

Xây dựng mạng lưới tương tác hsa_circ_0000284/miRNA/mRNA liên quan bệnh mạch vành

Construction of the hsa_circ_0000284/miRNA/mRNA interaction network in coronary heart disease

Hoàng Hà^{a*}, Đinh Phong Sơn^b, Trần Châu Mỹ Thanh^c
Hoang Ha^{a*}, Dinh Phong Son^b, Tran Chau My Thanh^c

^aTrường Y Dược, Trường Đại học Duy Tân, Đà Nẵng, Việt Nam

^aCollege of Medicine and Pharmacy, Duy Tan University, 550000, Da Nang, Vietnam

^bTrung tâm Sinh học phân tử - Trường Y Dược, Trường Đại học Duy Tân, Đà Nẵng, Việt Nam

^bCenter for Molecular Biology, College of Medicine and Pharmacy, Duy Tan University, Da Nang, 550000, Vietnam

^cKhoa Y- Trường Y Dược, Trường Đại học Duy Tân, Đà Nẵng, Việt Nam

^bFaculty of Medicine, College of Medicine and Pharmacy, Duy Tan University, 550000, Da Nang, Vietnam

(Ngày nhận bài: 26/10/2022, ngày phản biện xong: 21/12/2022, ngày chấp nhận đăng: 05/01/2023)

Tóm tắt

Bối cảnh: Sự phát triển của công nghệ giải trình tự gen và các cơ sở dữ liệu trực tuyến để phân tích dữ liệu trong nghiên cứu đang nhận được sự quan tâm lớn. Chúng tôi đã sử dụng thuật toán tin sinh học để dự đoán mạng tương tác của hsa_circ_0000284/miRNA/mRNA trong bệnh mạch vành (CHD). Phương pháp: Thông qua cơ sở dữ liệu trực tuyến circleBank, circleInteractome, miRTarBase, miRWalk2, tập dữ liệu GEO và phân tích bằng phần mềm R, chúng tôi đã dự đoán mạng tương tác hsa_circ_0000284/miRNA/mRNA, GO, KEGG và mạng tương tác protein. Kết quả: hsa_circ_0000284 được liên kết với 15 miRNA và có thể điều chỉnh 219 mRNA. Kết quả cho thấy 276 thuật ngữ trong quy trình sinh học, 66 thuật ngữ về thành phần tế bào và 74 thuật ngữ về chức năng phân tử trong GO. KEGG chủ yếu tập trung vào con đường lão hóa tế bào, con đường tín hiệu, con đường điều hòa tuổi thọ - nhiều loài và bộ điều chỉnh tuổi thọ. Cuối cùng, mạng tương tác protein-protein tiềm năng được dự đoán. Kết luận: Mạng lưới tương tác của hsa_circ_0000284/miRNA/mRNA được xây dựng với các gen liên quan chủ yếu đến việc điều chỉnh quá trình lão hóa, tuổi thọ và các quá trình tế bào, từ đó mạng tương tác càng cho thấy vai trò của chúng trong sự phát triển của CHD.

Từ khóa: Tin sinh học; circRNA; miRNA; mRNA; tương tác protein-protein; bệnh mạch vành.

Abstract

Background: The development of genome sequencing technology and online databases to analyze data in research are receiving great concern. We used a bioinformatics algorithm to predict the interaction network of hsa_circ_0000284/miRNA/mRNA in coronary heart disease (CHD). Methods: Via the circBank, circleInteractome, miRTarBase, miRWalk2, GEO datasets and R software, to predict hsa_circ_0000284/miRNA/mRNA, GO, KEGG, and the protein interaction network. Results: hsa_circ_0000284 was linked to 15 miRNAs, to regulate 219 mRNAs. The results showed 276 terms in biological processes, 66 terms for cell composition, and 74 terms for molecular function of the GO terms. The results of KEGG mainly focused on Cellular senescence; FoxO signaling pathway; Longevity regulating pathway - multiple species; Longevity regulating pathway. Finally, we predicted the protein-protein

*Tác giả liên hệ: Hoàng Hà, Trường Y Dược, Trường Đại học Duy Tân, Đà Nẵng, Việt Nam
Email: hoangha3@duytan.edu.vn

interaction network. Conclusion: The interaction network of hsa_circ_0000284/miRNA/mRNA was constructed with the genes that are associated mainly with the regulation of aging, longevity pathways, and cellular processes, further suggesting their roles in the development of CHD.

Keywords: Bioinformatics; circRNA; miRNA; mRNA; Protein-protein interaction network; Coronary heart disease.

1. Đặt vấn đề

Cho đến nay, công nghệ giải trình tự thông lượng cao (Second generation sequencing, SGS) đã được sử dụng để nhanh chóng thu được thông tin trình tự của hầu hết các phiên mã (chẳng hạn như mRNA, RNA không mã hóa và RNA nhỏ) trong một mô hoặc cơ quan cụ thể của một loài ở một trạng thái nhất định và tiến hành phiên mã giữa mẫu bình thường và mẫu bệnh. SGS đã tạo ra một bước đột phá trong lĩnh vực nghiên cứu cơ bản và được ứng dụng rộng rãi [1]. Sự kết hợp của cơ sở dữ liệu trực tuyến với các công cụ phân tích trực quan và dễ sử dụng sẽ mở ra khả năng nghiên cứu các mạng circRNA/miRNA/mRNA. Mạng lưới này là một mô hình biểu hiện gen mới để hiểu tương tác giữa các RNA mã hóa và không mã hóa. Đặc biệt, các miRNA liên kết cạnh tranh với các vòng sinh học (circRNA), trong khi các miRNA điều chỉnh mức độ phiên mã mRNA. Nhiều nghiên cứu cũng chỉ ra rằng mạng lưới circRNA/miRNA có thể điều chỉnh các mRNA liên quan đến cơ chế bệnh sinh của bệnh mạch vành thông qua các RNA nội sinh cạnh tranh (ceRNAs) [2]. Các cơ sở dữ liệu này chứa bộ gen và các sợi RNA trưởng thành của các loài khác nhau, nó cũng có thể dự đoán mạng lưới tương tác giữa RNA không mã hóa, vòng sinh học và RBP [3, 4], dự đoán các vị trí xâm nhập ribosome bên trong tiềm năng, thiết kế mồi [5], dự đoán tương tác giữa miRNA, các gen mã hóa protein và RNA không mã hóa. Nó cũng xác định các vị trí đa hình nucleotide đơn (SNP) liên quan đến bệnh và các loci argonaute (Ago) trên circRNA [6], và cung cấp cơ sở dữ liệu nghiên cứu về mô người và chuột liên quan đến ung thư [7, 8]. Ngoài ra, các nhà khoa học có thể dự đoán các cơ chế và chức năng liên quan đến bệnh lý trên cơ sở sinh học phân tử

thông qua phân tích Gene Ontology (GO) và Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) [9, 10].

circRNA là một loại RNA mới được tạo ra bằng cách thắt ngược. circRNA không có đầu 5' và đuôi poly (A) 3', khác với các RNA tuyến tính truyền thống. Gần đây, mạng circRNA/miRNA/mRNA đã được đề xuất như một cơ chế điều hòa mới có thể thực hiện được. Các nghiên cứu trước đây đã chỉ ra rằng các vòng tròn và miRNA tương tác với nhau để điều chỉnh sự biểu hiện mRNA của nhiều gen quan trọng đối với sự xuất hiện và phát triển của bệnh mạch vành (coronary heart disease, CHD) [11, 12]. Do đó, việc nghiên cứu mối quan hệ giữa vòng sinh học, miRNA và mRNA có thể được sử dụng như một chỉ số dự đoán để chẩn đoán bệnh, đồng thời cung cấp các mục tiêu và ý tưởng điều trị mới cho việc phòng ngừa và điều trị bệnh CHD trong tương lai. Nghiên cứu trước đây đã cho thấy rằng sự biểu hiện của hsa_circ_0000284 được điều chỉnh giảm trong các mẫu bạch cầu máu ngoại vi của bệnh nhân CHD [13, 14]. Do đó, công việc chính của nghiên cứu này là dự đoán mạng lưới điều hòa circRNA/miRNA/mRNA thông qua nghiên cứu cơ sở dữ liệu trực tuyến, từ đó làm sáng tỏ thêm vai trò của hsa_circ_0000284 trong CHD.

2. Phương pháp nghiên cứu

2.1. Dữ liệu liên quan

Dữ liệu RNA-seq được chọn trong chương này là dữ liệu liên quan đến CHD ở người trên NCBI. Chủ yếu xem xét các tiêu chí loại trừ và bao gồm bắt buộc, hai dữ liệu RNA-seq đã được lấy và loại mẫu là tế bào đơn nhân máu ngoại vi (tế bào đơn nhân máu ngoại vi Tế bào

đơn nhân, PBMC), cung cấp dữ liệu tham khảo cho nghiên cứu này. Sử dụng R để phân tích thống kê, trực quan hóa. Hai bộ số liệu được lựa chọn là GSE61741 và GSE56885.

2.2. Các công cụ phân tích

Phân tích tin sinh học của dữ liệu hồ sơ biểu hiện vòng sinh học được thực hiện thông qua nhiều cơ sở dữ liệu trực tuyến và phần mềm phân tích dự đoán. Các công cụ phân tích được sử dụng như sau: GEO Datasets, CircBase, Circbank, Circinteractome, miRWalk 2.0, Target Scan, miRanda, miRWalk, VENNY 2.1.0, Cytoscape 3.6.0, R packages, Cytoscape app, Perl, R Software, Mirtarbase, STRING, David.

2.3. Dự đoán trực tuyến của mạng circRNA/miRNA/mRNA

Dự đoán vị trí đích miRNA của vòng tròn: miRNA được liên kết với các vòng kết nối có thể được lấy từ trang web Circbank và CircInteractome xác định các vị trí liên kết tiềm năng. Mặt khác, cơ sở dữ liệu GSE61741 được phân tích bằng cách sử dụng phần mềm R để thu được sự khác biệt về biểu hiện của các miRNA. Cuối cùng, sử dụng venny để lấy giao điểm miRNA.

Dự đoán gen mục tiêu miRNA: Trang web miRWalk2 được sử dụng để dự đoán vùng 3'UTR của mRNA liên kết nhắm mục tiêu miRNA. Đồng thời, phần mềm Cytoscape được sử dụng để dự đoán các gen mục tiêu miRNA trong cơ sở dữ liệu mirtarbase. Ngoài ra, nghiên cứu này cũng sử dụng phần mềm R để phân tích cơ sở dữ liệu GSE56885 nhằm thu được sự khác biệt về biểu hiện mRNA. Bởi vì sự biểu hiện của hsa_circ_0000284 bị điều chỉnh giảm trong các mẫu CHD trong nghiên cứu này, nó có thể dẫn đến sự giảm mRNA của trục circRNA/miRNA/mRNA. Do đó, chỉ thu thập các gen điều chỉnh giảm trong bộ số liệu GSE56885 và sử dụng công cụ venny để lấy

điểm giao nhau các mRNA trong các bộ dữ liệu đã phân tích. Kết quả liên kết miRNA dự đoán của hsa_circ_0000284 và kết quả gen mục tiêu miRNA được đưa vào phần mềm Cytoscape để xây dựng mạng tương tác circRNA/miRNA/mRNA.

2.4. Phân tích làm giàu GO, KEGG và mạng tương tác protein-protein

Chú thích chức năng gen GO là thực hiện phân tích ý nghĩa chức năng trên hsa_circ_0000284 được biểu hiện khác biệt, cơ sở dữ liệu truy vấn như NCBI, Swissprot/Uniprot và AmiGO. KEGG tìm thấy các lộ trình tín hiệu được làm giàu đáng kể trong các gen biểu hiện khác biệt đáng kể so với toàn bộ nền gen. Phân tích làm giàu KEGG có thể trình bày sự làm giàu của các con đường hoạt động có thể có của hsa_circ_0000284 được biểu đạt một cách khác biệt trong CHD. Các ID gen sau đó được chuyển đổi thành ID entrez để phân tích GO và KEGG bằng phần mềm R, phần mềm perl, để dự đoán thêm một số khía cạnh như các quá trình sinh học, các thành phần tế bào, chức năng phân tử và các con đường tín hiệu, có thể suy ra vai trò chính của hsa_circ_0000284 trong sự xuất hiện và phát triển của CHD.

Cơ sở dữ liệu String trực tuyến là cơ sở dữ liệu mã nguồn mở để khám phá các tương tác protein-protein đã biết và được dự đoán. Mạng lưới tương tác protein giúp nghiên cứu cơ chế phân tử của bệnh từ góc độ hệ thống và phát hiện ra các mục tiêu tương tác thuốc tiềm năng.

3. Kết quả nghiên cứu

3.1. Dự đoán sự tương tác circRNA/miRNA

Vị trí nguồn của hsa_circ_0000284 là chr11: 33307958-33309057, độ dài của trình tự là 1099 bp, nó chứa 1 exon, gen chủ là HIPK3, ID vòng tròn là hsa_circHIPK3_004 và ID vòng tròn là hsa_circ_0000284.

Chúng tôi thu được 97 kết quả theo ID circRNA, gen chủ. Ngoài ra, chúng tôi cũng sử dụng bộ cơ sở dữ liệu trực tuyến của Circinteractome gồm 109 protein liên kết RNA (RBP) làm vị trí liên kết RNA. Bằng cách truy vấn các vị trí liên kết miRNA trên hsa_circ_0000284, đã thu được 42 miRNA.

Đồng thời để tăng độ chính xác cho kết quả dự đoán, nghiên cứu này cũng thu thập bộ dữ liệu miRNA liên quan đến nghiên cứu bệnh mạch vành trong bộ dữ liệu GEO trên trang web NCBI. GSE61741 bao gồm 94 đối chứng và 62 nhồi máu cơ tim cấp tính. Trong bài báo này, phần mềm R, phần mềm Perl được sử dụng để phân tích dữ liệu GSE61741, logFC = 1. Sự biểu hiện điều hòa giảm của 32 miRNA và sự biểu hiện điều chỉnh tăng của 68 miRNA đã thu được sau khi tiến hành phân tích.

3.2. Giao điểm của các kết quả cơ sở dữ liệu

Thông qua công cụ venny (<https://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/index.html>), kết quả của cơ sở dữ liệu Circbank, Circinteractome và GSE61741 tiến hành phân tích các giao điểm, để thu được dữ liệu duy nhất của mỗi tập dữ liệu.

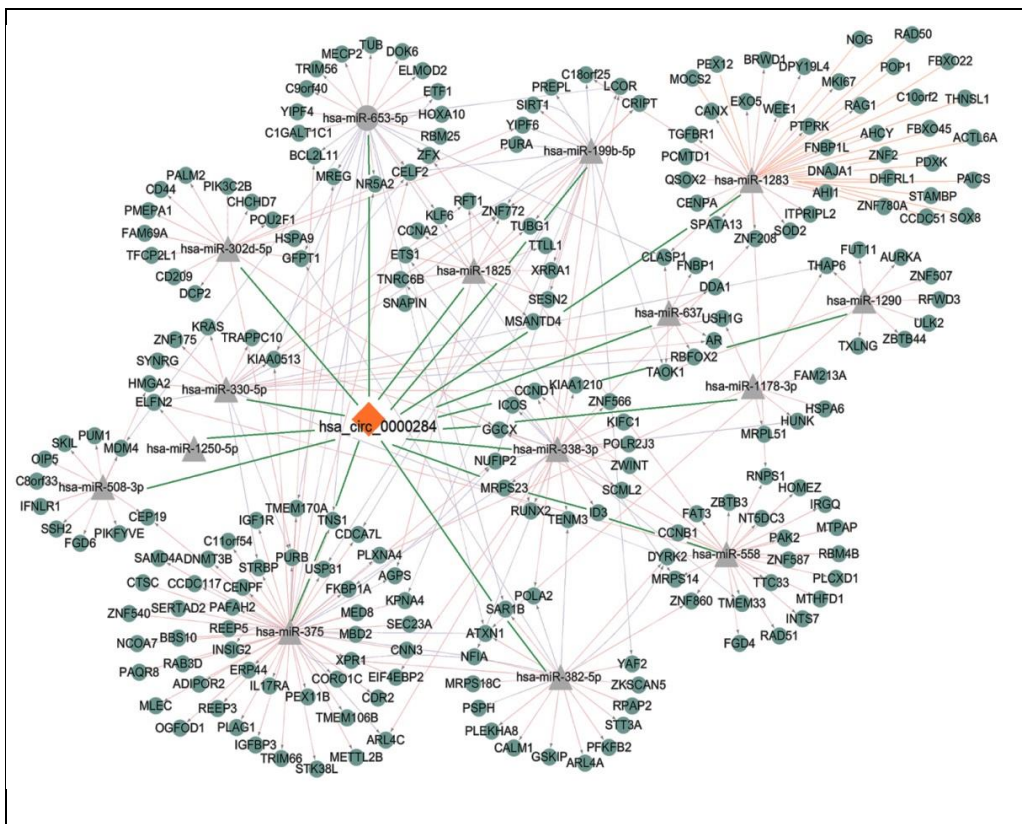
Kết quả của tất cả các miRNA mục tiêu được dự đoán liên kết với hsa_circ_0000284 bao gồm: hsa-miR-382-5p, hsa-miR-508-3p, hsa-miR-1283, hsa-miR-338-3p, hsa-miR-653-5p, hsa-miR-1178-3p, hsa-miR-1250-5p, hsa-miR-558, hsa-miR-637, hsa-miR-1290, hsa-

miR-1825, hsa-miR-330-5p, hsa-miR-375-3p, hsa-miR-199b-5p và hsa-miR-302d-5p.

3.3. Dự đoán mạng lưới điều hòa circRNA/miRNA/mRNA

Thông qua phần mềm Cytoscape bằng công cụ cytargetlinker, chúng tôi đã dự đoán được các gen mục tiêu hạ lưu của miRNA. Thông tin được hiển thị trực quan và dữ liệu cũng dễ dàng truy xuất. Đồng thời, chúng tôi cũng tiếp tục thu thập 1 cơ sở dữ liệu mRNA liên quan đến nghiên cứu bệnh mạch vành trong bộ dữ liệu GEO trên trang web NCBI, GSE56885 bao gồm 2 đối chứng và 4 trường hợp bệnh mạch vành. Phân tích dữ liệu GSE56885 được thực hiện bằng phần mềm R, phần mềm perl, logFC = 0,5. Sự biểu hiện điều hòa giảm của 766 mRNA và sự biểu hiện điều hòa lên của 429 mRNA thu được sau khi phân tích trong nghiên cứu này.

15 miRNA được dự đoán bởi hsa_circ_0000284 được sử dụng để dự đoán các gen mục tiêu bị ràng buộc bởi các miRNA bằng phần mềm Cytoscape. Kết quả từ cơ sở dữ liệu mirWalk và GSE56885 cũng được tiến hành phân tích giao điểm. Kết quả là thu được 219 mRNA. 15 miRNA được nhắm mục tiêu bởi hsa_circ_0000284 và 219 gen được nhắm mục tiêu của các miRNA được đưa vào phần mềm Cytoscape để xây dựng mạng tương tác circRNA/miRNA/mRNA (kết quả được hiển thị trong Hình 1 bên dưới).

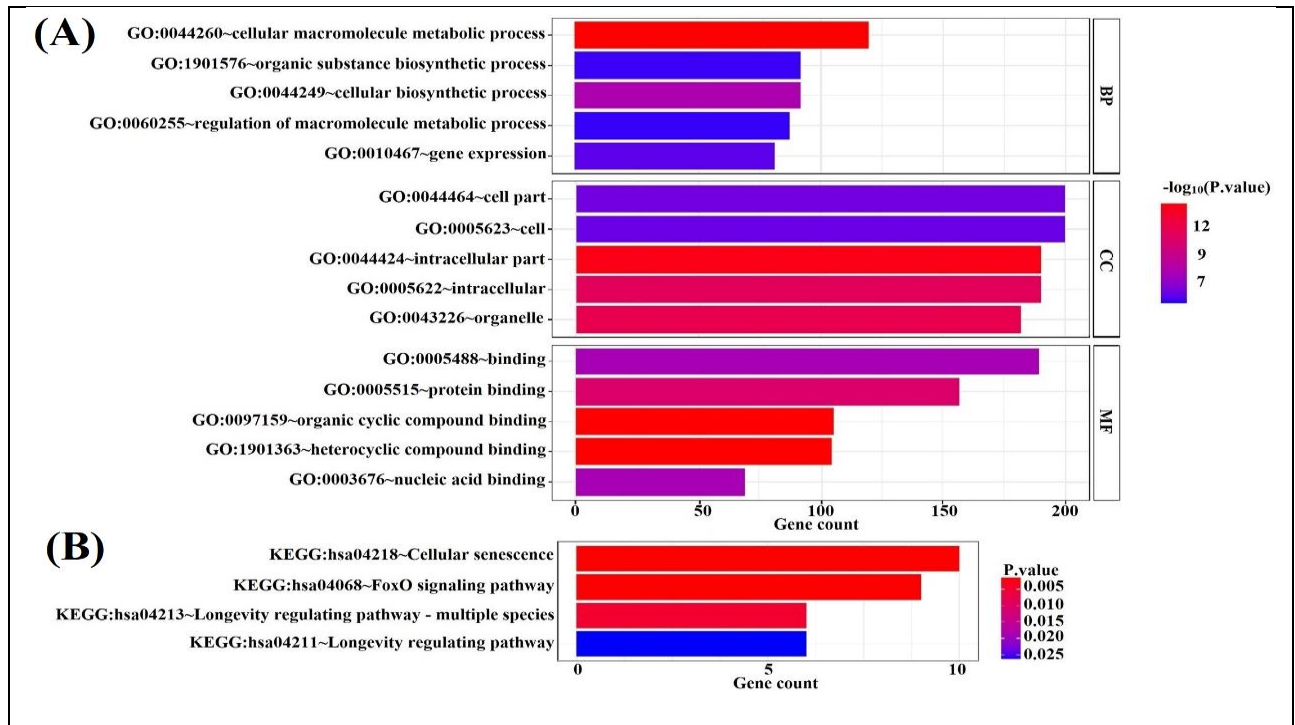


Hình 1. Mạng tương tác circRNA/miRNA/mRNA

3.4. Phân tích làm giàu GO và phân tích KEGG

Để hiểu rõ hơn về chức năng và mối quan hệ qua lại của các gen này, nghiên cứu đã sử dụng phân tích làm giàu GO và phân tích con đường KEGG. Kết quả phân tích GO bao gồm ba phần, đó là quá trình sinh học (BP), thành phần tế bào (CC) và chức năng phân tử (MP) (Hình 2A). Đối với kết quả xử lý GO-BP, kết quả cho thấy 276 thuật ngữ GO. Trong số đó, Top 5 thuật ngữ GO gồm: GO:0044260- quá trình trao đổi chất đại phân tử tế bào; GO:1901576- quá trình sinh tổng hợp chất hữu cơ; GO:0044249- quá trình sinh tổng hợp tế bào; GO:0060255- điều hòa quá trình trao đổi chất đại phân tử; GO:0010467- biểu hiện gen. Đối với kết quả GO-CC, kết quả cho thấy 66 thuật ngữ GO với Top 5 thuật ngữ gồm: GO:0044464- phần tế bào; GO:0005623- tế bào; GO:0044424- phần nội bào; GO:0005622- nội bào; GO:0043226- bào quan. Đối với kết quả chức năng phân tử

của phân tích GO-MP, sử dụng phân tích cơ sở dữ liệu cho thấy 74 thuật ngữ GO, Top 5 thuật ngữ bao gồm: GO:0005488- liên kết; GO:0005515- liên kết protein; GO:0097159- liên kết hợp chất mạch vòng hữu cơ; GO:1901363- liên kết hợp chất dị vòng; GO:0003676- liên kết axit nucleic. Thông qua phân tích con đường KEGG, chúng tôi không chỉ có thể chú thích chức năng của chính gen mà còn hiểu được các con đường khác nhau liên quan đến quá trình sinh học của gen. Kết quả chủ yếu tập trung ở hsa04218_ các quá trình lão hóa tế bào như các quá trình tế bào thuộc các con đường liên quan đến sự phát triển và chết của tế bào. Đường dẫn tín hiệu hsa04068_FoxO là quá trình xử lý thông tin môi trường thuộc con đường liên quan đến việc truyền tín hiệu. hsa04213 Con đường điều hòa tuổi thọ - nhiều loài. Đường tín hiệu hsa04211_ Con đường điều chỉnh tuổi thọ là một con đường liên quan đến các hệ thống hữu cơ, lão hóa (Hình 2B).

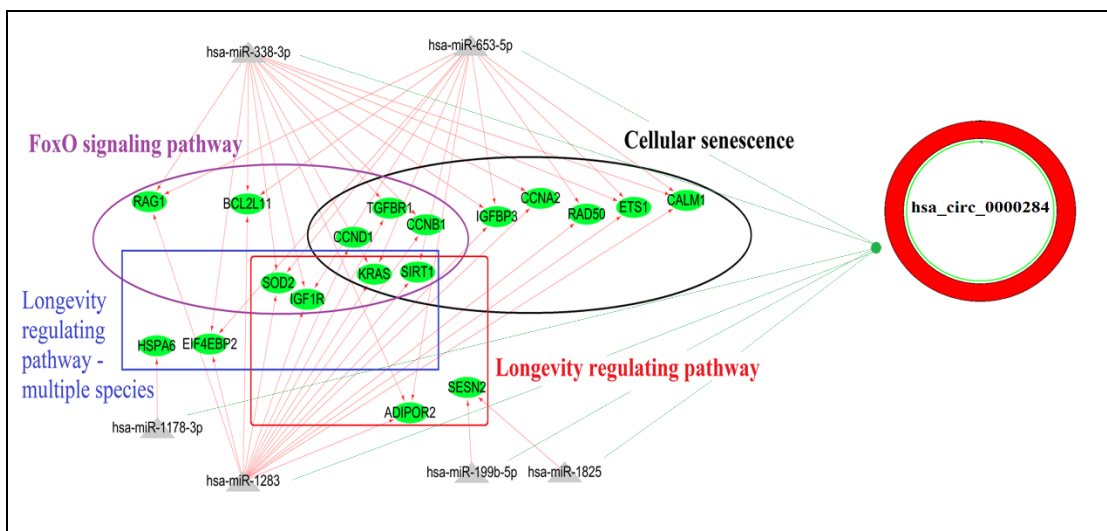


Hình 2. Các thuật ngữ GO và KEGG hàng đầu.

(A) Các con đường tín hiệu trong phân tích GO

(B) Các con đường tín hiệu trong phân tích KEGG

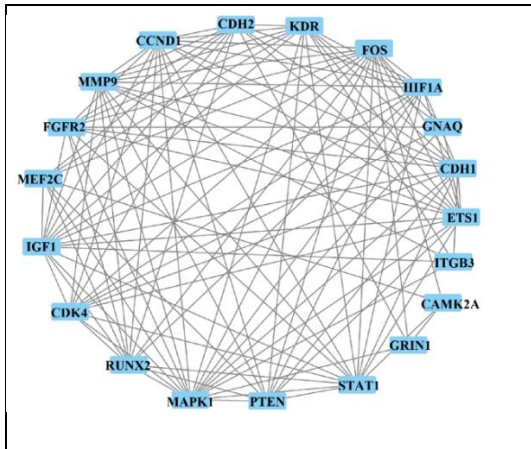
Kết quả KEGG được nhập vào phần mềm Cytoscape để xây dựng mạng tương tác circRNA/miRNA/mRNA (Hình 3).



Hình 3. Tóm tắt sơ đồ dự đoán mạng tương tác tiềm năng.

Mối tương quan của thông tin PPI được phân tích thông qua cơ sở dữ liệu trực tuyến String 11.0 và mạng PPI đã được xây dựng. Tổng số 219 nút tương ứng với 219 gen với 340 cạnh nối. Sử dụng phần mềm R để xác định sự tương tác của các protein trong mạng PPI, số

lượng tương tác càng cao đánh giá vị trí trong mạng càng quan trọng. Theo thông tin đạt được từ mạng PPI, ETS1 được xác định là gen trung tâm có mức độ liên kết cao nhất với hsa-miR-338-3p (Hình 4).



Hình 4. Mô-đun quan trọng trong mạng tương tác protein-protein.

4. Thảo luận

Từ kết quả dự đoán về trục circRNA/miRNA/mRNA của chúng tôi, bốn đường truyền tín hiệu KEGG liên quan đến hsa_circ_0000284 đã được dự đoán. Trong số đó, con đường truyền tín hiệu lão hóa tế bào chiếm ưu thế. Đọc thêm các tài liệu khác, chúng tôi thấy rằng sự phát triển của CHD ở người cao tuổi có liên quan đến quá trình lão hóa của hầu hết các tế bào của hệ thống mạch máu, bao gồm cả các tế bào nội mô [15]. Các yếu tố nguy cơ của bệnh tim mạch làm tăng stress oxy hóa, do đó làm tăng tốc độ tổn thương và rối loạn chức năng tế bào nội mô [16]. Tế bào nội mô lão hóa biểu hiện stress oxy hóa, chẳng hạn như peroxy hóa lipid và tăng biểu hiện của gen caveolin-1, cũng như các dấu hiệu tổn thương tế bào bị thay đổi (giảm biểu hiện protein TRF1, giảm biểu hiện eNOS và tăng Cox2) [17]. Có thể thấy rằng sự lão hóa quá mức của các tế bào nội mô có thể thúc đẩy sự xuất hiện và phát triển của CHD [18]. Tế bào hình lưỡi liềm tiết ra các phân tử gây viêm, chẳng hạn như NLRP3, Cas1 p20, IL-1 β , và IL-18 [19, 20], thúc đẩy sự lão hóa của tế bào, bao gồm tế bào nội mô mạch máu, và dẫn đến tổn thương nội mô và xơ vữa động mạch [21]. Trong bệnh xơ vữa động mạch, nguyên nhân chính gây ra CHD, mảng xơ vữa được chia thành 2 dạng, gồm những mảng bền

vững chứa chất nền ngoại bào giàu collagen, chủ yếu được cấu tạo bởi các tế bào cơ trơn. Trong đó, chất nền ngoại bào giàu collagen (ECM) tạo ra một nắp bao xơ ổn định ngăn cách mảng bám với lòng mạch. Ngược lại, các mảng không ổn định có nhiều tế bào bọt và không có đủ collagen trong ECM, làm cho mảng không ổn định và dễ bị vỡ, tạo thành cục máu đông. Mặt khác, sự tăng sinh tế bào được điều chỉnh bởi các kinase phụ thuộc cyclin (CDKs) và chất ức chế CDK (CKI). Việc kích hoạt các CDK đặc hiệu cho chu kỳ tế bào thúc đẩy sự tiến triển của giai đoạn này, và quá trình methyl hóa *CDKN2A* và *CDKN2B* có liên quan đến CHD ở người [22]. Khi bị xơ vữa động mạch, sự phát triển của các tế bào cơ trơn thành mạch là rất quan trọng để sửa chữa và phục hồi các tổn thương thành mạch. Sự phát triển của tế bào cơ trơn thành mạch đồng thời tạo thành ECM giàu collagen giúp ổn định các mảng và tăng sinh tế bào cơ trơn động mạch [23]. Tuy nhiên, khi các tế bào nội mô già đi, sự tăng sinh của các tế bào nội mô trong các mảng bám sẽ thúc đẩy đáng kể việc sửa chữa mảng bám không hiệu quả, dẫn đến sự mất ổn định của mảng bám. Trong khi đó, các tế bào già tích tụ trong các gen biểu hiện quá mức của mô mảng bám trực tiếp thúc đẩy sự mất ổn định của mảng bám, bao gồm phân tử kết dính gian bào-1 (ICAM-1), chất ức chế hoạt hóa plasminogen-1 (PAI -1) và sự biểu hiện của chất nền metalloprotease (collagenase và matrix lysin) [24, 25]. Kết hợp với kết quả của chúng tôi và các dữ liệu đã công bố khác, dự đoán của nghiên cứu này về các con đường truyền tín hiệu lão hóa tế bào liên quan đến CHD được hỗ trợ một cách khoa học và nó giúp tìm ra các cơ chế phân tử làm cơ sở cho sự khởi phát sớm của bệnh CHD.

Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã dự đoán một trục tương tác tiềm năng hsa_circ_0000284/hsa-miR-338-3p/*ETS1*. Ngày càng có nhiều bằng chứng cho thấy biểu

hiện không ổn định của hsa_circ_0000284 có liên quan chặt chẽ đến các bệnh tim mạch khác nhau. Nó tham gia vào quá trình điều chỉnh phiên mã, quá trình apoptosis và biểu hiện gen steroid. Một nghiên cứu trước đây cho thấy hsa_circ_0000284 được biểu hiện trong các tế bào nội mô và có thể làm tăng sinh tế bào và cải thiện rối loạn chức năng mạch máu [26]. Hơn nữa, vai trò của miR-338-3p đã được mô tả trong các nghiên cứu trước đây. Cụ thể, miR-338-3p được tăng lên ở bệnh nhân xơ vữa động mạch và tăng tốc độ tổn thương tế bào do ox-LDL gây ra [27, 28]. Trong một nghiên cứu về suy tim, người ta thấy rằng việc điều chỉnh biểu hiện hsa-miR-338-3p có thể góp phần điều hòa phân tử tái tạo ngược và phục hồi tim ở bệnh nhân suy tim [29]. Trong tăng huyết áp do thai nghén, hsa-miR-338-3p tăng đáng kể trong máu ngoại vi và nhau thai của bệnh nhân, cho thấy hsa-miR-338-3p có liên quan đến sự phát triển của bệnh [30]. Đồng thời, chúng tôi đã khám phá thêm về vai trò của *ETSI*. *ETSI* là một thành viên của họ yếu tố phiên mã ETS. Họ yếu tố phiên mã đóng một vai trò quan trọng trong một loạt các chức năng sinh học, bao gồm điều hòa sự phát triển và biệt hóa tế bào, phát triển cơ quan và chức năng tạo máu, phát triển tế bào lympho, tăng trưởng mạch máu và hình thành mạch, điều hòa quá trình hình thành mạch và viêm [31]. *ETSI* có thể hoạt động như một chất trung gian phiên mã để tái cấu trúc mạch máu thông qua nhiều cơ chế tiềm năng khác nhau. *ETSI* có thể thúc đẩy sự biểu hiện của các gen liên quan đến quy định tăng trưởng tế bào cơ trơn mạch máu, thúc đẩy việc tuyển dụng các tế bào viêm hoặc gây ra sự biểu hiện của các gen điều hòa biểu hiện gen, do đó điều chỉnh sự phát triển của xơ hóa [32]. Những phát hiện này phù hợp với dự đoán của chúng tôi. Do đó, kết hợp với phân tích tin sinh học, chúng tôi đưa ra giả thuyết rằng sự giảm biểu hiện hsa_circ_0000284 làm tăng sự gắn kết của miR-338-3p với mRNA ở hạ lưu, dẫn đến giảm

điều hòa *ETSI*. Sau đó, nó có thể tăng cường các tín hiệu như con đường lão hóa tế bào để thúc đẩy sự phát triển của CHD. Vai trò của hsa_circ_0000284/miR-338-3p/*ETSI* như một nghiên cứu sâu hơn cung cấp các mục tiêu nghiên cứu mới trong chẩn đoán và điều trị CHD.

Tuy nhiên, kết quả trên chỉ là dự đoán sơ bộ về hsa_circ_0000284. Chức năng bọt biển của các circRNA lên các miRNA cũng phụ thuộc vào sự phong phú của các miRNA và số lượng các vị trí liên kết miRNA có trong mỗi tế bào [33]. Do đó, kết quả dự đoán của hsa_circ_0000284 cần được xác minh thêm bằng thực nghiệm và cơ chế hoạt động liên quan cũng phải được làm sáng tỏ bằng cách nghiên cứu sự tương tác của circRNA, miRNA và mRNA. Việc nghiên cứu cơ chế điều hòa circRNA liên quan đến CHD không chỉ có thể nâng cao hiểu biết về cơ chế hình thành và phát triển bệnh mà còn góp phần phát triển các phương pháp điều trị hiệu quả hơn.

5. Kết luận

Trong nghiên cứu này, mạng tương tác hsa_circ_0000284/miRNA/mRNA đã được xây dựng và chúng tôi thấy rằng các gen được điều chỉnh bởi hsa_circ_0000284 có liên quan đến quá trình lão hóa, tuổi thọ và các quá trình tế bào, và có liên quan đến một số con đường dẫn đến sự xuất hiện và phát triển của CHD.

Tài liệu tham khảo

- [1] S. Ambardar, R. Gupta, D. Trakroo, R. Lal, and J. Vakhlu. (2016). High Throughput Sequencing: An Overview of Sequencing Chemistry. *Indian J Microbiol*, 56(4), 394–404.
- [2] G. Zhao. (2018). Significance of non-coding circular RNAs and micro RNAs in the pathogenesis of cardiovascular diseases. *J Med Genet*, 55(11), 713–720.
- [3] Y. C. Liu, J. R. Li, C. H. Sun, E. Andrews, R. F. Chao, F. M. Lin, S. L. Weng, S. D. Hsu, C. C. Huang, C. Cheng, C. C. Liu, and H. D. Huang. (2016). CircNet: A database of circular RNAs derived from transcriptome sequencing data. *Nucleic Acids Res*, 44(D1), D209-D215.

- [4] J. H. Li, S. Liu, H. Zhou, L. H. Qu, and J. H. Yang. (2014). starBase v2.0: decoding miRNA-ceRNA, miRNA-ncRNA and protein-RNA interaction networks from large-scale CLIP-Seq data. *Nucleic Acids Res*, 42, D92.
- [5] D. B. Dudekula, A. C. Panda, I. Grammatikakis, S. De, K. Abdelmohsen, and M. Gorospe. (2016). Circinteractome: A web tool for exploring circular RNAs and their interacting proteins and microRNAs. *RNA Biol*, 13(1), 34–42.
- [6] S. Ghosal, S. Das, R. Sen, P. Basak, and J. Chakrabarti. (2013). Circ2Traits: A comprehensive database for circular RNA potentially associated with disease and traits. *Front Genet*, 4, 283.
- [7] S. Y. Xia, J. Feng, L. J. Lei, J. Hu, L. Xia, J. Wang, Y. Xiang, L. Liu, S. Zhong, L. Han, and C. He. (2017). Comprehensive characterization of tissue-specific circular RNAs in the human and mouse genomes. *Brief Bioinform*, 18(6), 984-992.
- [8] S. Xia, J. Feng, K. Chen, Y. Ma, J. Gong, F. Cai, Y. Jin, Y. Gao, L. Xia, H. Chang, L. Wei, L. Han, and C. He. (2018). CSCD: A database for cancer-specific circular RNAs. *Nucleic Acids Res*, 46(D1), D925-D929.
- [9] S. Carbon, E. Douglass. (2019). The Gene Ontology Resource: 20 years and still GOing strong. *Nucleic Acids Res*, 47(D1), D330-D338.
- [10] M. Kanehisa, S. Goto. (2004). The KEGG resource for deciphering the genome. *Nucleic Acids Res*, 32, D277-280.
- [11] F. Lin, H. W. Chen, G. A. Zhao, Y. Li, X. He, W. Liang, Z. Shi, S. Sun, P. Tian, M. Huang, and C. Liu. (2020). Advances in Research on the circRNA-miRNA-mRNA Network in Coronary Heart Disease Treated with Traditional Chinese Medicine. *Evidence-based Complement Altern Med*, 2020: 8048691.
- [12] F. Lin, A. G. Zhao, and G. Z. Chen. (2019). CircRNA-miRNA association for coronary heart disease. *Mol Med Rep*, 19(4), 2527-2536.
- [13] Y. Sun, R. Chen, S. Lin, X. Xie, H. Ye, and F. Zheng. (2019). Association of circular RNAs and environmental risk factors with coronary heart disease. *BMC Cardiovascular Disorders*, 2019, 19.
- [14] X. Li, Z. Zhao, D. Jian, W. Li, H. Tang, M. Li. (2017). Hsa-circRNA11783-2 in peripheral blood is correlated with coronary artery disease and type 2 diabetes mellitus. *Diabetes and Vascular Disease Research*, 2017(14), 510–515.
- [15] K. Vemparala, A. Roy, and K. V. Bahl. (2013). Early accelerated senescence of circulating endothelial progenitor cells in premature coronary artery disease patients in a developing country - a case control study. *BMC Cardiovasc Disord*, 13, 104.
- [16] L. J. Kirkland, T. Tchkonja. (2017). Cellular Senescence: A Translational Perspective. *Ebiomedicine*, 21, 21–28.
- [17] G. Voghel, N. Thorin-Trescases, and N. Farhat. (2007). Cellular senescence in endothelial cells from atherosclerotic patients is accelerated by oxidative stress associated with cardiovascular risk factors. *Mech Ageing Dev*, 128, 662–671.
- [18] J. S. Yang, N. X. Mi, and Y. Chen Y. (2018). MicroRNA-216a induces endothelial senescence and inflammation via Smad3/IκBα pathway. *J Cell Mol Med*, 22, 2739–2749.
- [19] S. Toldo, A. Abbate. (2018). The NLRP3 inflammasome in acute myocardial infarction. *Nat Rev Cardiol*, 15, 203–214.
- [20] H. Feng, Q. S. Mou, and J. W. Li. (2020). Resveratrol Inhibits Ischemia-Induced Myocardial Senescence Signals and NLRP3 Inflammasome Activation. *Oxid Med Cell Longev*, 2020, 2647807.
- [21] I. Shimizu, T. Minamino. (2019). Cellular senescence in cardiac diseases. *J Cardiol*, 74, 313–319.
- [22] H. J. Zhuang, H. W. Peng, and L. H. Li. (2012). Methylation of p15 INK4b and Expression of ANRIL on Chromosome 9p21 Are Associated with Coronary Artery Disease. *PLoS ONE*, 7(10), e47193.
- [23] M. A. Almontashiri. (2017). The 9p21.3 risk locus for coronary artery disease: A 10-year search for its mechanism. *J Taibah Univ Med Sci*, 12, 199–204.
- [24] T. Minamino, I. Komuro. (2007). Vascular cell senescence: Contribution to atherosclerosis. *Circ Res*, 100, 15–26.
- [25] I. Gorenne, M. Kavurma, S. Scott. (2006). Vascular smooth muscle cell senescence in atherosclerosis. *Cardiol Res*, 72, 9–17.
- [26] Y. Wang, Z. R. Zhao, and Y. C. Shen CY. (2020). Exosomal CircHIPK3 Released from Hypoxia-Induced Cardiomyocytes Regulates Cardiac Angiogenesis after Myocardial Infarction. *Oxid Med Cell Longe*, 2020, 8418407.
- [27] J. Yin, X. Hou, and S. Yang. (2019). microRNA-338-3p promotes ox-LDL-induced endothelial cell injury through targeting BAMBI and activating TGF-β/Smad pathway. *Journal of Cellular Physiology*, 234, 11577–86.
- [28] Y. Yu, R. Yan, X. Chen, T. Sun, and J. Yan. (2020). Paeonol suppresses the effect of ox-LDL on mice vascular endothelial cells by regulating miR-338-3p/TET2 axis in atherosclerosis. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 475, 127–35.
- [29] C. Barsanti, G. Trivella, R. Aurizio, M. Baroudi, M. Baumgart, and M. Groth M. (2015). Differential regulation of MicroRNAs in end-stage failing hearts is associated with left ventricular assist device

- unloading. *BioMed Research International*, 2015, 592512.
- [30] J. Li, Y. Wu, and H. Liu. (2020). Expression and role of miR-338-3p in peripheral blood and placenta of patients with pregnancy-induced hypertension. *Experimental and Therapeutic Medicin*, 20, 418–426.
- [31] M. Ye, C. Coldren, X. Liang, T. Mattina, E. Goldmuntz, and W. Benson. (2009). Deletion of ETS-1, a gene in the Jacobsen syndrome critical region, causes ventricular septal defects and abnormal ventricular morphology in mice. *Human Molecular Genetics*, 19, 648–56.
- [32] Y. Zhan, C. Brown, E. Maynard, A. Anshelevich, W. Ni, and C. Ho. (2005). Ets-1 is a critical regulator of Ang II-mediated vascular inflammation and remodeling. *Journal of Clinical Investigation*, 115, 2508–2516.
- [33] Q. X. Yang, T. Ye, and R. H. Liu. (2021). Expression profiles, biological functions and clinical significance of circRNAs in bladder cancer. *Mol Cancer*, 20:4.