Dlouhé nekódující RNA v patofyziologii aterosklerózy

Jan Novák^{1,2,3}, Julie Bienertová Vašků³, Miroslav Souček¹

¹II. interní klinika LF MU a FN u sv. Anny v Brně

²Fyziologický ústav LF MU, Brno

³Ústav patologické fyziologie LF MU, Brno

Souhrn

Lidský genom obsahuje asi 22 000 protein kódujících genů, které dávají vznik ještě většímu množství messengerové RNA (mRNA). Výsledky projektu ENCODE z roku 2012 však ukazují, že byť je až 90 % našeho genomu aktivně přepisováno, tak mRNA dávající vznik proteinům tvoří pouze 2–3 % z celkového množství přepsané RNA. Zbývající RNA transkripty nedávají vznik proteinům a nesou proto označení „nekódující RNA“. Dříve se nekódující RNA považovala za „temnou hmotu genomu“, nebo za „odpad“, který se v naší DNA nahromadil v průběhu evoluce. Dnes již víme, že nekódující RNA plní v našem těle celou řadu regulačních funkcí – zasahují do epigenetických procesů od remodelace chromatinu k metylaci histonů, nebo do vlastního procesu transkripce, či do posttranskripčních procesů. Dlouhé nekódující RNA (lncRNA) jsou jednou ze tříd nekódujících RNA s délkou nad 200 nukleotidů (nekódující RNA s délkou pod 200 nukleotidů označujeme jako krátké nekódující RNA). lncRNA představují velice pestrou a rozsáhlou skupinu molekul s rozličnými regulačními funkcemi. Můžeme je identifikovat ve všech myslitelných buněčných typech, či tkáních, nebo dokonce v extracelulárním prostoru, a to včetně krve, potažmo plazmy. Jejich hladiny se mění v průběhu organogeneze, jsou specifické pro jednotlivé tkáně a k jejich změnám dochází i při vzniku různých onemocnění, včetně aterosklerózy. Cílem tohoto souhrnného článku je jednak představit problematiku lncRNA a některé jejich konkrétní zástupce ve vztahu k procesu aterosklerózy (popsat zapojení lncRNA do biologie endotelových buněk, hladkosvalových buněk cévní stěny, či buněk imunitních), a dále poukázat na možný klinický potenciál lncRNA, ať již v diagnostice či terapii aterosklerózy a jejich klinických manifestací.

Klíčová slova: ateroskleróza – lincRNA – lncRNA – MALAT – MIAT

Long non-coding RNAs in the pathophysiology of atherosclerosis

Summary

The human genome contains about 22 000 protein-coding genes that are transcribed to an even larger amount of messenger RNAs (mRNA). Interestingly, the results of the project ENCODE from 2012 show, that despite up to 90 % of our genome being actively transcribed, protein-coding mRNAs make up only 2–3 % of the total amount of the transcribed RNA. The rest of RNA transcripts is not translated to proteins and that is why they are referred to as “non-coding RNAs”. Earlier the non-coding RNA was considered “the dark matter of genome”, or “the junk”, whose genes has accumulated in our DNA during the course of evolution. Today we already know that non-coding RNAs fulfil a variety of regulatory functions in our body – they intervene into epigenetic processes from chromatin remodelling to histone methylation, or into the transcription process itself, or even post-transcription processes. Long non-coding RNAs (lncRNA) are one of the classes of non-coding RNAs that have more than 200 nucleotides in length (non-coding RNAs with less than 200 nucleotides in length are called small non-coding RNAs). lncRNAs represent a widely varied and large group of molecules with diverse regulatory functions. We can identify them in all thinkable cell types or tissues, or even in an extracellular space, which includes blood, specifically plasma. Their levels change during the course of organogenesis, they are specific to different tissues and their changes also occur along with the development of different illnesses, including atherosclerosis. This review article aims to present lncRNAs problematics in general and then focuses on some of their specific representatives in relation to the process of atherosclerosis (i.e. we describe lncRNA involvement in the biology of endothelial cells, vascular smooth muscle cells or immune cells), and we further describe possible clinical potential of lncRNA, whether in diagnostics or therapy of atherosclerosis and its clinical manifestations.

Key words: atherosclerosis – lincRNA – lncRNA – MALAT – MIAT

Úvod

V posledních 2 dekádách došlo k masivnímu rozvoji metod molekulární biologie, který umožnil přesun z výzkumu jednotlivých genů, molekul RNA či proteinů až na úroveň genomů (veškerého obsahu DNA v buňce), transkriptomů (veškerého obsahu RNA v buňce) či proteomů (všech proteinů v buňce) [1]. Tyto velké pokroky rovněž zásadním způsobem změnily náš pohled na genovou expresi – výzkum předchozích let se zaměřoval spíše na tzv. protein kódující geny, tedy geny, uložené v DNA, z níž je v procesu transkripce vytvořena předloha (messengerová RNA – mRNA), která je na ribozomech v procesu translace přeložena z tripletů bází do jednotlivých aminokyselin budoucích proteinů. Projekt ENCODE studující 147 různých buněčných typů a využívající nejmodernější „omics“ technologie ukázal, že až 90 % genomu je v průběhu ontogeneze aktivně přepisováno, avšak jen 2–3 % tvoří protein kódující geny [2]. Zbývající transkripty byly dříve považovány za „odpadní materiál“ (vznikající z tzv. „junk DNA“) nebo za nadbytečnou „temnou hmotu genomu“ vzniklou v průběhu evoluce.

Díky pokračujícímu výzkumu v této oblasti se význam této „temné hmoty“ daří pozvolna odkrývat – hovoříme o tzv. nekódujících RNA, tedy RNA, ze kterých nevznikají proteiny a které jsou cílem transkripce samy o sobě [1]. Nekódující RNA mají v našem těle regulační funkce – regulují výše popsany proces genové exprese na různých úrovních, čímž zajišťují jeho správný a delikátní průběh v jednotlivých tkáních, orgánech a také v jednotlivých časových okamžicích našeho vývoje. Množství protein kódujících genů mezi člověkem a jinými organismy (např. myší) je více méně podobný [3], avšak v množství nekódujících RNA se mezi sebou jednotlivé druhy významně liší a právě množství nekódujících RNA spíše koreluje s komplexitou eukaryotických organismů než jen množství protein kódujících genů (graf) [4].

S ohledem na velké množství RNA transkriptů, které se v buňkách nacházejí, bylo nutné vytvořit několik různých klasifikačních systémů, které se snaží do této pestré skupiny molekul vnést řád. Základní dělení je na krátké nekódující RNA (small non-coding RNAs – sncRNAs) a na dlouhé nekódující RNA (long non-coding RNAs – lncRNAs); umělá

Graf. Zastoupení nekódujících RNA na celkovém množství RNA u různých organismů. Upraveno podle [4]

Graf znázorňuje procentuální zastoupení nekódujících RNA u vybraných organismů (tj. poměr nekódující RNA vůči veškeré RNA). Množství nekódující RNA lépe odráží komplexitu organismu než jen množství protein-kódujících genů.

hranice mezi těmito 2 skupinami byla stanovena délkou 200 nukleotidů [5]. sncRNA se dle své funkce a způsobu vzniku pak dělí na celou řadu podskupin (mikroRNA, PIWI-interagující RNA, malé nukleární nebo nukleolární RNA a další), kterým v tomto souhrnném článku nebudeme věnovat bližší pozornost (o zapojení mikroRNA do patofyziologie aterosklerózy pojednává např. souhrnný článek v časopise *AtheroReview* [6]). Zaměříme se na dlouhé nekódující RNA, které jsou ještě pestřejší skupinou molekul, neboť délka 200 nukleotidů je pouze začátkem – většina lncRNA dosahuje délky přes 100 000 nukleotidů a v současné době je dle databáze „NON-CODE“ (www.noncode.org) známo 96 308 genů pro lncRNA a z těchto 96 308 genů je známo 172 216 různých lncRNA transkriptů. Tyto transkripty dnes dělíme do 4 základních tříd (obr. 1), přičemž tato klasifikace odráží vznik lncRNA a její vztah k okolním protein kódujícím genům. lncRNA mohou vznikat ze stejného transkriptu jako mRNA nejbližšího protein kódujícího genu nebo naopak z vlákna, které je k tomuto transkriptu komplementární – hovoříme o „sense“ a „anti-sense“ lncRNA. Dále mohou pocházet z intronů již známých genů, poté hovoříme o „intronových“ lncRNA, nebo se v genomu nacházejí v prostoru

mezi dvěma kódujícími geny – tyto lncRNA označujeme jako dlouhé intergenní RNA (zkracováno v literatuře jako lincRNA) [5]. Zda všechny lncRNA plní v organismu určitou biologickou funkci ještě musí být objasněno, už nyní je ale jasné, že jejich význam v regulaci genové exprese není možné opomíjet.

První známou lncRNA objevenou již v 90. letech minulého století je Xist (X-inactive specific transcript) – jedná se o lncRNA, která v buněčném jádře „navádí“ specifické proteiny (v tomto případě jde o PRC2 protein) ke chromozomu X, čímž se podílí na jeho inaktivaci [7]. Krom této epigenetické „naváděcí“ funkce se lncRNA v jádře podílejí na regulaci genové exprese na úrovni transkripce – mohou regulovat aktivitu transkripčních faktorů, blokovat promotorové oblasti, či v komplexu s regulačními proteiny zasáhnout do jednotlivých kroků transkripčního procesu. Stejně jako malé nekódující RNA (např. miRNA) se i lncRNA podílejí na posttranskripční regulaci (tj. interferují s již vytvořeným transkriptem), tím že zasahují do procesů alternativního sestřihu, ovlivňují stabilitu mRNA, či způsobují její degradaci [8].

Z výše uvedeného výčtu různých funkcí lncRNA je patrné, že se do procesu aterosklerózy mohou zapojovat

Obr. 1. Třídy dlouhých nekódujících RNA. Upraveno podle [5]

V současnosti rozlišujeme 4 hlavní třídy dlouhých nekódujících RNA (lncRNA). (A) Intergenní lncRNA (lincRNA) nacházející se mezi známými protein kódujícími geny, (B) intronické lncRNA nacházející se v intronech již známých protein kódujících genů a dále (C) sense a (D) antisense lncRNA vznikající jako součást delšího mRNA transkriptu (C) nebo z jeho protichůdného vlákna (D). Tmavá barva znázorňuje vznikající lncRNA, světlá barva znázorňuje protein kódující gen.

na úrovni epigenetické, transkripční a posttranskripční regulace, a to v jednotlivých buněčných typech, či tkáňích zapojených v procesu aterogeneze (tj. v endoteliích, hladkosvalových buňkách cévní stěny – VSMC, či makrofázích). Zapojení vybraných lncRNA znázorňuje **obr. 2**, který je dále rozebrán v následujícím textu.

lncRNA a funkce endotelu

Jedním z prvních kroků v procesu aterosklerózy je dysfunkce endotelových buněk – dysfunkční endotel je více permeabilní, je v něm zvýšená exprese adhezivních molekul, a to následně rezultuje v migraci a infiltraci stěny cév bílými krvinkami. Dochází rovněž k patologické angiogenezi, která je charakteristická zvýšenou proliferací endotelových buněk, jejich migrací a formováním nových cév [9–11].

V prvním kroku neoangiogeneze dochází k diferenciaci pluripotentních kmenových buněk do buněk endotelových a v tomto procesu jsou zapojeny 3 lncRNA: *terminator*, *alien* a *punisher*. *Terminator* je lncRNA zapojená zejména do udržování pluripotence, *punisher* se podílí na procesech mitózy, formování extracelulárního prostoru a buněčné adhezi, a *alien* reguluje expresi genů zapojených do vlastní angiogeneze, zrání cév a remodelaci mezibuněčné matrix [12]. Další lncRNA regulující proliferaci, zrání cév a buněčnou migraci jsou *NRON*, *Tie-1 AS*, *MIAT* a *MALAT*. S využitím gain- a loss-of-function experimentů bylo prokázáno, že *NRON* je schopen vázat NFAT (transkripční faktor) a zvýšená exprese *NRONu* v endoteliích inhibuje funkci NFAT, což vede k zpomalení proliferace, migrace i novotvorby cév [13]. Podobný efekt na novotvorbu cév má *Tie-1 AS*, což je lncRNA namířená proti tyrozinkináze Tie-1. Tie-1 je důležitou tyrozinkinázou

v rámci VEGF signalizace [14] a její utlumení pomocí *Tie-1 AS* rovněž zpomaluje novotvorbu cév [13]. *MIAT* se rovněž podílí na výše uvedených procesech a rovněž zasahuje velice komplexním způsobem do VEGF signalizace; *MIAT* totiž funguje jako „molekulární houba“ (molecular sponge) pro mikroRNA-150 (miR-150). miR-150 je známá tím, že blokuje mRNA pro VEGF, která má ve své struktuře pro miR-150 tři vazebná místa. Přítomnost *MIAT* však molekuly miR-150 vychytá („nasaje je jako houba vodu“), čímž se znovuobnoví exprese VEGF a dochází k neoangiogenezi [15]. Bylo již prokázáno, že ke zvýšené expresi *MIAT* (a tím i zvýšené expresi VEGF) dochází vlivem zvýšené hladiny glukózy, což bylo na zvířecím modelu pozorováno jako zvýšená neovaskularizace v sítnici, čímž by se *MIAT* mohla podílet i na progresi diabetické retinopatie [16]. V neposlední řadě lncRNA *MALAT*, zasahuje přes regulaci proteinů buněčného cyklu (CCNA2, CCNB1 a CCNB2), do funkce endotelií tak, že reguluje přepínání mezi proliferacím a promigračním fenotypem – utlumením *MALAT* pomocí interferujících siRNA dochází ke snížení proliferacího potenciálu a zvýšením hladiny *MALAT* je proliferace endotelií stimulována [17].

Z výše uvedeného je patrné, že řada různých lncRNA ovlivňuje a reguluje již známé procesy probíhající v endotelových buňkách, jejich proliferaci, migraci, či vyzrávání, a za patologických podmínek jsou zapojeny i do procesu aterogeneze.

lncRNA v biologii hladkosvalových buněk cévní stěny

Endotelová dysfunkce je neodvratně spojována s následnou remodelací cévní stěny: hladkosvalové buňky cévní stěny (VSMC) mění svůj kontraktilní fenotyp na fenotyp proliferací a navíc se z cévní medie přesouvají do intimy, čímž dále podporují růst a remodelaci aterosklerotického plátu [9–11].

Jednou z prvních lncRNA popisovaných ve vztahu k VSMC byl *ANRIL*. Gen pro *ANRIL* nacházíme na lokusu 9p21, v němž byla již v minulosti pomocí genome wide-association studies (GWAS) nalezena řada různých SNP, které asociovaly právě s aterosklerózou a infarktem myokardu [18]. Přítomnost rizikových SNP expresi *ANRIL* zvyšuje, a to jak v aterosklerotickém plátu, tak v periferní krvi [19]. Mechanisticky vede zvýšená exprese *ANRIL* k ovlivnění celé řady proteinů buněčného cyklu a jeho nepřítomnost nebo inhibice vede ke zpomalení růstu VSMC [9]. Podobnou funkci plní lncRNA *SENCR*, která down-reguluje geny nezbytné pro správnou kontraktilní funkci (např. *Myocd*) a up-reguluje geny nezbytné pro migraci (např. *Mdk*), čímž přispívá k přechodu z kontraktilního do migračního fenotypu [20].

Další tři lncRNA jsou s funkcí VSMC spojeny tím, že jsou prekurzorem pro vznik různých mikroRNA, jejichž zapojení do funkce VSMC již bylo prokázáno. Konkrétně jde o *H19 lincRNA* [21], která ve své struktuře kóduje mj. i miR-675, o *Lnc-Ang362* [22], která ve své struktuře kóduje miR-221 a miR-222 a o *E330013P06* [23], která ve své struktuře kóduje miR-143/145. *H19 lincRNA* je funkčně propo-

Obr. 2. Přehled vybraných lncRNA a jejich zapojení do patofyziologie aterosklerózy

Levá část obrázku znázorňuje řez cévní stěnou s červenými krvinkami nejvíce dole, vrstvou endotelií a vrstvou hladkosvalových buněk. Jednotlivá textová pole poté shrnují názvy lncRNA, které v daném buněčném typu participují na procesu aterosklerózy.

Obrázek vytvořen s pomocí Servier Medical Art (volně dostupné na <http://smart.servier.com/>)

jena s proteinem H19, o němž je již řadu let známo, že je zvýšeně exprimován v aterosklerotických plátech a jehož polymorfizmy asociují s vyšším rizikem rozvoje ICHS. *Lnc-Ang362* byla objevena při profilování VSMC stimulovaných angiotenzinem II (ve srovnání s nestimulovanými buňkami) a její knock-down vedl ke snížení hladin miR-221/222, což vedlo k zpomalení proliferace VSMC. Poslední jmenovaná lncRNA *E330013P06* byla identifikována jak ve VSMC, tak v makrofázích. Ve VSMC její nedostatek (s následným nedostatkem miR-143/145) narušuje schopnost kontraktility (čímž vychyluje rovnováhu mezi kontraktilním a proliferacním fenotypem ve prospěch proliferacního), v makrofázích zase její zvýšení způsobuje větší tvorbu prozánětlivých cytokinů a progresi zánětu.

Další lncRNA zapojené do biologie VSMC zahrnují např. *HAS2-AS1* (spojenou s produkcí hyaluronanu, jehož nadbytečná produkce urychluje aterosklerózu [24]), *HIF1a-AS1* (lncRNA spojená s hypoxií a apoptózou identifikovaná v SMC ze vzorků aortálních aneurysmat [25]), *lncRNA-GAS5* (lncRNA identifikovaná v SMC z varikózních žil, která in vitro zpomaluje proliferaci VSMC [26]). Všechny tyto a jistě i řada dalších lncRNA si zaslouží další detailnější výzkum v biologii VSMC.

Imunitní buňky a lncRNA

V neposlední řadě se do tvorby aterosklerotické léze zapojují i buňky imunitního systému (z makrofágů derivované pěnové buňky) a ukládají se do nich lipoproteiny, potažmo cholesterol, což vede k uvolnění prozánětlivých cytokinů a rozvoji lokální zánětlivé reakce [9–11].

V současné době byly popsány 3 lncRNA, které se zapojují do přeměny makrofágů v pěnové buňky a zároveň ovlivňují metabolismus cholesterolu v pěnových buňkách – *lncRNA-DYNLRB2-2*, *lncRNA-RP5-833A20.1* a *E330013P06*. První dvě jmenované pocházejí ze studií od Hu et al a prokazují, že obě dvě jsou zapojeny v regulaci exprese prozánětlivých cytokinů (konkrétně IL1β, IL6 a TNFα) a zároveň regulují expresi ABCA1, jednoho z nejdůležitějších transportérů zapojených do effluxu cholesterolu [27,28]. Výše zmíněná *E330013P06* je pak třetí lncRNA, jejíž zvýšená exprese rovněž stimuluje produkci prozánětlivých genů (*Il6*, *Nos2* a *Ptgs2*) [23].

Klinický potenciál lncRNA

Výše uvedené lncRNA umožňují lépe pochopit patofyziologii aterosklerózy, což by mohlo rezultovat ve vývoj nových léčiv – experimentálně jsme již dnes schopni lncRNA zablokovat, či uměle zvýšit její expresi. Ke zvýšení exprese chybějících lncRNA jsou nejvíce využívány virové vektory, avšak jejich klinické využití je zatíženo nežádoucími účinky, jakými jsou např. karcinogeneze nebo imunogenicita [29]. Přímé dodání chybějící lncRNA by fungovalo na stejném principu jako dodání chybějící mRNA („mRNA substituční terapie“), avšak i tento přístup vstupuje do klinické praxe velice pomalu a zatím není možné jej robustně rozšířit [30]. Jako slibnější postup se jeví inhibice nadbytečně exprimovaných lncRNA aplikací anti-sense oligonukleotidů (ASO) a siRNA (small-in-

terfering RNA) [31]. ASO blokuje lncRNA přímo v jádře, siRNA v cytoplazmě – oba tyto přístupy jsou nyní intenzivně zkoumány, neboť je stále nutné vytvořit bezpečné přístupy dodání konkrétních ASO/siRNA do konkrétních tkání, či zajistit dostatečnou specifitu a stabilitu podávaných molekul, avšak jak již víme ze zkušenosti s inhibicí PCSK9 pomocí inkisiranu (což je ve své podstatě oligonukleotid, siRNA, namířený proti mRNA pro PCSK9 [32]), je tento přístup možný a v budoucnu se možná právě tento přístup dočká nejvíce klinických aplikací.

Další oblastí, ve které by bylo možné lncRNA využít, je jejich stanovení v tělních tekutinách, zejména v plazmě. Oproti v současnosti intenzivně studovaným mikroRNA vykazují lncRNA mnohem menší stabilitu, jsou citlivější na zpracování i k degradaci a doposud nebyl vytvořen uniformní postup k jejich stanovení [33]. I přesto již existují první studie, které poukazují na možný význam některých lncRNA. První byla průřezová studie zaměřující se na lncRNA ANRIL u pacientů s ICHS, která zahrnovala 1 134 jedinců. Hladiny *ANRIL* nezávisle korelovaly s tíží ICHS a ukázalo se, že *ANRIL* je zvýšeně exprimován u jedinců, v jejichž genomu se nacházejí již dříve identifikované rizikové jednonukleotidové polymorfizmy [19]. lncRNA zvaná *LIPCAR* zase odráží srdeční remodelaci a její hladiny predikují kardiovaskulární mortalitu jak u pacientů po infarktu myokardu, tak u pacientů se srdečním selháním [34]. Další zkoumané lncRNA v plazmě u pacientů po infarktu myokardu zahrnují *KC-NQ10T1*, *MALAT1*, *MIAT*, či *HIF1aAS2* [9–11], avšak jejich využití a klinický význam je zatím nejasný. Studie v této oblasti jsou teprve ve svých počátcích, nelze nyní tedy jednoznačně říci, zda cirkulující lncRNA přinesou do klinické praxe nové informace, které neposkytují v současnosti užívané biomarkery.

Závěr

lncRNA představují relativně mladou a velice obsáhlou a komplexní skupinu molekul, která je zapojena do regulace genové exprese a podílí se na embryogenezi, funkci jednotlivých tkání a buněk a také na patofyziologii různých onemocnění, včetně aterosklerózy. Expresí většiny lncRNA je tkáňově specifická a lze tedy předpokládat, že po překonání všech technologických problémů bude možné jejich hladiny v budoucnu specificky terapeuticky ovlivnit s cílem vyhnout se nežádoucím účinkům v jiných tkáních. Stran využití v diagnostice bude zcela nezbytné vytvoření uniformních protokolů umožňujících standardizovanou izolaci a stanovení hladin lncRNA, a to jak v tkáních, tak ve vzorcích tělních tekutin. Nutno také podotknout, že většina doposud provedených výzkumů se odehrávala in vitro na buněčných kulturách – ověření výsledků in vivo na zvířecích modelech nebo ve vzorcích lidské tkáně je rovněž nezbytným předpokladem k prolomení pomyslné bariéry na cestě z laboratoře do klinické praxe.

Podpořeno z programového projektu Ministerstva zdravotnictví ČR s názvem Cirkulující mikroRNA jako ne-

invazivní markery rejekce štěpu u pacientů po srdeční transplantaci s reg. č. 16-30537A.

Veškerá práva podle předpisů na ochranu duševního vlastnictví jsou vyhrazena.

Literatura

- Esteller M. Non-coding RNAs in human disease. *Nat Rev Genet* 2011; 12(12): 861–874. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1038/nrg3074>>.
- [ENCODE Project Consortium]. An integrated encyclopedia of DNA elements in the human genome. *Nature* 2012; 489(7414): 57–74. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1038/nature11247>>.
- Emes RD, Goodstadt L, Winter EE et al. Comparison of the genomes of human and mouse lays the foundation of genome zoology. *Hum Mol Genet* 2003; 12(7): 701–709.
- Taft RJ, Pheasant M, Mattick JS. The relationship between non-protein-coding DNA and eukaryotic complexity. *BioEssays* 2007; 29(3): 288–299. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1002/bies.20544>>.
- Ma L, Bajic VB, Zhang Z. On the classification of long non-coding RNAs. *RNA Biol* 2013; 10(6): 925–933. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.4161/rna.24604>>.
- Novák J, Souček M. Význam mikroRNA v patofyziologii aterosklerózy a jejich možné klinické využití. *AtheroReview* 2016; 1(3): 144–150.
- Engreitz JM, Pandya-Jones A, McDonel P et al. The Xist lncRNA exploits three-dimensional genome architecture to spread across the X chromosome. *Science* 2013; 341(6147): 1237973. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1126/science.1237973>>.
- Li X, Wu Z, Fu X et al. lncRNAs: insights into their function and mechanisms in underlying disorders. *Mutat Res Rev Mutat Res* 2014; 762: 1–21. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.mrrev.2014.04.002>>.
- Li H, Zhu H, Ge J. Long Noncoding RNA: Recent Updates in Atherosclerosis. *Int J Biol Sci* 2016; 12(7): 898–910. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.7150/ijbs.14430>>.
- Jian L, Jian D, Chen Q et al. Long Noncoding RNAs in Atherosclerosis. *J Atheroscler Thromb* 2016; 23(4): 376–384. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.5551/jat.33167>>.
- Zhou T, Ding J, Wang X et al. Long noncoding RNAs and atherosclerosis. *Atherosclerosis* 2016; 248: 51–61. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2016.02.025>>.
- Kurian L, Aguirre A, Sancho-Martinez I et al. Identification of novel long noncoding RNAs underlying vertebrate cardiovascular development. *Circulation* 2015; 131(14): 1278–1290. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.114.013303>>.
- Tang Y, Wo L, Chai H. Effects of noncoding RNA NRON gene regulation on human umbilical vein endothelial cells functions. *Zhonghua Xin Xue Guan Bing Za Zhi* 2013; 41(3): 245–250.
- Woo KV, Baldwin HS. Role of Tie1 in shear stress and atherosclerosis. *Trends Cardiovasc Med* 2011; 21(4): 118–123. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.tcm.2012.03.009>>.
- Jiang Q, Shan K, Qun-Wang X et al. Long non-coding RNA-MIAT promotes neurovascular remodeling in the eye and brain. *Oncotarget* 2016; 7(31): 49688–49698. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.18632/oncotarget.10434>>.
- Yan B, Yao J, Liu JY et al. lncRNA-MIAT regulates microvascular dysfunction by functioning as a competing endogenous RNA. *Circ Res* 2015; 116(7): 1143–1156. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.116.305510>>.
- Michalik KM, You X, Manavski Y et al. Long noncoding RNA MALAT1 regulates endothelial cell function and vessel growth. *Circ Res* 2014; 114(9): 1389–1397. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.114.303265>>.
- 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. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1161/ATVBAHA.111.232678>>.
- Holdt LM, Beutner F, Scholz M et al. ANRIL expression is associated with atherosclerosis risk at chromosome 9p21. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2010; 30(3): 620–627. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1161/ATVBAHA.109.196832>>.
- Bell RD, Long X, Lin M et al. Identification and Initial Functional Characterization of a Human Vascular Cell Enriched Long Non-Coding RNA. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2014; 34(6): 1249–1259. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1161/ATVBAHA.114.303240>>.
- Ding Z, Wang X, Schnackenberg L et al. Regulation of autophagy and apoptosis in response to ox-LDL in vascular smooth muscle cells, and the modulatory effects of the microRNA hsa-let-7 g. *Int J Cardiol* 2013; 168(2): 1378–1385. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijcard.2012.12.045>>.
- Leung A, Trac C, Jin W et al. Novel long noncoding RNAs are regulated by angiotensin II in vascular smooth muscle cells. *Circ Res* 2013; 113(13): 266–278. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.112.300849>>.
- Reddy MA, Chen Z, Park JT et al. Regulation of inflammatory phenotype in macrophages by a diabetes-induced long noncoding RNA. *Diabetes* 2014; 63(12): 4249–4261. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.2337/db14-0298>>.
- Vigetti D, Deleonibus S, Moretto P et al. Natural antisense transcript for hyaluronan synthase 2 (HAS2-AS1) induces transcription of HAS2 via protein O-GlcNAcylation. *J Biol Chem* 2014; 289(42): 28816–28826. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1074/jbc.M114.597401>>.
- Zhao Y, Feng G, Wang Y et al. Regulation of apoptosis by long non-coding RNA HIF1A-AS1 in VSMCs: implications for TAA pathogenesis. *Int J Clin Exp Pathol* 2014; 7(11): 7643–7652.
- Li L, Li X, The E et al. Low expression of lncRNA-GAS5 is implicated in human primary varicose great saphenous veins. *PloS One* 2015; 10(3): e0120550. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0120550>>.
- Hu YW, Yang JY, Ma X et al. A lincRNA-DYNLRB2-2/GPR119/GLP-1R/ABCA1-dependent signal transduction pathway is essential for the regulation of cholesterol homeostasis. *J Lipid Res* 2014; 55(4): 681–697. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1194/jlr.M044669>>.
- Hu YW, Zhao JY, Li SF et al. RP5-833A20.1/miR-382-5p/NFIA-dependent signal transduction pathway contributes to the regulation of cholesterol homeostasis and inflammatory reaction. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2015; 35(1): 87–101. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1161/ATVBAHA.114.304296>>.
- Bouard D, Alazard-Dany D, Cosset FL. Viral vectors: from virology to transgene expression. *Br J Pharmacol* 2009; 157(2): 153–165. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1038/bjp.2008.349>>.
- Sergeeva OV, Kotelianskiy VE, Zatspein TS. mRNA-Based Therapeutics - Advances and Perspectives. *Biochem Biokhimiia* 2016; 81(7): 709–722. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1134/S0006297916070075>>.
- Lennox KA, Behlke MA. Cellular localization of long non-coding RNAs affects silencing by RNAi more than by antisense oligonucleotides. *Nucleic Acids Res* 2016; 44(2): 863–877. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1093/nar/gkv1206>>.
- Ray KK, Landmesser U, Leiter LA et al. Inclisiran in Patients at High Cardiovascular Risk with Elevated LDL Cholesterol. *N Engl J Med* 2017; 376(15): 1430–1440. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1056/NEJMoa1615758>>.
- Huang YK, Yu JC. Circulating microRNAs and long non-coding RNAs in gastric cancer diagnosis: An update and review. *World J Gastroenterol* 2015; 21(34): 9863–9886. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.3748/wjg.v21.i34.9863>>.
- Kumarswamy R, Bauters C, Volkman I et al. Circulating long non-coding RNA, LIPCAR, predicts survival in patients with heart failure. *Circ Res* 2014; 114(10): 1569–1575. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.114.303915>>.

MUDr. Jan Novák

✉ jan.novak@fnusa.cz

II. interní klinika LF MU a FN u sv. Anny v Brně

www.fnusa.cz

Doručeno do redakce 13. 11. 2017

Přijato po recenzi 5. 1. 2018