

# MikroRNA w chorobach układu sercowo-naczyniowego

## MicroRNAs in cardiovascular diseases

Anna Stachurska<sup>1, 2</sup>, Paweł Stachurski<sup>3</sup>, Maciej Mątecki<sup>1, 2</sup>

<sup>1</sup>Zakład Biologii Molekularnej Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

<sup>2</sup>Zakład Biologii Komórki, Centrum Onkologii w Warszawie

<sup>3</sup>Klinika Kardiologii i Transplantologii Instytutu Kardiologii w Warszawie

### STRESZCZENIE

**MikroRNA to endogenne, małe, niekodujące cząsteczki RNA, które odgrywają kluczową rolę w regulacji ekspresji genów. MikroRNA biorą udział w wielu procesach biologicznych, takich jak proliferacja, różnicowanie komórek, angiogeneza czy apoptoza. Doniesienia naukowe wskazują, że mikroRNA znamienne determinują fizjologię i patofizjologię serca; mogą również mieć znaczenie diagnostyczne jako nowe biomarkery użyteczne w rozpoznawaniu i przebiegu na przykład zawału serca.**

*Choroby Serca i Naczyń 2011, 8 (3), 158–164*

**Słowa kluczowe:** mikroRNA, przerost serca, niewydolność serca, zawał serca, niedokrwienie serca

### ABSTRACT

**MicroRNAs are endogenous small non-coding RNA, that they play crucial roles in the regulation of gene expression. MicroRNAs participate in many essential biological processes, such as cell proliferation, differentiation, angiogenesis and apoptosis. Emerging evidence has indicated that microRNAs are involved in cardiac physiology and pathophysiology, including the regulation of cardiac physiological function and participation in the genesis of cardiac diseases. MicroRNAs are also recognized as a new diagnostic biomarkers of myocardial injury.**

*Choroby Serca i Naczyń 2011, 8 (3), 158–164*

**Key words:** microRNAs, cardiac hypertrophy, heart failure, myocardial infarction, cardiac ischaemia

**Adres do korespondencji:**  
prof. dr hab. n. farm. Maciej Mątecki  
Zakład Biologii Molekularnej  
Warszawski Uniwersytet Medyczny  
e-mail: maciej.matecki@wum.edu.pl

### WPROWADZENIE

Choroby układu krążenia należą do najczęstszych chorób współczesnych społeczeństw. Ekspozycja serca na różne czynniki stresogenne może doprowadzić do remodelingu mięśnia sercowego ze szkodliwym skutkiem. Przerost serca może mieć podłoże zarówno fizjologiczne (przerost mięśnia sercowego w czasie ciąży, hipertrofia mięśnia sercowego sportowców), jak i patologiczne (nadciśnienie tętnicze, kardiomiopatia przerostowa, stenoza aortalna) [1, 2]. Odpowiednio wczesne i skuteczne rozpoznanie zawału serca (MI, *myocardial infarction*) jest od lat wyzwaniem dla klinicystów i powodem przeprowadzania licznych badań w poszukiwaniu idealnego markera martwicy miokardium. Biomarker noszący miano idealnego powinien się charakteryzować wysoką czułością i swoistością w wykrywaniu martwicy mięśnia sercowego związanego z niedokrwieniem, wzrostem aktywności w pierwszych godzinach MI, możliwością oceny skuteczności reperfuzji wieńcowej oraz rokowania; powinien być szeroko dostępny, stosunkowo tani, szybki i powtarzalny [3, 4]. Spośród dotychczas stosowanych markerów martwicy najbliższe ideału są troponiny sercowe (cTn, *cardiac troponins*) stanowiące podstawę obecnej definicji MI według *European Society of Cardiology* (ESC) i *American Heart Association* (AHA) [5, 6]. Nie kwestionując istotnej pozycji białek cTn, należy jednak wspomnieć o ich niedoskonałościach wynikających z niespecyficznego podwyższenia w procesach niezwiązanych z niedokrwinnym uszkodzeniem kardiomiocytów, takich jak niewydolność nerek, udar mózgu, oraz o fałszywie dodatnich wynikach w obecności przeciwciał heterofilnych czy czynnika reumatoidalnego [7–10]. W świetle tych faktów interesujące stają się doniesienia o nowych, potencjalnie użytecznych markerach, za pomocą których można szybko i skutecznie wykryć uszkodzenie komórek mięśnia sercowego. Poszukiwanie nowych, biochemicznych markerów chorób

układu sercowo-naczyniowego stanowi przedmiot wielu prac badawczych z różnych dziedzin nauki. Biomarkery pozwalają na wykazanie obecności i zakresu uszkodzeń, co stanowi podstawę rozpoznania i przyjęcia optymalnego postępowania leczniczego.

Istnieje wyraźna potrzeba nowego spojrzenia, poprawy terapii i diagnostyki w kardiologii. Proces patologiczny zachodzący w sercu prowadzi do choroby niedokrwiennej serca, co jest związane ze zmianą ekspresji genów, które pełnią ważne dla serca funkcje [11]. MikroRNA (miRNA) opisuje się jako jedne z głównych cząsteczek w regulacji ekspresji genów w różnych typach komórek poprzez degradację lub inhibicję translacji ich genów [11].

Ostatnio pojawia się coraz więcej doniesień o obecności w osoczu cząsteczek miRNA i możliwości ich wykorzystania jako swoistych markerów uszkodzenia tkanek [12, 13].

### BIOCHEMIA mikroRNA

MikroRNA to grupa małych, endogennych, jednociowych, niekodujących RNA, o długości 20–22 nukleotydów, biorących udział w regulacji ekspresji genów na poziomie potranskrypcyjnym [14]. Cząsteczki te pełnią istotne funkcje w procesach rozwojowych, podczas podziałów, różnicowania się i apoptozy komórek. Ich biogeneza jest procesem wieloetapowym, rozpoczynającym się w jądrze komórkowym. Większość miRNA powstaje z pierwotnych transkryptów (pre-miRNA), przepisywanych z genomów przez polimerazę RNAII jako fragmenty intronów eliminowanych w procesie składania pre-miRNA. W wyniku hydrolizy pierwotnych transkryptów enzymem Drosha wycinane są prekursor miRNA (pre-miRNA) o długości 60–80 nukleotydów, które tworzą fragmenty o strukturze nieregularnej spinki. Następnie pre-miRNA jest transportowane z jądra komórkowego do cytoplazmy poprzez białko *Ran*-GTP i eksportynę 5 [15], gdzie są generowane dojrzałe i funkcjonalne cząsteczki miRNA w następstwie działania endonukleazy Dicer. W wyniku jej działania powstaje dupleks miRNA składający się z 20–22 nukleotydów z 2-nukleotydowym 3' końcem. Dojrzałe cząsteczki miRNA po rozpleceniu przez enzym Dicer tworzą z białkami kompleks RISC (*RNA induced silencing complex*) [16], który poprzez specyficzne wiązanie do komplementarnego regionu docelowej cząsteczki RNA wpływa na stabilność i translację mRNA. Efektem działania miRNA jest hamowanie syntezy białka poprzez oddziaływanie z częściowo komplementarnymi regionami w obrębie regionu przy końcu 3'(3'-UTR, *untranslated region*) niepodlegającego translacji [14].

### IZOFORMY mikroRNA

Wiadomo, że ekspresja większości miRNA jest swoista tkankowo lub komórkowo, dlatego pojawiają się próby ich wykorzystania w diagnostyce różnych chorób, w tym także jako specyficznych markerów uszkodzenia mięśnia sercowego. Dotychczas stwierdzono, że pewna pula miRNA wykazuje zwiększoną ekspresję w kardiomiocytach, ale część miRNA charakteryzuje się obniżoną ekspresją w zależności od kondycji mięśnia sercowego [11]. W komórkach mięśnia sercowego najliczniejszą grupę stanowią: miR-1, let-7, miR-133, miR-126-3p, miR-30c oraz miR-26a. [17]. Z kolei w komórkach mięśni gładkich tętnic wieńcowych licznie pojawiają się miR-145, let-7, miR-125b, miR-125a, miR-23 oraz miR143. Co więcej, okazuje się, że również miR-1 i miR-133 wykazują podwyższoną ekspresję w komórkach mięśni gładkich tętnic wieńcowych [18]. Tym niemniej najbardziej specyficzną dla komórek mięśnia sercowego jest cząsteczka miRNA-208 [19], która może się stać potencjalnie przydatna w diagnostyce MI na jego wczesnym etapie. Drugą cząsteczką, która mogłaby być zastosowana do diagnostyki niedokrwiennego uszkodzenia mięśnia sercowego, jest miR-499. Jest ona produkowana wyłącznie przez kardiomiocyty, ale także w niewielkim stopniu przez komórki mięśni szkieletowych [20]. Grupa miR-208, do której zalicza się miR-208a i miR-208b oraz miR-499, to cząsteczki regulatorowe, zaangażowane w kontrolę ekspresji izoform łańcuchów ciężkich miozyny  $\alpha$  i  $\beta$  w sercu [21]. Cząsteczki te są określane jako myomiRs. MikroRNA-208 powstaje na matrycy intronu 27 w genie *MYH6*, którego ekspresja prowadzi do powstania ciężkiego łańcucha  $\alpha$ -miozyny ( $\alpha$ MHC) i ma zasadnicze znaczenie dla ekspresji genów zaangażowanych w kurczliwość serca oraz zwłóknienie w odpowiedzi na wystąpienie stresu, przeciążenia, wzrostu ciśnienia [22]. Prawidłowa budowa i funkcjonowanie mięśnia sercowego zależą od liczby i jakości włókien mięśniowych. Łańcuchy lekkie miozyny są budulcem włókien typu I, a łańcuchy ciężkie miozyny ( $\alpha$ MHC i  $\beta$ MHC) tworzą włókna typu II. W ludzkim genomie z puli 11 genów MHC (*MYH*) odnotowuje się 3 geny charakterystyczne dla mięśnia sercowego. Geny *MYH6* i *MYH7* charakteryzują się wysoką ekspresją w miokardium, natomiast gen *MYH7b* wykazuje niską ekspresję w tej tkance. Geny *MYH6* i *MYH7* kodują odpowiednio  $\alpha$ MHC oraz  $\beta$ MHC. W ludzkim sercu przewyższa izoforma  $\beta$ MHC (> 95% całkowitej ilości MHC w komórkach serca) [23]. Białka  $\alpha$ MHC oraz  $\beta$ MHC są regulowane antytetycznie przez hormony tarczycy (T3); T3 indukuje  $\alpha$ MHC, natomiast niedoczynność tarczycy wywołuje wzrost ekspre-

sji  $\beta$ MHC [24]. W przypadku braku miR-208 ekspresja  $\beta$ MHC w niedoczynności tarczycy jest hamowana. Miejscem docelowego działania miR-208 jest mRNA genów THRAP1, który jest kofaktorem receptora hormonów tarczycy i może działać jako aktywator bądź represor [25]. Co ciekawe, genom zawiera dodatkową kopię miR-208, miR-208b, która jest kodowana w genie  $\beta$ MHC [26, 27]. Częsteczki miR-208 i miR-208b zawierają w swej budowie wysoce konserwatywną sekwencję, różnią się jedynie trzema nukleotydami w regionie 3'.

### MikroRNA W CHOROBACH SERCA

Ekspresja izoform MHC, w tym  $\alpha$ MHC i  $\beta$ MHC, zależy od kondycji serca; różnice są obserwowane na przykład w przebiegu niewydolności serca lub przerostu mięśnia sercowego [28].

W przypadku idiopatycznej kardiomiopatii rozstrzeniowej (DCM, *dilated cardiomyopathy*) obserwuje się zwiększoną ekspresję  $\beta$ MHC wraz z obniżeniem stężenia  $\alpha$ MHC w odniesieniu do osób bez dysfunkcji lewej komory. Część  $\alpha$ MHC mRNA w stosunku do całkowitej ilości MHC mRNA zmniejsza się w mięśniu sercowym, uzyskanym od pacjentów poddanych transplantacji serca w przewlekłej schyłkowej niewydolności serca, w tym także pacjentów z DCM [29, 30]. Ponadto, poprawa frakcji wyrzutowej lewej komory (LVEF, *left ventricular ejection fraction*) poprzez zastosowanie  $\beta$ -adrenolityków wiąże się z normalizacją białek MHC wyrażonych poprzez spadek  $\beta$ MHC i wzrost  $\alpha$ MHC u pacjentów z DCM [31]. Zatem ekspresja MHC może mieć kluczowe znaczenie dla utrzymania prawidłowego funkcjonowania serca, co sugeruje, że zaburzenia MHC, takie jak subtelne zmiany w ilości między  $\alpha$ MHC i  $\beta$ MHC, mogą odgrywać znaczącą rolę w niewydolności serca [22].

Ostre i przewlekłe uszkodzenie mięśnia sercowego prowadzi do jego przerostu, co objawia się zaburzeniami rytmu serca, zwłóknieniem czy utratą funkcji pompy jonowej [32]. Przerost mięśnia sercowego jest ważnym mechanizmem kompensacyjnym serca w odpowiedzi na różne bodźce patofizjologiczne. Mimo różnych dróg zapewnienia skoordynowanej kontroli procesu przerostu niewiele wiadomo o ich podstawowych mechanizmach molekularnych [33]. Kluczową rolę w regulacji przerostu mięśnia sercowego odgrywają dwa miRNA — miR-1 oraz miR-133. W początkowej fazie przerostu ekspresja miR-1 ulega zmniejszeniu, co wydaje się wystarczające dla uwzględnienia zmian ekspresji genów leżących u podstaw inicjacji i progresji przerostu serca [34]. MikroRNA-1

zmniejsza aktywację kalcyneuryny/NFAT, zależną od kompleksu wapń–kalmodulina, co negatywnie reguluje ekspresję Mef2a i Gata4, hamując wzrost kardiomiocytów [35]. Regulatorowe białko cytoszkieletu twinfilin-1 jest docelowym miejscem działania dla miR-1; zmniejszenie ekspresji miR-1 powoduje wzrost regulacji twinfilin-1, co wywołuje przerost mięśnia sercowego [36]. Z kolei MiR-133 odgrywa kluczową rolę w określaniu przerostu mięśnia sercowego; jego nadekspresja hamuje przerost, natomiast jej tłumienie powoduje przerost zarówno *in vitro* i *in vivo* [37]. Kilka innych miRNA uznano za proprzerostowe, w tym miR-208, miR-21, miR-18b, miR-195, miR-199, miR-23, miR-24, miR-27 oraz miR-9 [33]. Wspomniana grupa myomiRs (miR-208, miR-208b oraz miR-499) wykazuje podwyższone stężenie w mięśniu sercowym u pacjentów z DCM w porównaniu z osobami bez dysfunkcji lewej komory. W szczególności odnotowano, że ekspresja miR-208 w sercu wpływa na równowagę izoform białka MHC ( $\alpha$ MHC i  $\beta$ MHC) i indukuje niekorzystny remodeling serca, wyrażający się zmniejszeniem kurczliwości kardiomiocytów oraz zwiększeniem zwłóknienia mięśnia sercowego [22]. W przypadku DCM stężenie miR-208 nie koreluje ze stężeniem  $\alpha$ MHC mRNA, co sugeruje, że ekspresja miR-208 może hamować czynność  $\alpha$ MHC mRNA poprzez indukcję degradacji  $\alpha$ MHC mRNA [22]. Z kolei u pacjentów z DCM dodatnia korelacja występuje między miR-208 i  $\beta$ MHC w przeciwieństwie do miR-208b i miR-499, które wykazują ujemną korelację ze stężeniem  $\beta$ MHC. Wykazano, że zarówno zdrowe komory mięśnia sercowego, jak i komory w DCM charakteryzują się wysokim stężeniem  $\beta$ MHC i bardzo niskim stężeniem  $\alpha$ MHC, przy czym stężenie  $\alpha$ MHC jest niższe w przypadku niewydolności komór niż w zdrowych komorach, co sugeruje przesunięcie w kierunku  $\beta$ MHC w przypadku niewydolności komór [38]. Ponadto, „transgeniczna nadekspresja” miR-208 w mięśniu sercowym wywołuje znaczący wzrost stężenia białka  $\beta$ MHC, co skutkuje niekorzystnym remodelingiem serca [39]. I przeciwnie: obniżenie stężenia miR-208 wywołuje zmniejszenie ekspresji  $\beta$ MHC w dorosłym sercu. Jest to dowód na to, że miR-208 reguluje ekspresję ciężkich łańcuchów  $\beta$ MHC kodowanych przez gen *MYH7* [39].

Niedokrwienie mięśnia sercowego powstaje na skutek braku równowagi między ukrwieniem mięśnia sercowego a zapotrzebowaniem na tlen, co jest spowodowane różnym stopniem niedrożności tętnicy wieńcowej. Coraz więcej dowodów wskazuje na to, że niedokrwienie wywołuje głębokie zmiany w ekspresji miRNA w różnych

tkankach. Interesujące jest to, że profile ekspresji miRNA są różne w zależności od lokalizacji uszkodzenia i charakteru sytuacji, nawet w obrębie różnych obszarów samej choroby niedokrwiennej serca [11]. Molekularne mechanizmy leżące u podstaw zmiany ekspresji miRNA w niedokrwinnym uszkodzeniu mięśnia sercowego pozostają nieznane. Wiadomo, że miRNA są generowane w procesie dwustopniowego szlaku za pośrednictwem dwóch głównych enzymów — Dicer oraz Drosha, które należą do endonukleaz z klasy III RNaz [40, 41]. Niedokrwienie i reperfuzja serca aktywują apoptozę kardiomiocytów, która jest ważnym elementem w progresji choroby niedokrwiennej serca. Zgromadzone dowody wskazują na to, że miRNA są jedynym rodzajem regulującym proces apoptozy w komórkach serca. Zaobserwowano znaczne podwyższenie stężenia miR-1 w niedokrwionym mięśniu sercowym, w którym śmiertelność komórek apoptotycznych odgrywa kluczową rolę w niekorzystnych zmianach w chorym sercu [42]. Częsteczką MiR-1 odgrywa ważną rolę w rozwoju serca, oddziałuje z czynnikiem transkrypcyjnym Hand2, który kontroluje proliferację kardiomiocytów. Podczas rozwoju serca poziom miRNA-1 wzrasta, powodując spadek stężenia białek Hand2 do momentu osiągnięcia dojrzałości przez kardiomiocyty [43]. Nadmierna ekspresja miR-1 w okresie rozwoju powoduje zmniejszenie puli proliferacji miocytów, co reguluje równowagę między proliferacją i różnicowaniem w kardiogenezie [44]. Podobnie do miR-1, miR-133 także odgrywa znaczącą rolę w rozwoju mięśnia sercowego, szczególnie kanału przedsionkowo-komorowego [43]. MikroRNA-1 wykazuje odmienne działanie od miR-133 w odpowiedzi na apoptozę kardiomiocytów indukowaną przez stres oksydacyjny — miR-1 jest proapoptotyczne, a miR-133 jest antyapoptotyczne [45]. Poza tym wartość MiR-1 zwiększa się w odpowiedzi na stres oksydacyjny. Miejscem docelowym dla miR-1 jest region 3' niepodlegający translacji białka szoku cieplnego HSP60 i HSP70, dla miR-133 docelowym miejscem działania jest całość sekwencji genu kaspazy 9 [45]. Potranskrypcyjna represja HSP60 i HSP70 przez miR-1 i kaspazy 9 przez miR-133 przyczynia się w znacznym stopniu do ich przeciwnego działania. Co więcej, w przypadku niedokrwinnego uszkodzenia mięśnia sercowego i przy reperfuzyjnym uszkodzeniu kardiomiocytów poziom miR-1 odwrotnie koreluje z ekspresją antyapoptotycznego białka Bcl-2. Zatem miR-1 reguluje apoptozę kardiomiocytów przez potranskrypcyjną represję Bcl-2 [46].

Włóknienie mięśnia sercowego jest poważnym powikłaniem patologii układu sercowo-naczyniowego. Choro-

by serca, w tym: niedokrwienie, MI, kardiomiopatie, wpływają na strukturalną przebudowę mięśnia, prowadząc często do zwłóknienia komórek na skutek niekorzystnego nagromadzenia kolagenu oraz innych białek macierzy pozakomórkowej [33]. Skutkuje to nasileniem dysfunkcji lewej komory i zaburzeniami rytmu serca. Molekularne mechanizmy zwłóknienia serca są słabo poznane [11]. Okazuje się, że miRNA wpływa na proces zwłóknienia w drodze regulacji apoptozy kardiomiocytów i wydzielania profibrotycznych czynników [47]. MikroRNA-21 przyczynia się do przebudowy mięśnia sercowego poprzez regulowanie szlaku sygnałowego kinazy ERK-MAP w fibroblastach serca na skutek niedokrwienia oraz reperfuzji powstałej w wyniku uszkodzenia serca lub w późniejszych etapach niewydolności serca [48]. Częsteczką MiR-21 reguluje przeżycie fibroblastów i wydzielanie czynnika wzrostu, które ostatecznie kontrolują stopień zwłóknienia śródmiąższowego i przerost serca [48]. Zatem obniżenie regulacji miR-21 może korzystnie wpływać na blokowanie proliferacji fibroblastów w chorobach serca, a tym samym hamować wtórne przebudowy serca [33]. Z kolei obserwacje dokonane na szczurzym modelu wykazały, że miR-21 zaangażowana w proces apoptozy kardiomiocytów charakteryzuje się obniżoną ekspresją w obszarze objętym zawałem, ale nasila się w strefach przygranicznych 6 godzin po MI [49, 50]. Nadekspresja miR-21 za pośrednictwem adenowirusa (Ad-miR-21) zmniejsza rozległość MI i rozmiar lewej komory po 24 godzinach od zaistniałego incydentu zawałowego. MikroRNA-21 wywiera ochronny wpływ na indukowane niedokrwieniem komórki apoptotyczne, poprzez docelowe wiązanie z genem programowanej śmierci komórki 4 (PDCD4) i szlaku białka aktywatora (AP-1) [49]. Podczas okresu naprawy po MI ważną rolę w procesie zwłóknienia odgrywa miR-29, wykazując ekspresję w fibroblastach znajdujących się w pozamiocytarnej macierzy mięśnia sercowego [21]. Poza tym miR-29 reguluje zwłóknienie kardiomiocytów poprzez wiązanie z docelowym mRNA, które kodują białka zaangażowane w proces zwłóknienia, w tym kolagen, fibrylina oraz elastyna [51]. Obniżenie stężenia miR-29 indukuje ekspresję kolagenu, podczas gdy nadekspresja miR-29 w fibroblastach zmniejsza powstawanie tego białka [11]. Częsteczką miR-29 wykazuje większą ekspresję w fibroblastach niż w miocytach; zmniejsza swą aktywność w strefie przygranicznej z MI [21]. Zatem miR-29 może działać jako regulator zwłóknienia serca i stanowić potencjalny cel terapeutyczny dla zwłókniałej tkanki.

MikroRNA odgrywają kluczową rolę także w arytmii serca, w której na skutek niedokrwienia dochodzi do zaburzeń w przewodnictwie elektrycznym. Utrzymanie prawidłowego rytmu serca zależy od przewodnictwa elektrycznego systemu, który składa się z wyspecjalizowanych komórek mięśniowych i zestawów kanałów jonowych [11]. Niedokrwienie mięśnia sercowego może być przyczyną wielu zaburzeń tego systemu wraz z zaburzeniami pobudliwości serca przez wywołanie nieprawidłowej ekspresji genów. Niewielka liczba badań zaangażowana w proces regulacji miRNA w niedokrwiennej arytmii ukazuje miR-1 jako specyficzny czynnik biorący udział w zaburzeniach rytmu serca. Okazuje się, że poziom miR-1 jest podwyższony w populacji osób z chorobą wieńcową i u szczurów po ostrym MI [52]. Nadekspresja miR-1 nasila arytmogenezę poprzez bezpośrednią represję KCNJ2 i GJA1 [53]. Jak wykazano, KCNJ2 koduje Kir2.1 — główną podjednostkę kanału  $K^+$  odpowiedzialną za regulację spoczynkowego potencjału błonowego serca. Z kolei GJA1 koduje koneksyny 43 — główny kanał serca odpowiedzialny za międzykomórkowe przewodnictwo w komórce [54]. Ponadto miR-1 zwiększa pobudliwość skurczową serca przez selektywny wzrost fosforylacji typu L kanałów  $Ca^{2+}$  i receptorów ryanodiny (RyR2), co uniemożliwia przyłączenie białek fosfatazy PP2A do tych kanałów. Najczęściej występującym zaburzeniem rytmu serca jest migotanie przedsionków (AF, *atrial fibrillation*), którego częstość zależy od wieku i przekracza 10% wśród osób w podeszłym wieku. Ekspresja miR-328 może spowodować AF poprzez zmniejszenie ekspresji białka kawololiny-3, które uczestniczy w regulacji kanałów jonowych w sercu [55].

Ważnymi elementami sprawności układu sercowo-naczyniowego są prawidłowa homeostaza śródbłonka i angiogeneza. W przypadku chorób naczyniowych i niedokrwienia mięśnia sercowego ważną rolę odgrywa śródbłonkowo specyficzny miRNA — miR-126 [56]. Wykazuje on związek między czynnikiem wzrostu śródbłonka naczyniowego (VEGF, *vascular endothelial growth factor*) a czynnikiem wzrostu fibroblastów (FGF, *fibroblast growth factor*) w tym, że zwiększa działanie proangiogenne powyższych cytokin [57, 58]. Neoangiogeneza jest istotnym mechanizmem odzyskiwania dopływu krwi i łagodzącym dysfunkcję lewej komory po ostrym MI i tym samym stanowi doskonały cel terapeutyczny w leczeniu choroby niedokrwiennej serca. Niektóre śródbłonkowo specyficzne miRNA biorą udział w regulacji różnych etapów angiogenezy [59]. Jak wskazują dane doświadczalne, w kontroli

neoangiogenezy w tkance mięśniowej istotną rolę regulacyjną odgrywa klaster miR-17-92 oraz jego składnik — miR-92a [59]. Badania prowadzone w czasie eksperymentalnego niedokrwienia kończyn dolnych oraz w trakcie krytycznego niedokrwienia mięśnia sercowego u myszy wykazują zmiany ekspresji miR-92a w komórkach śródbłonka naczyń krwionośnych. Okazuje się, że nadekspresja miR-92a wpływa represyjnie na proces neoangiogenezy, dlatego prowadzone są badania oraz próby dotyczące zastosowania antagomirów specyficznych dla miR-92a w celu zablokowania ekspresji tego miRNA na rzecz wzrostu naczyń krwionośnych i odzyskania funkcjonalności uszkodzonych tkanek. Celem miR-92a jest mRNA białek biorących udział w procesie neoangiogenezy, szczególnie podjednostki integryny  $\alpha 5$  [60].

Interesujący jest fakt, że miRNA przyczyniają się do powstawania wad wrodzonych. W badaniach przeprowadzonych na myszach zaobserwowano, że usunięcie miR-133a-1 lub 133a-2 nie powoduje oczywistych zaburzeń czynności serca, zarówno w morfologii, jak i funkcji. Z kolei usunięcie obydwu miRNA, czyli miR-133a-1 i miR-133a-2, prowadzi do poważnych wad serca, w tym ubytku w przegrodzie międzykomorowej (VSD, *ventricular septal defect*). W momencie pozbawienia miR-1-2 występuje 50-procentowa śmiertelność, w dużej mierze na skutek VSD, co wynika z rozregulowania procesów podczas kardiogenezy. Prawdopodobnie miR-1-2 reguluje wiele genów (w tym *Hand2*) podczas powstawania VSD [61]. Ponadto, myszy z niedoborem miRNA-17-92 umierają wkrótce po urodzeniu z powodu hipoplazji płuc i wady przegrody komorowej poprzez uaktywnienie białka Bim, proapoptotycznego, którego nadekspresja prowadzi do apoptozy [62]. Odnośnie do ludzi wciąż niewiadomo, czy i które miRNA aktywnie się przyczyniają do powstawania wad wrodzonych serca.

## PODSUMOWANIE

Zrozumienie funkcji biologicznej miRNA, jak również wykorzystanie zdobywanych informacji do celów na przykład diagnostycznych czy leczniczych wynika bezpośrednio z zainteresowania naukowców i klinicystów obszarami nauki związanymi z RNA. W kontekście kodujących cząsteczek RNA bardzo często określa się cały obszar badawczy jako transkryptomikę. MikroRNA — jak wskazują badania doświadczalne — odgrywają kluczową rolę w regulacji ekspresji wielu genów, również związanych z fizjologią mięśnia sercowego oraz powstawaniem i przebiegiem chorób układu sercowo-naczyniowego.

Rodzina krótkich cząsteczek RNA wydaje się determinować kurczliwość mięśnia sercowego, wpływa na angiogenezę oraz decyduje o apoptozie kardiomiocytów. Interesujący jest również fakt, że cząsteczki miRNA są rozważane także jako swoiste dla kardiomiocytów niebiałkowe markery pojawiające się w oznaczalnym stężeniu we krwi pacjentów, na przykład w przebiegu MI. Niezbędne są dalsze badania podstawowe, aby zrozumieć biologię RNA i wykorzystać uzyskane informacje do celów diagnostycznych, a przede wszystkim do planowania nowych leków i strategii terapeutycznych w kardiologii.

## PIŚMIENNICTWO

1. Thum T., Bauersachs J. MicroRNAs in cardiac hypertrophy and failure. *Cardiology* 2008; 5: 279–283.
2. Hill J.A., Olson E.N. Cardiac plasticity. *N. Engl. J. Med.* 2008; 358: 1370–1380.
3. Graving J., Kjekshus J. The perfect biomarker in acute coronary syndrome: a challenge for diagnosis, and treatment. *Eur. Heart J.* 2008; 29: 2827–2828.
4. Śpiewak M., Kruk M. Nowe metody w diagnostyce i terapii. Biomarkery w ostrych zespołach wieńcowych. *Post. Kardiol. Interw.* 2008; 14: 183–187.
5. Thygesen K., Alpert J., White H. i wsp. On behalf of the Joint ESC/ACCF/AHA/WHF Task Force for the redefinition of myocardial infarction. Universal definition of myocardial infarction. *Eur. Heart J.* 2007; 28: 2525–2538.
6. Van de Werf F., Bax J., Betriu A. Acute Myocardial Infarction in patients presenting with ST-segment elevation. *Eur. Heart J.* 2008; 29: 2909–2945.
7. Abbas N.A., John R.I., Webb M.C. i wsp. Cardiac troponins and renal function in nondialysis patient with chronic kidney disease. *Clin. Chem.* 2005; 51: 2059–2066.
8. Kerr G., Ray G., Wu O., Stott D.J., Langhorne P. Elevated Troponin after Stroke: A Systematic Review. *Cerebrovasc. Dis.* 2009; 28: 220–226.
9. Boscatto L.M., Stuart M.C. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. *Clin. Chem.* 1988; 34: 27–33.
10. Krahn J., Parry D.M., Leroux M., Dalton J. High percentage of false positive cardiac troponin I results in patients with rheumatoid factor. *Clin. Biochem.* 1999; 32: 477–480.
11. Shiyong Y., Guohong L. MicroRNA Expression and Function in Cardiac Ischemic Injury. *J. Cardiovasc. Transl. Res.* 2010; 3: 241–245.
12. Ji X., Takahashi R., Hiura Y. i wsp. Plasma miR-208 as a biomarker of myocardial injury. *Clin. Chem.* 2009; 55: 1944–1949.
13. Laterza O.F., Lim L., Garrett-Engle P.E. i wsp. Plasma microRNAs as sensitive and specific biomarkers of tissue injury. *Clin. Chem.* 2009; 55: 1977–1983.
14. Bartel D.P. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism and function. *Cell* 2004; 116: 281–297.
15. Lee Y.S., Dutta A. MikroRNAs: small but potent oncogenes or tumor suppressors. *Curr. Opin. Investig. Drugs* 2006; 7: 560–564.
16. Bernstein E., Caudy A.A., Hammond S.M. i wsp. Role for a bidentate ribonuclease in the initiation step of RNA interference. *Nature* 2001; 409: 363–366.
17. Lagos-Quintana M., Rauhut R., Yalcin A. i wsp. Identification of tissue-specific miRNAs from mouse. *Curr. Biol.* 2002; 12: 735–739.
18. Ji R., Cheng Y., Yue J. i wsp. MicroRNA expression signature and antisense-mediated depletion reveal an essential role of microRNA in vascular neointimal lesion formation. *Circ. Res.* 2007; 100: 1579–1588.
19. Ji X., Takahashi R., Hiura Y. i wsp. Plasma miR-208 as a biomarker of myocardial injury. *Clin. Chem.* 2009; 55: 1944–1949.
20. Wang G.K., Zhu J.Q., Zhang J.T. i wsp. Circulating microRNA: a novel potential biomarker for early diagnosis of acute myocardial infarction in humans. *Eur. Heart J.* 2010; 31: 1–8.
21. Dorn II G.W. MicroRNAs in cardiac disease. *Transl. Res.* 2011; 157: 226–235.
22. Satoh M., Minami Y., Takahashi I.Y., Tabuchi T., Nakamura M. Expression of microRNA-208 is Associated With Adverse Clinical Outcomes in Human Dilated Cardiomyopathy. *J. Cardiac Fail.* 2010; 16: 404–410.
23. Bouvagnet P., Mairhofer H., Leger J.O., Puech P., Leger J.J. Distribution pattern of alpha and beta myosin in normal and diseased human ventricular myocardium. *Basic Res. Cardiol.* 1989; 84: 91–102.
24. Morkin E. Control of cardiac myosin heavy chain gene expression. *Microsc. Res. Tech.* 2000; 50: 522–531.
25. Park S.W., Guangjin L., Ya-Ping L. i wsp. Thyroid hormone-induced juxtaposition of regulatory elements/factors and chromatin remodeling of Crabp1 dependent on MED1/TRAP220. *Mol. Cell* 2005; 19: 643–653.
26. Berezikov E., Guryev V., Belt J. i wsp. Phylogenetic shadowing and computational identification of human microRNA genes. *Cell* 2005; 120: 21–24.
27. Landgraf P., Rusu M., Sheridan R. i wsp. A mammalian microRNA expression atlas based on small RNA library sequencing. *Cell* 2007; 129: 1401–1414.
28. Nadal-Ginard B., Mahdavi V. Molecular basis of cardiac performance. Plasticity of the myocardium generated through protein isoform switches. *J. Clin. Invest.* 1989; 84: 1693–700.
29. Nakao K., Minobe W., Roden R., Bristow M.R., Leinwand L.A. Myosin heavy chain gene expression in human heart failure. *J. Clin. Invest.* 1997; 100: 2362–2370.
30. Miyata S., Minobe W., Bristow M.R., Leinwand L.A. Myosin heavy chain isoform expression in the failing and nonfailing human heart. *Circ. Res.* 2000; 86: 386–390.
31. Abraham W.T., Gilbert E.M., Lowes B.D. i wsp. Coordinate changes in myosin heavy chain isoform gene expression are selectively associated with alterations in dilated cardiomyopathy phenotype. *Mol. Med.* 2002; 8: 750–760.
32. van Rooij E., Olson E.N. MicroRNAs: powerful new regulators of heart disease and provocative therapeutic targets. *J. Clin. Invest.* 2007; 117: 2369–2376.
33. Donga D., Yang B. Role of microRNAs in cardiac hypertrophy, myocardial fibrosis and heart failure. *Acta Pharmaceutica Sinica B.* 2011; 1: 1–7.
34. Sayed D., Hong C., Chen I.Y., Lypowy J., Abdellatif M. Micro-RNAs play an essential role in the development of cardiac hypertrophy. *Circ. Res.* 2007; 100: 416–24.
35. Ikeda S., He A., Kong S.W. i wsp. MicroRNA-1 negatively regulates expression of the hypertrophy-associated calmodulin and Mef2a genes. *Mol. Cell Biol.* 2009; 29: 2193–2204.
36. Li Q., Song X.W., Zou J. i wsp. Attenuation of microRNA-1 derepresses the cytoskeleton regulatory protein twinfilin-1 to provoke cardiac hypertrophy. *J. Cell Sci.* 2010; 123: 2444–2452.
37. Care A., Catalucci D., Felicetti F. i wsp. MicroRNA-133 controls cardiac hypertrophy. *Nat. Med.* 2007; 13: 613–618.
38. Reiser P.J., Kline W.O. Electrophoretic separation and quantitation of cardiac myosin heavy chain isoforms in eight mammalian species. *Am. J. Physiol.* 1998; 274: 1048–1053.
39. Callis T.E., Pandya K., Seok H.Y. i wsp. MicroRNA-208a is a regulator of cardiac hypertrophy and conduction in mice. *J. Clin. Invest.* 2009; 119: 2772–2786.
40. Ambros V. The functions of animal microRNAs. *Nature* 2004; 431: 350–355.
41. Bartel D.P. MicroRNAs: Genomics, biogenesis, mechanism, function. *Cell* 2004; 116: 281–297.
42. Yang B., Lin H., Xiao J. i wsp. The muscle-specific microRNA miR-1 causes cardiac arrhythmias by targeting GJA1 and KCNJ2 genes. *Nat. Med.* 2007; 13: 486–491.
43. Xiao J., Chen Y.H. MicroRNAs: Novel Regulators of the Heart. *J. Thorac. Dis.* 2010; 2: 43–47.
44. Zhao Y., Samal E., Srivastava D. Serum response factor regulates a muscle-specific microRNA that targets Hand2 during cardiogenesis. *Nature* 2005; 436: 214–220.
45. Xu C., Lu Y., Pan Z. i wsp. The muscle-specific microRNAs miR-1 and miR-133 produce opposing effects on apoptosis by targeting HSP60, HSP70 and caspase-9 in cardiomyocytes. *J. Cell Sci.* 2007; 120: 3045–3052.
46. Tang Y., Zheng J., Sun Y. i wsp. MicroRNA-1 regulates cardiomyocyte apoptosis by targeting Bcl-2. *Int. Heart J.* 2009; 50: 377–387.
47. Ikeda S., Pu T.W. Expression and Function of MicroRNAs in Heart Disease. *Curr. Drug Targets* 2010; 11: 1–13.
48. Thum T., Gross C., Fiedler J. i wsp. MicroRNA-21 contributes to myocardial disease by stimulating MAP kinase signaling in fibroblasts. *Nature* 2008; 456: 980–984.
49. Dong S., Cheng Y., Yang J. i wsp. MicroRNA expression signature and the role of microRNA-21 in the early phase of acute myocardial infarction. *J. Biol. Chem.* 2009; 284: 29514–29525.

50. Yin C., Salloum F.N., Kukreja R.C. A novel role of microRNA in late preconditioning: upregulation of endothelial nitric oxide synthase and heat shock protein 70. *Circ. Res.* 2009; 104: 572–575.
51. van Rooij E., Sutherland L.B., Thatcher J.E. i wsp. Dysregulation of microRNAs after myocardial infarction reveals a role of miR-29 in cardiac fibrosis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2008; 105: 13027–13032.
52. Yang B., Lin H., Xiao J. i wsp. The muscle-specific microRNA miR-1 causes cardiac arrhythmias by targeting GJA1 and KCNJ2 genes. *Nat. Med.* 2007; 13: 486–491.
53. Yang B., Lin H., Xiao J. i wsp. The muscle-specific microRNA miR-1 regulates cardiac arrhythmogenic potential by targeting GJA1 and KCNJ2. *Nat. Med.* 2007; 13: 486–491.
54. Jongsma H.J., Wilders R. Gap junctions in cardiovascular disease. *Circ. Res.* 2000; 86: 1193–1197.
55. Lu Y.J., Zhang Y., Wang N., Pan Z.W., Yang B.F. The role MiR-328 in atrial fibrillation via repressing caveolin-3 expression. *J. Mol. Cell Cardiol.* 2008; 44: 736.
56. Condorelli G., Latronico M.V.G., Dorn II G.W. Micro RNAs in heart disease: putative novel therapeutic targets? *Eur. Heart J.* 2010; 31: 649–658.
57. Wang S., Aurora A.B., Johnson B.A. i wsp. The endothelial-specific microRNA miR-126 governs vascular integrity and angiogenesis. *Dev. Cell* 2008; 15: 261–271.
58. Fish J.E., Santoro M.M., Morton S.U. i wsp. miR-126 regulates angiogenic signaling and vascular integrity. *Dev. Cell* 2008; 15: 272–284.
59. Wu F., Yang Z., Li G. Role of specific microRNAs for endothelial function and angiogenesis. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2009; 386: 549–553.
60. Nerheim P., Krishnan S.C., Olshansky B., Shivkumar K. Apoptosis in the genesis of cardiac rhythm disorders. *Cardiol. Clin.* 2001; 19: 155–163.
61. Zhao Y., Ransom J.F., Li A. i wsp. Dysregulation of cardiogenesis, cardiac conduction, and cell cycle in mice lacking miRNA-1-2. *Cell* 2007; 129: 303–317.
62. Ventura A., Young A.G., Winslow M.M. i wsp. Targeted deletion reveals essential and overlapping functions of the miR-17 through 92 family of miRNA clusters. *Cell* 2008; 132: 875–886.