D, Cervera A, McPherson A, et al. A survey of best practices for RNA-seq data analysis. *Genome Biol* 2016; 17: 13.
17. Fiedler J, Thum T. MicroRNAs in myocardial infarction. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2013; 33(2): 201-215.
18. Holdt LM, Teupser D. Recent studies of the human chromosome 9p21 locus, which is associated with atherosclerosis in human populations. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2012; 32(2): 196-206.
19. Small EM, Olson EN. Pervasive roles of microRNAs in cardiovascular biology. *Nature* 2011; 469(7330): 336-342.
20. Jiang X, Ning Q. The emerging roles of long noncoding RNAs in common cardiovascular diseases. *Hypertens Res* 2015; 38(6): 375-379.
21. McPherson R, Pertsemlidis A, Kavaslar N, Stewart A, Roberts R, Cox DR, et al. A common allele on chromosome 9 associated with coronary heart disease. *Science* 2007; 316(5830): 1488-1491.

22. Samani NJ, Erdmann J, Hall AS, Hengstenberg C, Mangino M, Mayer B, et al. Genomewide association analysis of coronary artery disease. *New Engl J Med* 2007; 357(5): 443-453.
23. Broadbent HM, Peden JF, Lorkowski S, Goel A, Ongen H, Green F, et al. Susceptibility to coronary artery disease and diabetes is encoded by distinct, tightly linked SNPs in the ANRIL locus on chromosome 9p. *Hum Mol Genet* 2008; 17(6): 806-814.
24. Congrains A, Kamide K, Oguro R, Yasuda O, Miyata K, Yamamoto E, et al. Genetic variants at the 9p21 locus contribute to atherosclerosis through modulation of ANRIL and CDKN2A/B. *Atherosclerosis* 2012; 220(2): 449-455.
25. Gao W, Zhu M, Wang H, Zhao S, Zhao D, Yang Y, et al. Association of polymorphisms in long non-coding RNA H19 with coronary artery disease risk in a Chinese population. *Mutat Res* 2015; 772: 15-22.
26. Tang Ss, Cheng J, Cai My, Yang Xl, Liu Xg, Zheng By, et al. Association of lincRNA-p21 Haplotype with Coronary Artery Disease in a Chinese Han Population. *Dis Markers* 2016; 2016.
27. Poliseno L, Tuccoli A, Mariani L, Evangelista M, Citti L, Woods K, et al. MicroRNAs modulate the angiogenic properties of HUVECs. *Blood* 2006; 108(9): 3068-3071.
28. Zhan Y, Brown C, Maynard E, Anshelevich A, Ni W, Ho IC, et al. Ets-1 is a critical regulator of Ang II-mediated vascular inflammation and remodeling. *J Clin Invest* 2005; 115(9): 2508-1256.