فصلنامه (علمی – پژوهشی)
زیست شناسی تکوینی
سال یازدهم، شماره ۳، تابستان ۱۳۹۸ ص. ۴۶-۳۷

مقاله پژوهشی

بررسی *miR-133* دخیل در روند آپوپتوز سلول های قلب شناور در سرم خون بیماران دچار انفارکتوس میوکارد حاد

شیوا کثیر الخیر[۱]، چنگیز احمدی زاده[۱*]، هوشنگ حسین زاده مقبلی[۲]

[۱] گروه زیست شناسی، واحد اهر ،دانشگاه آزاد اسلامی، اهر، ایران
[۲] گروه ژنتیک مولکولی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران

[*] Email: ch-ahmadizadeh@iau-ahar.ac.ir

تاریخ دریافت: ۹۷/۰۹/۲۴ تاریخ پذیرش: ۹۸/۰۴/۲۹

چکیده

آنفارکتوس میوکارد به عنوان یکی از شایع ترین بیماریهای قلبی ناتوان کننده و مرگ آورناشی از انهدام و مرگ سلولی دائم و برگشت ناپذیر در بخشی از عضله قلب است. بعد از کشف بیش از ۲۵۰۰ نوع *miRNA* رفته‌رفته اهمیت این تنظیم‌کنندگان مکانیسم و سیگنال‌های مولکولی و مسیرهای ژنی در پروسه‌ها و مکانیسم سلولی بخصوص در سیستم قلبی عروقی مشخص‌شده است. هدف از این تحقیق بررسی *miR-133* دخیل در روند آپوپتوز سلول های قلب شناور درسرم خون بیماران دچار MI(Myocardial Infarction) می باشد. برای این منظور، در این مطالعه موردی –شاهدی بیان *miR-133* در ۷۰ بیمار بستری به علت MI در بیمارستان شهید مدنی تبریزدر سال ۹۶، توسط Real time PCR بررسی و با همان تعداد فرد سالم مقایسه شد. تجزیه و تحلیل آماری با نرم‌افزار SPSS *(version19)* و با به کار بردن t-test انجام شد.مقادیر $P\geq 0.05$ معنادار در نظر گرفته شد. سطح بیان *miR-133* در بیماران مبتلا به MI در مقایسه با گروه کنترل افزایش چشمگیری نشان داد که از لحاظ آماری نیز معنادار بود (P=0.009). همچنین نتایج نشان داد بیان *miR-133* در جنسیت‌های مختلف تفاوت معنی‌داری از نظر آماری ندارند (P=0.06). این مطالعه نشان داد که بیان ژن *miR-133* در افراد دچار MI بیشتر از افراد سالم می‌باشد و بیان آن می‌تواند به عنوان عامل تشخیصی و همچنین در تعیین پیش آگهی بیماران مبتلا به MI به کار رود.

کلیدواژه‌ها: انفارکتوس میوکارد حاد (MI)، آپوپتوز، *miR-133*.

مقدمه

بیماری‌های قلبی اسکیمیک (IHD) دلیل بیشتر مرگ و میرها در سطح جهان می‌باشد (۱). برخلاف بیشتر ارگان‌های بدن قلب به‌طور طبیعی توانایی بازسازی محدودی دارد که باعث اختلال عملکرد آن در شرایط پاتولوژیک مانند MI (انفارکتوس میوکارد)

که منجر به نارسایی قلبی می‌شود [۵]. ریسک فاکتورهای بیماری‌های قلبی شامل سن، چاقی، سبک زندگی، کلسترول تام، تغذیه ناسالم و فشار خون بالا می‌باشد. بیماری‌های قلبی-عروقی در میان عوامل منتهی به مرگ در حال افزایش است و طبق پیش‌بینی سازمان جهانی بهداشت، عامل اصلی مرگ ومیر در سراسر دنیا، در سال ۲۰۲۰ خواهد بود [۱]. بیماری عروق کرونر قلب طیف گسترده‌ای می‌باشد که یکسر آن شامل آسیب قابل برگشت میوکارد و انتهای دیگر آن شامل انفارکتوس حاد میوکارد است. عواملی که در ارتباط افزایش خطر ایجاد بیماری عروق کرونر قلب می‌باشند را می‌توان به سه دسته بزرگ واصلی تقسیم نمود که شامل: عوامل غیرقابل اصلاح و تغییر، عوامل قابل اصلاح و عوامل خطر قلبی پیشنهاد شده است [۱۸]. میکرو آر. ان ای‌ها مولکول‌های ریبو نوکلئیک اسید (RNA) کوچک نک زنجیرهای غیر کد کننده با حدود ۲۲ نوکلئوتید هستند که از طریق جفت شدن با نواحی نسبتا مکمل RNAپیامبر در نواحی ترجمه نشدنی ′۳، بیان mRNA را با مهار یا منجر به تجزیه آن می‌شود [۲]. میکروآر. ان. ای. ها تنظیم کننده کلیدی برنامه‌های ژنتیکی مانند عملکرد اندوتلیال، متابولیسم چربی،تکامل قلبی، هایپرتروفی بطنی و اختلال ضربان قلب پس از آنفارکتوس میوکارد هستند [۱۲]. در مطالعات متعدد نقش miRNAs در ترمیم بافت قلب پس ازآنفارکتوس میوکارد بررسی شده است. بر اساس این مطالعات، miRNAs تمایز سلول‌های بنیادی را به رده کاردیومیست آغاز می‌کنند. شناخته شده‌ترین miRNAs در این زمینه *miR-133* می‌باشد [۷]. *miR-133a* تنها در عضله قلبی بیان می‌شود و تمایز سلول‌های مزودرمی به سلول هاس پیش‌ساز عضله قلبی و همچنین تمایز سلول‌های پیش‌ساز به کاردبومیست را مهار می‌کند. در همین راستا *miR-133* در کاردیومیست‌ها اپوپتوز ناشی از استرس اکسایشی را کاهش و اثر حفاظتی در برابر مرگ سلولی ناشی از H_20_2 دارد [۹]. امروزه روش‌های درمانی تهاجمی و غیر تهاجمی بسیاری مانند تغییر شیوه زندگی، جراحی‌های باز قلب و بای پس، آنژیوپلاستی و کاشت استنت، درمان‌های دارویی و در موارد خاصی پیوند قلب و ... برای درمان بیماری‌های قلبی و عروقی بکار می‌رود. بعد از کشف miRNA ها در سال ۱۹۹۰ و کشف بیش از۲۵۰۰ نوع miRNA رفته رفته اهمیت این تنظیم‌کنندگان مکانیسم و سیگنال‌های مولکولی و مسیرهای ژنی مشخص شده است. miRNA به‌عنوان RNA های کوچک غیر کد کننده در مرحله پیش از ترجمه و بیان ژنی، پروسه‌های بیولوژیک ، سرکوب و یا تنظیم سیگنالینگ های ژنی نقش تنظیمی و مهمی در مسیرهای مولکولی و ژنی دارند [۲۳]. از miRNA های اختصاصی قلب می‌توان *miR1* و *miR-133* را نام برد. همچنین miRNA های زیادی وجود دارند که در بیماری‌های قلبی عروقی افزایش یا کاهش پیدا می کنند مانند *miR15* در پاسخ به MI و *miR1* در پاسخ به اسکیمی قلبی حاد و در بیماران با جراحی قلب باز، *miR-21* در پاسخ به آپوپتوز سلولی در میوسیت‌ها [۳]. هدف از این مطالعه بررسی miR-133 دخیل در روند آپوپتوز سلول‌های قلب شناور در سرم خون بیماران دچار MI می‌باشد.

مواد و روش کار

در این مطالعه ۷۷ زن و مرد مبتلا به بیماری قلب و عروق با عارضه سکته MI با تشخیص بالینی

پزشک متخصص بستری در بیمارستان فوق تخصصی قلب شهید مدنی تبریز،در محدوده‌ی سنی ۶۰-۳۰ در سال ۱۳۹۶ در صورت دارا بودن معیارهای ورود به مطالعه، وارد مطالعه شدند. از تمامی شرکت کنندگان پس از توضیح کامل مطالعه، رضایت نامه کتبی گرفته شد. داده‌ها برگرفته از گزارش نوار قلب، آزمایشگاه و اکوکاردیوگرافی بیماران بوده است. تاریخچه ابتلا به بیماری (مثبت، منفی)، دریافت داروئی، سابقه جراحی و و فعالیت بدنی (فعالیت بدنی: ندارد، کم، متوسط، فعال و بسیار فعال) و پرسشنامه تغذیه‌ای نیز توسط پرسشگران آموزش دیده با استفاده از پرسشنامه دموگرافیک به دست آمده است. همچنین پرسشنامه مربوط به شاخص‌های فعالیت، تغذیه، سبک زندگی تکمیل شده، سپس متغیرهای تغذیه‌ای، سبک زندگی، مارکرهای بیوشیمیایی و شدت بیماری آنالیز گردیده و نتایج ثبت شده است. بعد از تحویل خون به مقدار ۵ میلی‌لیتر از هر فرد به صورت محیطی از بیماران، در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد در ظروف حاوی EDATA تا زمان انجام آزمایشات نگهداری شد.

روش استخراج Micro-RNA

در این مطالعه حدود دویست میکرولیتر سرم توسط کیت اختصاصی جداسازی و استخراج microRNA ها با استفاده از miRCURY RNA isolation kit از شرکت اگزیکون انجام شد. برای تعیین غلظت RNA از دستگاه نانودراپ استفاده شد و اساس کار این دستگاه اسپکتروفتومتری بوده که سرعت و دقت بالایی در سنجش غلظت اسیدهای نوکلئیک دارد. این دستگاه OD (optical density) نمونه را در طول موج ۲۶۰ nm برای تعیین غلظت RNA اندازه‌گیری کرد، هر واحد OD در طول موج ۲۶۰nm برابر با 40 ng/ml از RNA تک رشته‌ای است.

سنتز cDNA

برای سنتز micro RNA cDNA از کیت شرکت Exiqon استفاده شد. دستورالعمل این شرکت شامل ۲ مرحله است. مرحله اول شامل اضافه کردن poly A و مرحله دوم reverse transcription می‌باشد. بر طبق پروتکل ابتدا با آنزیمی که ازویروس گرفته شده صاحب دم poly A از انتهای 3 شده، سپس توسط پیرایمر مخصوص کیت از تمام RNA های کوچک cDNA ساخته شد. مرحله اول در دمای ۴۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۶۰ودقیقه و واکنش مرحله دوم در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ ثانیه انکوبه شد.

Real-time-PCR

میزان بیان ژن‌ها به وسیله‌ی دستگاه Lightcycler96-Roche اندازه‌گیری شد. ابتدا cDNAهای سنتز شده را با توجه به توصیه کیت مورد استفاده، ۱ به ۲۰ رقیق شدند.سپس با استفاده از پیرایمرهای اختصاصی اقدام به آماده‌سازی نمونه‌ها برای Real-time PCR در حجم نهایه ۱۰ میکرولیتر گردید. بعد از آماده‌سازی محلول طبق توضیه کیت با استفاده از برنامه (جدول ۱) و دستگاه light 96 Roche اقدام به بررسی میزان بیان ژن ها گردید و سپس با استفاده از فرمول $2^{-\Delta\Delta ct}$ اقدام به بررسی میزان نمونه‌ها گردید. در این مطالعه برای حصول اطمینان از صحیح سنتز cDNA اقدام به انجام PCR برای houskeeping U6 گردید.برای نرمال سازی بیان ژن‌ها در نمونه های کنترل و تومور با توجه به اینکه پرایمرهای مورد استفاده به صورت کاملا تجاری

بوده و طبق ادعای شرکت سازنده دارای حداکثر بازدهی در طول واکنش هستند ازفرمول $\Delta ct=ct\ (target)-ct(control)$ استفاده گردید سپس در هر یک از دو گروه برای درک چگونگی تغییرات بیان ژن ها Δct محاسبه شده برای هر یک از نمونه‌ها در فرمول $2^{-\Delta\Delta ct}$ برای هر یک وارد شده تا بیان دقیق هر نمونه مشخص شود در نهایت داده‌های حاصله در دو گروه با استفاده از روش‌های آماری با هم مقایسه گردید [۱۱]. همچنین با توجه به اینکه در این مطالعه هم برای ژن کنترل داخلی و ژن‌های مورد بررسی از کیت real time ویژه micro RNA ساخت کمپانی Exiqon استفاده شد که مراحل انجام تکنیک و دمای مرحله اتصال پرایمر در این کیت برای تمام ژن‌ها یکسان و برابر با ٦٠ درجه سانتی‌گراد مشخصات پرایمرهای استفاده شده در جدول ۱ آمده است.

جهت آنالیز داده‌ها از نرم‌افزار SPSS(*version19*) و t-test داده‌ها تجزیه وتحلیل گردید مقادیر $P\geq 0.05$ معنادار در نظر گرفته شد.

نتایج

اطلاعات دموگرافیک افراد مورد مطالعه در جدول ۲ و منحنی ذوب در شکل ۱ قابل مشاهده هستند. تایید اختصاصی بودن عملکرد پرایمرها و نیز عدم آلودگی به DNA ژنومی با بررسی پیک منحنی اختصاصی ذوب در دمای ۷۸ درجه سانتی‌گراد نشان داده شد. میانگین سنی مردان و زنان گروه بیمار مورد مطالعه به ترتیب ٤±٧٥ و ٢±٦٨ می‌باشد. میانگین سنی مردان و زنان گروه سالم مورد مطالعه به ترتیب ١±٤٠ و ٢±٤٢ می‌باشد.

جدول ۱- مشخصات پرایمر های مورد استفاده در پژوهش

miR-133	EXIQON, LNA Fwd Primer, Fwd hsa -miR-133b, 204162-02 Batch 126426, 100 rnx LAN Rev Primer, Rev hsa-miR-133b, 204162-02 Batch 126425, 100 rnx
U6	EXIQON,U6 snRNA (hsa, mmu, rno) PCR primer set, UniRT. miRCURY LNA™ Universal RT micro RNA PCR, reference gene primer set. NCBI Symbol U6snRNA,NCBI Accesion: 203907

جدول ۲: شرایط دمایی PCR

مرحله	زمان	دما
دناتوره	۱۰ دقیقه	۹۵ C̊
دناتوره	۱۰ ثانیه	۹۵ C̊
اتصال و تکثیر	٦٠ ثانیه	٦٠ C̊ مرحله تکثیر به تعداد ٤٥ چرخه

جدول(۳):اطلاعات دموگرافیکی افراد مورد مطالعه

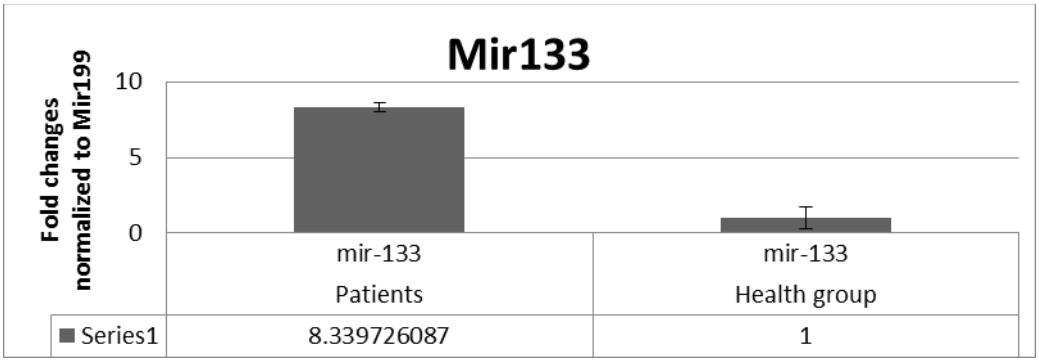
ویژگی	زنان بیمار شرکت‌کننده در این مطالعه	مردان بیمار شرکت‌کننده در این مطالعه	زنان سالم شرکت‌کننده در این مطالعه	مردان سالم شرکت‌کننده در این مطالعه
سن (سال)	٧٥±٤	٦٨±٢	٤٠±٣	٤٢±٢
وزن (کیلوگرم)	٦٥±٣	٧٩±٣	٦١±٣	3٧٨±
قد (سانتی‌متر)	١٥٩±٢	١٦٦±٢	١٦٤±١	١٦٩±٣
شاخص توده بدن (kg/m^2)	٢٢±١	٢٤±٠/٤	٢٠±١	٢٥±١

با توجه به جدول شماره ٤ تفاوت معنی‌داری در مقادیر ترپونین بین افراد سالم و بیمار مشاهده نگردید ($p\leq0.05$)

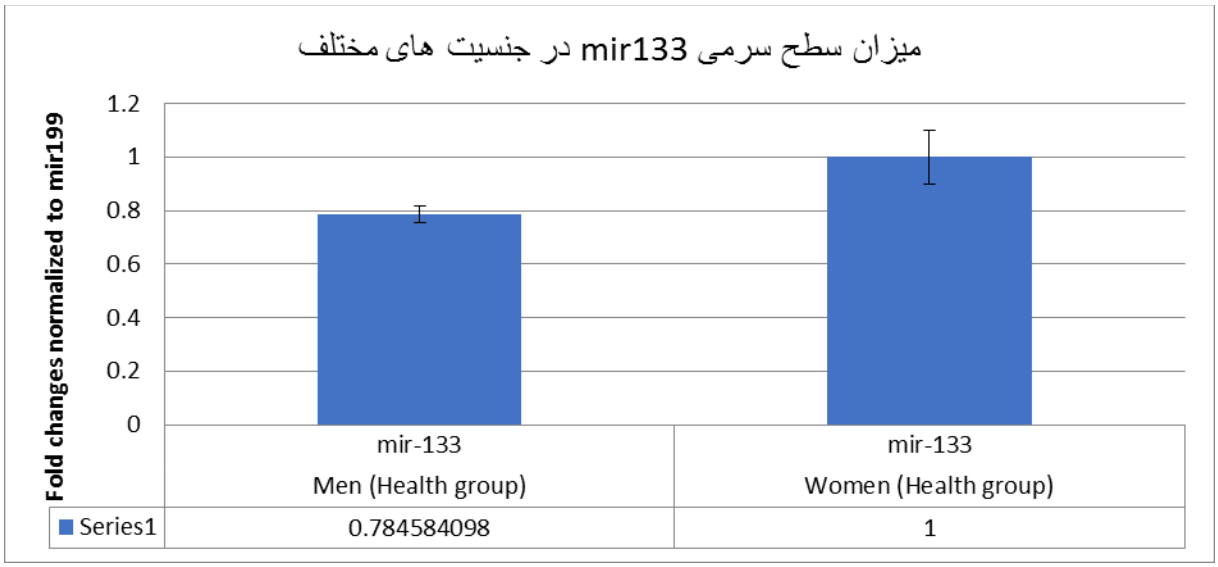
در مطالعه‌ی حاضر بررسی بیان Micro RNA به روش RT-PCR با استفاده از رنگ سایبرگرین انجام شد.نتایج حاصل از بررسی میزان بیان ژن Mir-133 در سرم خونی افراد مبتلا به بیماری MI و افراد سالم که با استفاده از فرمول ΔCt مورد بررسی قرار گرفت. شایان ذکر است که در مطالعه ی حاضر از ژن U6 به عنوان ژن کنترل کننده ی داخلی استفاده گردید.

جدول (٤): میانگین و انحراف استاندارد مقادیر cTnT و cTnI (نانوگرم/ سی‌سی)

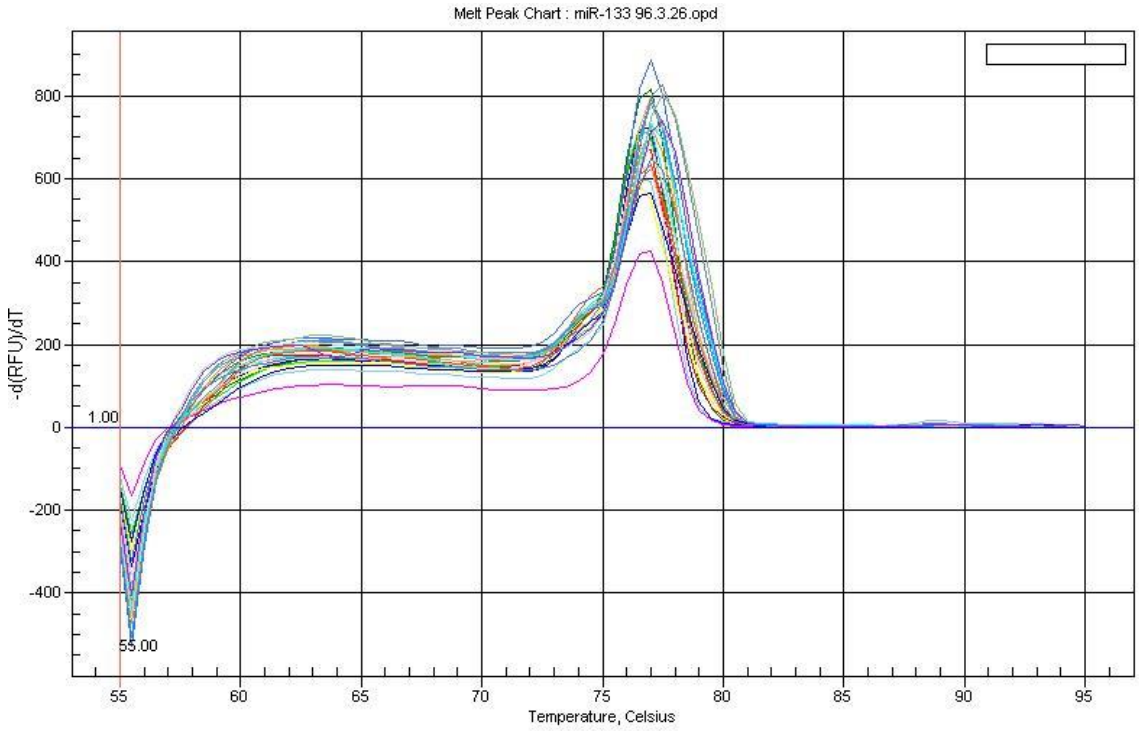
زمان فاکتور	افراد سالم	افراد بیمار	p-value
cTnT(ng/ml)	۰۰۰	۰/۰۱۳±۰/۰۱	۰/۰۷
cTnI(ng/ml)	۰۰۰	۰/۰۱۱±۰/۰۱	۰/۰۹



نمودار (۱): بیان سطح *mir-133* در خون افراد بیماری و کنترل. همه ct های بدست امده بر ژن U6 نرمالایز شده است. نتایج نشان می‌دهد این *miR-133* در بیماران دو نیم برابر بیشتر شده است. سطح بیان *mir-133* در خون افراد بیمار و کنترل ارزیابی شدند که در گروه بیمار میانگین ۸/۳۳ ±۰/۷۸ و در گروه کنترل ۱ بود که اختلاف معناداری بین دو گروه مشاهده شد. (p_value=0.009)



نمودار(۲): بیان سطح *mir-133* در زنان و مردان. همه ct های بدست امده بر ژن U6 نرمالایز شده است. نتایج نشان می‌دهد این *miR-133* در زنان و مردان تفاوتی ندارد و می توان در همه انها به طور یکسان در تشخیص سریع بیماری ها استفاده نمود (P-value=0.06)



شکل ۱. نمونه منحنی ذوب پس از انجام Real Time PCR. وجود باندهای تک نشان‌دهنده تکثیراختصاصی و بدون مشکل می‌باشد.

بحث:

سکته قلبی و یا آنفارکتوس میوکارد (Myocardial infarction) یا حمله قلبی، عبارت از انهدام و مرگ سلولی دائم و غیرقابل برگشت در بخشی از عضله قلب (میوکارد) است که به علت ازبین‌رفتن جریان خون و وقوع یک ایسکمی شدید در آن قسمت از قلب روی می‌دهد [٦]. این توقف گردش خون ممکن است ناگهانی و بدون هیچ علائم قبلی نمایان گردد یا پس از چند حمله آنژینی (درد قفسه سینه) نمود یابد. عمده‌ترین دلیل سکته بسته شدن رگ‌های تغذیه‌کننده قلب است. برای رفع انسداد غیر از دارو، از بالن و جراحی قلب باز (تعویض رگ مسدود شده) استفاده می‌شود. سکته قلبی نوعی عارضه فراگیر است که هرساله باعث درگذشتن هزاران تن می‌گردد [۱۰]. در میان عوامل مساعدکننده دیابت، فشارخون بالا، کلسترول خون بالا افراط در استعمال دخانیات و الکل، عدم فعالیت بدنی، فشار عصبی، سابقه فامیلی و سن قابل ذکرند (١٤). به‌طور یقین این بیماری خیلی وخیم است و سالیانه تنها در آمریکا، در سال ۲۰۰٤ میلادی، بیش از ۱۵۰۰۰۰ نفر از این عارضه جان باختند [۱۵]. بنابراین تشخیص سریع این بیماری برای پیشگیری از مرگ هزاران نفر الزامی می‌باشد. تست‌های تشخیص آزمایشگاهی بر روی خون از اهمیت خاصی در تشخیص سریع افراد بیمار و بررسی درمان و یا تعیین ریسک حمله مجدد در آینده برخوردار هستند. مارکرهای بیوشیمیایی آسیب میوکارد به‌طور عمده در اوائل دهه ۱۹۵۰ کشف شدند آنزیم‌های ترانس آمیناز که بعداً به‌عنوان GOT و GPT در عضله‌ی قلب شناخته شده‌اند در بررسی بیماران بستری نشان داده شد که سطح ترانس آمینازها بعد از سکته‌ی قلبی به‌سرعت افزایش می‌یابد چون این آنزیم‌ها به مقدار

کافی در عضله و بافت‌های دیگر نیز وجود دارد استفاده از ترانس آمینازها به‌عنوان مارکرهای قلبی زیاد دوام ندارد بعدها ترانس آمینازها همراه لاکتات دهیدروژناز و کراتین کیناز برای تشخیص‌های قلبی معرفی شدند [۱۶]. مهم‌ترین تست آزمایشگاهی برای تشخیص بیماری‌های قلبی یتروپونین می‌باشد. تروپونین (Tn) یک کمپلکس تنظیمی از ۳ پروتئین است که در فواصل منظم در رشته‌های نازک عضله مخطط قرارگرفته است تست ایمنوشیمیایی تروپونین برای بیماری‌های قلب می‌تواند به‌طور ۱۰۰٪ اختصاصی عمل کند میزان تروپونین قلبی ۲۴ ساعت بعد از سکته قلبی به بالاترین سطح خود می‌رسد. ویژگی و حساسیت بالای تروپونین قلبی باعث شده است که این آنزیم یک تست اختصاصی در بیماری‌های CHD و MI در سراسر جهان در نظر گرفته شود [۲۱]. از آنجایی که سطح سرمی بیومارکرهایی که برای بیماری‌های قلبی و تشخیص MI استفاده می‌شود تنها بعد از MI و یا بیماری‌ها در ساعت‌های اولیه بالا می‌رود بنابراین نمی‌توان در تشخیص زودهنگام این بیومارکرها را استفاده نمود. بنابراین دانشمندان به دنبال پیدا نمودن مارکرهای ژنتیکی به‌جای مارکرهای بیوشیمیایی می‌باشند. نشانگرهای تشخیصی ژنتیکی در مقایسه با مارکرهای بیوشیمیایی از کارایی بالایی برخوردار بوده و تشخیص دقیق‌تری را ارائه می‌دهند. ازجمله این مارکرها می‌توان به میکرو RNA ها اشاره نمود. miRNA ها گروهی از RNA های کوچک مولکول هستند که در تنظیم بیان ژن در مرحله پس از رونویسی نقش دارند. حضور miRNA ها در مایعات بدن به اثبات رسیده و امکان استفاده از آن‌ها به‌عنوان بیومارکرهای تشخیصی برای انواع مختلفی از بیماری‌ها در حال مطالعه است. امروزه روشی که برای تشخیص زودهنگام مورداستفاده قرار می‌گیرد استفاده از میکرو RNA ها هست که آن‌ها دارای طولی برابر ۲۵-۱۸نوکلئوتید می‌باشند [۱۹]. میکرو RNA ها بیان ژن‌ها را پساز رونویسی از طریق تجزیه mRNA یا مهار ترجمه‌ی آن‌ها،کنترل می‌کنند. این ساختارهای مولکولی در کنترل فرایندهای فیزیولوژیک و پاتولوژیک سلولی شرکت می‌نمایند. شناسایی میکرو RNA ها و مولکول‌های هدف آن‌ها، افق روشنی را برای شناخت مسیرهایی که منجر به بیماری‌ها می‌شوند، فراهم کرده است [۱۴]. ازاین‌رو می‌توان از این ترکیبات به‌عنوان نشان‌گرهای زیستی بالقوه در تشخیص، پیش بینی و درمان بیماری‌ها به خصوص بیماری‌های قلبی استفاده کرد. برای مثال در سال ۲۰۱۶ غلامین و همکاران با متاانالایز تحقیقات مختلف پی بردند که mirRNAها می‌توانند در تشخیص سریع بیماری‌ها کاربرد داشته باشند. از این رو می‌توان از این ترکیبات به‌عنوان نشان‌گرهای زیستی بالقوه در تشخیص، پیش‌بینی و درمان بیماری‌ها بخصوص بیماری‌های قلبی استفاده کرد [۸]. ژن های درگیر در فرایند اپوپنوز دو دسته هستند ژن‌هایی که در ایجاد اپوپتوزیس نقش دارند و ژن‌هایی که مانع ایجاد آپوپتوزیس می‌شوند هر دونوع زن دخیل در آپوپتوز،ظرفیت تنظیم توسط miR ها را دارند. هر miR به تنهایی می‌تواند دو نقش محرک و مهاری داشته باشد که این نقش بر اساس نوع سلول و نوع ژن درگیر تعیین می‌شود .*miR-133* کاسپاز HSP60/703 را مهار می‌کنند که عامل موثر در مهار آپوپتوز هستند. بنابراین هر عاملی که بتواند مقادی *miR-133* را افزایش دهد .قادر به جلوگیری از مرگ سلولی، سلول‌های قلبی و کاهش عوارض ناشی از

آنفارکتوس میوکارد خواهد بود [۲۲]. که با نتایج مطالعه حاضر همخوانی دارد. Y. ZHANG و همکارانش در سال ۲۰۱٦ میلادی در مقاله ای تحت عنوان Plasma microRNA-21 is a potential diagnostic biomarker of acute myocardial infarction، به این نتیجه رسیدند که پلاسمای *miR-21* یک نشانگر جدید برای تشخیص AMI است [۲٤]. اولیور و همکاران در سال ۲۰۱۳ با استفاده از سطح سرمی خون بیماران سکته قلبی گزارش نمودند که mirRNA ی mir 499 p افزایش قابل توجهی در سرم بیماران داشتند بنابراین می‌توان از این mirRNAبرای تشخیص زود هنگام بیماری استفاده نمود که در صورت بکار بردن این mirRNA با *mir-133* که در این مطالعه افزایش ان در سطح سرم افراد مشاهده شد می‌توان راه کار مناسبتری برای تشخیص سریع بیماری در نظر گرفت [۱۹]. اهمیت بسیار بالای mir133 را اقای پنگ Peng و همکاران در مقاله‌ای در سال ۲۰۱٤ گزارش نموده‌اند که منطبق بر مطالعه ما می‌باشد [۲۰]. مقاله آقای لی و همکاران که در سال ۲۰۱٦ چاپ کرده‌اند بصورت بسیار دقیق اهمیت همه mirRNA هایی که ممکن است در تشخیص سریع بیماری سکته اشاره نموده‌اند. انها *mir-133* را نیز بعنوان یک میکرو ار انی کاندید برای تشخیص سریع بیماری معرفی کرده‌اند [۱۳]. در مقایسه نتایج سایر محققان و گزارش‌هایی که در مورد این میکرو RNA در بیماران قلبی گزارش‌شده است نشان می‌دهد مطالعه حاضر با بسیاری از آن‌ها منطبق می‌باشد. افزایش سطح سرمی *miR-133* در بیماران MI می تواند به عنوان عامل تشخیصی و همچنین در تعیین پیش آگهی بیماران مبتلا به MI برای تشخیص زود هنگام بیماری استفاده گردد.

نتیجه‌گیری

طبق نتایج بدست آمده در این مطالعه نشان داد میزان بیان *miR-133* در بیماران MI دو و نیم برابر بیشتر از افراد نرمال می باشد. همچنین مطالعه حاضر نتایج قبلی گزارش شده در منابع مختلف را تایید نمود و اهمیت *miR-133* در افراد دارای سکته قلبی را مشخص کرد. در پایان نتیجه‌گیری شد افزایش سطح سرمی *miR-133* در بیماران MI می تواند به عنوان عامل تشخیصی و همچنین در تعیین پیش آگهی بیماران مبتلا به MI برای تشخیص زود هنگام بیماری استفاده گردد و افزایش این mirRNA بسیار حائز اهمیت است و نشان می‌دهد نقش کلیدی در جلوگیری از سکته قلبی و یا مرگ و اپوپتوز سلول‌های قلبی دارد.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل پایان نامه شیوا کثیرالخیر دانشجوی کارشناسی ارشد رشته ژنتیک به شماره ۲۲۰۳۰۵۰۳۹۱۰۰۵ در دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهر می‌باشد. بدینوسیله از تمامی مسئولان و کارکنان مرکز تحقیقات بیمارستان شهید مدنی تبریز و سایر افرادی که در انجام این پژوهش همکاری نمودند ، تشکر و قدردانی می گردد.

References

[1] Antman EM, Braunwald E, 1997.Acute Myocardial Infarction.In:Braunwald E(ed). Heart Diseases. 5th ed. philadedphia: WB Saunders, 1184-1288.

[2] Barringhaus KG, Zamore PD. 2009. Micro RNAs: Regulating a change of heart. circulateion; 119 (16): 2217-24.

[3] Boon, R. A. and S. 2015. Dimmeler, micro RNAs in myocardial infarction. NatRev Cardiol. 12 (3): p. 135-42.
[4] Calin GA, Croce CM. 2006. MicroRNA signatures in human cancers. Nature Reviews Cancer. 6 (11): 857-66.
[5] Esau CC, Monia BP. 2007. Therapeutic potential for microRNAs. Adv Drug Deliv Rev. 59 (2): 101-14.
[6] Finkle WD, Greenland S, Ridgeway GK, Adams JL, Frasco MA, Cook MB, et al. 2014. Increased risk of non-fatal myocardial infarction following testosterone therapy prescription in men. PloS one. 9 (1): e85805.
[7] Gerald W, Dorn I. MicroRNAs in Cardiac Disease. Transl Res. 2010; 157 (4): 226–35.
[8] Gholamin S, Pasdar A, Sadegh Khorrami M, Mirzaei H, Reza Mirzaei H, Salehi R, et al. 2016. The potential for circulating microRNAs in the diagnosis of myocardial infarction: a novel approach to disease diagnosis and treatment. Curr Pharm Des. 22 (3): 397-403.
[9] He B, Xiao J, Ren AJ, Zhang YF, Zhang H, Chen M et al.2011. Role of miR-1 and miR-133a in myocardial ischemic postconditioning. J Biomed Sci; 18: 22: 18-22.
[10] Hood WB, Joison J, Kumar R, Katayama I, Neiman RS, Norman JC. 2017. Experimental myocardial infarction. I. Production of left ventricular failure by gradual coronary occlusion in intact conscious dogs. Cardiovasc Res. 4 (1): 73-83.
[11] Livak K J, Schmittgen T D. 2001. Analysis of relative gene expression data using real- time quantitative PCR and the 2 (-Delta Delta C(T)) method. Methods; 25 (4): 402-8.
[12] Liu NN, Olson E. 2010. Micro RNA regulatory networks in cardiovascular development. Dev Cel. 18 (4): 510–25.
[13] Li C, Chen J, Jiang T, Wang W, Bi C. 2016. Micro RNAs (miRNAs) in early detection of Acute Myocardial Infarc-tion: A Meta-Analysis. Emerg Med Inves. 2016:G113.
[14] Li C, Fang Z, Jiang T, Zhang Q, Liu C, Zhang C, et al. 2013. Serum microRNAs profile from genome-wide serves as a fingerprint for diagnosis of acute myocardial infarction and angina pectoris. BMC Med Genomics. 6 (1): 16.
[15] Ludwig A, Lucero-Obusan C, Schirmer P, Winston C, Holodniy M. 2015. Acute cardiac injury events≤ 30 days after laboratory-confirmed influenza virus infection among US veterans, 2010–2012. BMC Cardiovasc Disord. 15 (1): 109.
[16] Mair J, Jaffe A, Apple F, Lindahl B. 2003. Cardiac biomarkers. Disease markers. Current pharmaceutical design. 22 (3): 397-403.
[17] Martin SS, Khokhar AA, May HT, Kulkarni KR, Blaha MJ, Joshi PH, et al. 2014. HDL cholesterol subclasses, myocardial infarction, and mortality in secondary prevention: the Lipoprotein Investigators Collaborative. Eur Heart J. 36 (1): 22-30.
[18] Mc Mechan SR, Jennifer Adgey AA. 1998. Age Related Outcome of Acute Myocardial Infarction. BMJ 317: 1334-1335.
[19] Olivieri F, Antonicelli R, Lorenzi M, D'Alessandra Y, Lazzarini R, Santini G, et al. 2013. Diagnostic potential of circulating miR-499-5p in elderly patients with acute non ST-elevation myocardial infarction. INT J CARDIOL. 167 (2): 531-6.
[20] Peng L, Chun-guang Q, Bei-fang L, Xue-zhi D, Zi-hao W, Yun-fu L, et al. 2014. Clinical impact of circulating miR-133, miR-1291 and miR-663b in plasma of patients with acute myocardial infarction. Diagnostic pathology. 9 (1): 89.
[21] Shah AS, Griffiths M, Lee KK, Mc Allister DA, Hunter AL, Ferry AV, et al. 2015. High sensitivity cardiac troponin and the under-diagnosis of myocardial infarction in women: prospective cohort study. bmj. 350: g7873.
[22] Subramanian S, Sterr CJ. 2010. Micro RNAs as Gatedkeepers of apoptosis. Cell Phisiol.; 31: 289-98.
[23] Skommer, J., et al. 2014. Small molecules, big effects: the role microRNAs regulation of cardiomyocyte death. Cell Death Dis. 5: p.e1325.
[24] Zhang, Y., et al. 2016, Plasma micro RNA-21 is a potential diagnostic biomarker of acute myocardial

infarction,European Eur. Rev. Med, 20: 323-329

Journal of Developmental Biology
Vol. 11, No. 3, Summer 2019

Studying miR-133 influencing the process of apoptosis of Cardiomyocytes floating in blood serum of patients suffering from acute Myocardial Infarction

kasirolkheir S.[1], Ahmadizadeh C.[*1], hosseinzadeh mogbel h.[2]

[1] Department of biology, Ahar Branch, Islamic Azad University, Ahar,Iran
[2] Department of Molecular genetic, Tabriz Branch,Islamic Azad University, Tabriz,Iran

[*] Email: ch-ahmadizadeh@iau-ahar.ac.ir

Received: 15 December 2018 Accepted: 20 July 2019

Abstract

Myocardial Infarction is known as one of the most common disabling and threatening heart diseases resulted from irrevocable and degenerative cellular death in a part of heart muscle. After the discovery of miRNA in 1990 and the discovery of more than 2500 types of miRNA, gradually the importance of these mechanism regulators and molecular signals and gene routes were identified in the processes and the cellular mechanisms, specifically in cardiovascular system. The goal of this research is Studying MiR-133 influencing the process of apoptosis of Cardiomyocytes floating in blood serum of patients suffering from acute Myocardial Infarction To achieve our goals in this case-observation study type regarding *miR*-133, 70 patients in Shahid Madani Hospital in Tabriz in the year 2017 were investigated by Real time PCR and the data were compared with those of the healthy persons. The statistical analyses were carried out using SPSS (version19) and a t-test method. The amounts for P>0.05 were considered meaningful. The expression levels of *miR-133* among patients suffering from MI have had a considerable increase compared with control group and it was meaningful statistically. (P=0.009). Also the results showed that *miR-133*expression among fat and normal people did not have a meaningful difference statistically (P=0.06). The present study showed that the expression of *miR-133*among individuals suffering from MI has been greater than healthy people and it can be utilized as an identification factor and also prognosis of the patients suffering from MI.

Keywords: Myocardial Infarction, Apoptosis, *miR-133*.