



Scan online to view this article

The importance of ErbB signaling pathway in identifying biomarkers influencing the development of coronary artery disease: an in-silico study

Akram Gholipour¹, Farshad Shakerian^{2,3}, Ali zahedmehr³,
Shiva Irani¹, Seyed Javad Mowla^{4*}, Mahshid Malakootian^{2*}

1. Department of Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

2. Cardiogenetic Research Center, Rajaie Cardiovascular Medical and Research Center, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

3. Cardiovascular Intervention Research Center, Rajaie Cardiovascular Medical and Research Center, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

4. Department of Molecular Genetics, Faculty of Biological Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

Abstract

Aim and Background: Coronary arteries are blood vessels that carry blood to the heart. With plaque forming on the walls of these arteries, the blood supply becomes problematic. The diagnosis of coronary artery disease is very important because of the risks to person's health. The aim of this study is to determine genes with differential expression between CAD patients and normal individuals in the ErbB signaling pathway, as one of the important pathways in the development of this disease, and to investigate their importance in identifying biomarkers of coronary artery disease.

Material and Methods: The raw files of RNA-sequencing of samples of coronary artery patients and normal individuals were obtained from datasets with numbers GSE99985 and GSE100206, respectively, and the steps of sample analysis were performed. Genes with different expression in R program were isolated with DESeq2 package. Then, functional analysis of genes including signaling pathways, biological processes and genes with different expression in the ErbB pathway and how they change were examined.

Results: The results demonstrated upregulation of 1069 genes and downregulation of 851 genes among samples. In addition, functional analysis revealed that genes such as *CAMK2D*, *SHC3*, *ERBB3*, *NRG4*, *RPS6KB2*, *MAPK1*, *BRAF*, *AREG* and *CRK* had differentially expression among patients could affect ErbB signaling pathway as well.

Conclusion: Molecular studies can help to achieve the reliable biomarkers of coronary artery disease which is important for biomedical research, drug development and clinical applications.

Key words: coronary artery disease, ErbB signaling pathway, genes biomarkers, Iau Science

Corresponding author:

First: Department of Molecular Genetics, Faculty of Biological Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran,
second: Cardiogenetic Research Center, Rajaie Cardiovascular Medical and Research Center, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Email: sjmowla@yahoo.com; malakootian@rhc.ac.ir





برای مشاهده این مقاله به صورت
آنلاین اسکن کنید

اهمیت مسیر سیگنالینگ ErbB در شناسایی بیومارکرهای تأثیرگذار بر توسعه بیماری عروق کرونری: یک مطالعه in-silico

اکرم قلی پور^۱، فرشاد شاکریان^{۲،۳}، علی زاهد مهر^۲، شیوا ایرانی^۱، سید جواد مولی^۴، مهشید ملکوتیان^{۲*}

۱. گروه زیست شناسی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
۲. مرکز تحقیقات کاردیو ژنتیک، مرکز آموزشی، تحقیقاتی و درمانی قلب و عروق شهید رجایی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران
۳. مرکز تحقیقات مداخلات قلبی و عروقی، مرکز آموزشی، تحقیقاتی و درمانی قلب و عروق شهید رجایی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران
۴. دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده علوم زیستی، گروه ژنتیک مولکولی، تهران، ایران

چکیده

سابقه و هدف: عروق کرونری، عروق خونی هستند که خون را به قلب منتقل می کنند. با ایجاد پلاک در دیواره این رگ ها، عمل خون رسانی با مشکل مواجه می شود. تشخیص بیماری عروق کرونری به دلیل خطراتی که برای سلامتی شخص دارد، بسیار مهم است. هدف از این مطالعه بررسی ژن های دارای تفاوت بیان بین بیماران و افراد نرمال در مسیر سیگنالینگ ErbB، به عنوان یکی از مسیرهای مهم در ایجاد این بیماری و بررسی اهمیت آن ها در شناسایی بیومارکرهای بیماری عروق کرونری است.

مواد و روش ها: ابتدا فایل های خام حاصل از RNA-sequencing نمونه های بیماران عروق کرونری و افراد نرمال، به ترتیب از دیتاست های با شماره GSE99985 و GSE100206 به دست آمده و مراحل آنالیز نمونه ها انجام شد. ژن های دارای تفاوت بیان در زبان برنامه نویسی R و با پکیج DESeq2 جداسازی شد. سپس آنالیز عملکردی ژن ها از جمله مسیرهای سیگنالینگ، فرآیندهای بیولوژیکی و ژن های دارای تفاوت بیان در مسیر ErbB و نحوه تغییرهای بیان آن ها مورد بررسی قرار گرفت.

یافته ها: نتایج نشان داد ۱۰۶۹ ژن در بین نمونه های موردنظر دارای افزایش بیان و ۸۵۱ ژن نیز کاهش بیان داشتند. به علاوه با بررسی آنالیزهای عملکردی مشخص شد ژن هایی مانند *CAMK2D*، *SHC3*، *ERBB3*، *NRG4*، *RPS6KB2*، *MAPK1*، *BRAF* و *AREG* از جمله ژن هایی هستند که هم در بیماران تغییرهای بیانی را نشان می دادند و هم مسیر سیگنالینگ ErbB را تحت تأثیر قرار می دادند.

نتیجه گیری: در نهایت، بررسی های مولکولی دقیقتر منجر به دستیابی به ژن های قابل اعتماد برای شناسایی بیومارکرهای بیماری عروق کرونری خواهد شد که برای تحقیقات زیست پزشکی، توسعه دارو و کاربردهای بالینی ضروری است.

واژگان کلیدی: بیماری عروق کرونری، مسیر سیگنالینگ ErbB، بیومارکرهای ژنی، Iau Science.

مقدمه

بیماری عروق کرونری^۱ (CAD) شایع ترین علت مرگ در کشورهای صنعتی به شمار می رود که شیوع آن به سرعت در حال افزایش است (۱). در بیماران عروق کرونری، به دلیل ایجاد پلاک آرتروسکلروزیس در سرخرگ های تاجی، تنگ و باریک می شوند (استنوزیس) و عضلات قلب از رسیدن خون و اکسیژن کافی محروم می گردند (۲).

نویسنده مسئول اول:

دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده علوم زیستی، گروه ژنتیک مولکولی، تهران، و مرکز تحقیقات کاردیو ژنتیک، مرکز آموزشی، تحقیقاتی

نویسنده مسئول دوم:

درمانی قلب و عروق شهید رجایی، دانشگاه علوم پزشکی ایران
پست الکترونیکی: malakootian@rhc.ac.ir، sjmowla@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۱/۲۴

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۴/۰۷

¹ Coronary Artery Disease

بتوان بازیگران جدیدی را در جهت تشخیص هر چه سریع تر بیماری عروق کرونری شناسایی نمود.

مواد و روش ها

به دست آوردن دیتاست و نمونه های مورد بررسی

دیتاست استفاده شده در مطالعه حاضر از پایگاه داده NCBI Gene Expression Omnibus (GEO) به دست آمد. نمونه های RNA-sequencing برای بیماران با شماره GSE99985 و افراد نرمال با شماره GSE100206 دانلود شد. این نمونه ها حاصل بررسی پروفایل بیانی بیماران و افراد نرمال در نمونه های خون استخراج شده هستند (۱۱).

آنالیز بیوانفورماتیکی داده های خام نمونه ها

در ابتدا فایل های خام داده ها با استفاده از نرم افزار FastQC مورد بررسی قرار گرفت تا از نظر کیفیت خوانش ها بررسی شوند. سپس برای از بین بردن توالی های آداپتور و خوانش های نامناسب از Trimmomatic, version 0.36 استفاده شد. هم ردیف کردن توالی ها با ژنوم hg38 توسط HISAT2, version 2.1.0 انجام گرفت. در ادامه، RefSeq به دست آمده از پایگاه داده UCSC، به عنوان رفرنس annotation برای ژن ها مورد استفاده قرار گرفت. میزان خوانش هر ژن نیز با HTSeq, version 0.9.1 آنالیز شد. با استفاده از پکیج DESeq2 در زبان برنامه نویسی R، بررسی کنترل کیفیت نمونه ها و هم چنین ژن های دارای تفاوت بیان بین نمونه های CM-ESC، با در نظر گرفتن دو پارامتر $\log_2\text{FoldChanges} \neq 1$ و $\text{adjusted P values} < 0.05$ مشخص شدند تا در ادامه آنالیزها، از آنها استفاده شود.

آنالیز عملکردی برای ژن های دارای تفاوت بیان

با استفاده از پایگاه داده KEGG^۳، مسیرهای مهمی که ژن های دارای تفاوت بیان بین نمونه های نرمال و بیمار در آن دخیل بودند مورد بررسی قرار گرفت و ژن های دخیل در این مسیرها جدا شدند. هم چنین با استفاده از پایگاه داده Enrichr نیز مسیرهای بیولوژیکی مهم برای ژن های دارای تفاوت بیان مشخص شد. در ادامه با استفاده از پکیج DESeq2 و در نظر گرفتن فاکتورهای $\log_2\text{FoldChanges} \neq 1$ و $\text{adjusted P values} < 0.05$

فرآیند ایجاد پلاک آترواسکلروزیس بدین صورت است که کلسترول لیپوپروتئین با چگالی کم^۲ (LDL) وارد اندوتلیوم ناکارآمد می شود (که به عنوان مثال در اثر سیگار کشیدن یا دیابت آسیب می بیند و این با کاهش تولید اکسید نیتریک (NO) منعکس می شود) و توسط ماکروفاژ و سلول های عضلانی صاف اکسید می شود. آزاد شدن عوامل رشد و سیتوکین ها و تنظیم بیش از حد مولکول های چسبندگی، مونوسیت های بیش تری را جذب می کند. سلول های فوآم (ناشی از ماکروفاژهای پر از لیپید) جمع شده و سلول های عضلانی صاف تکثیر می شوند که نتیجه آن رشد پلاک است. نفوذ سلول های التهابی، مرگ سلول های عضله صاف از طریق آپوپتوز و تخریب ماتریس از طریق پروتئولیز (ماتریکس توسط متالوپروتئینازهای -MMP)، پلاک آسیب پذیر با یک کلاهک فیبری نازک و یک هسته نکروتیک غنی از لیپید ایجاد می کنند. پارگی پلاک می تواند باعث ایجاد ترومبوز شود که منجر به انسداد رگ می شود (۳). از آنجا که مارکرهای موجود برای پیش بینی خطر فردی ایجاد بیماری CAD کافی نیستند، افزایش درک ما از پاتوفیزیولوژی CAD و مسیرهای توسعه دهنده آن اهمیت بیش تری پیدا می کند.

خانواده گیرنده های ErbB از چهار گلیکوپروتئین غشایی تیروزین کیناز نوع ۱ تشکیل شده اند که از نظر ساختاری همولوگ هستند و توالی های بسیار محافظت شده ای دارند. گیرنده های ErbB برای جنبه های مهم رشد قلب مورد نیاز است (۴،۵). مطالعه ها نشان داده است که تنظیم غیرطبیعی این مسیر می تواند باعث پیشرفت بیماری های بسیاری به خصوص بیماری های قلبی شود. بررسی ها نشان داده که ژن های مسیر سیگنالینگ ErbB به طور قابل توجهی پس از تجزیه پروتئولیتیک ماتریکس خارج سلولی افزایش می یابند و در نتیجه به راحتی در جریان خون قابل اندازه گیری هستند (۶-۸). هم چنین مطالعه های قبلی نشان داد که خانواده ErbB در پاتوژنز بیماری های قلبی عروقی و آترواسکلروز مانند استرس اکسیداتیو و تورم ماکروفاژ نقش دارند (۹،۱۰). در نتیجه با وجود اهمیت مسیر سیگنالینگ ErbB، هدف از این مطالعه بررسی ژن های دارای تغییر بیان در بیماران عروق کرونری با روش بیوانفورماتیکی است تا

³ Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes

² Low-density lipoprotein

میزان تغییرهای ژن‌های مهم دخیل در مسیر ErbB مشخص شد.

نتایج

ژن‌های دارای تفاوت بیان بین نمونه‌های بیماران و نرمال

بررسی‌های کنترل کیفیت نمونه‌های بیماران و نرمال با استفاده از نمودارهای *boxplot*، *PCA*⁴ و نمودار *heatmap* مورد بررسی قرار گرفت. نمودار *boxplot* که در شکل 1A نشان داده شده است، یک روش استاندارد برای نمایش توزیع داده‌ها است که براساس شاخص‌های آماری کوچک-ترین مقدار، چارک اول، میانه، چارک سوم و بزرگ‌ترین مقدار ساخته شده است. همچنین این نمودار می‌تواند در مورد وجود داده‌های دورافتاده یا پرت، اطلاعاتی بدهد و مقدار آن‌ها را تعیین کند. همان‌گونه که از نمودار مشخص است، نمونه‌های بیماران و افراد نرمال، تفاوت زیادی با هم نداشته و قابل بررسی هستند و داده‌های دور افتاده در آن وجود ندارد. نمودار *PCA* که در شکل 1B مشخص شده است به ما کمک می‌کند تا واریانس موجود در مجموعه داده‌ها را بررسی کرده و بیش‌ترین تغییرها در داده‌ها را تعیین می‌کند. نمودار *PCA* به‌خوبی مشخص کننده این است که کدام نمونه‌ها با یکدیگر اختلاف معناداری داشته و چگونگی جدا شدن نمونه‌ها را نشان می‌دهد. در نتیجه امکان بررسی ژن‌های این نمونه‌ها برقرار است. برای نشان دادن اینکه نمونه‌ها و تکرارهای آن‌ها به یکدیگر شباهت دارند نیز نمودار *heatmap* رسم شد که در شکل 1C قابل ملاحظه است. این نمودار با بررسی هم‌بستگی هر ژن در بین نمونه‌ها این مسئله را مشخص می‌کند که هر نمونه و تکرار آن‌ها با یکدیگر دسته‌بندی شده‌اند و هرچه خطوط رسم شده به-یکدیگر نزدیک‌تر باشند، شباهت بیش‌تر نمونه‌ها به یکدیگر را نشان خواهد داد. در واقع این نمودار از جمله تست‌های کاربردی است که یک دید گرافیکی از رفتار ژن‌ها را نمایش می‌دهد.

نتایج ما نشان داد که ۱۰۶۹ ژن در بین نمونه‌های بیماران دارای افزایش بیان و ۸۵۱ ژن نیز کاهش بیان داشتند. نمودار آتشفشانی در شکل ۲ میزان ژن‌های دارای تفاوت بیان را در بین نمونه‌های مورد بررسی نشان داده است.

نتایج آنالیز عملکردی ژن‌های دارای تفاوت بیان

نتایج آنالیز فرآیندهای بیولوژیکی^۵ (BP) ژن‌های دارای تفاوت بیان در بین نمونه‌های ذکر شده بررسی شد و مشخص شد که ژن‌ها در فرآیندهای بیولوژیکی مانند تنظیم مثبت فسفریلاسیون ترئونین، تنظیم فرآیندهای متابولیکی، دگرانولاسیون پلاکت‌ها، تنظیم منفی اتصال‌های سلولی دخالت دارند که در شکل ۳، فرآیندهای بیولوژیکی مهم ایجاد کننده توسط ژن‌های با تفاوت بیان مشخص شده است.

در ادامه، آنالیز مسیرهای سیگنالینگ در پایگاه داده KEGG نشان داد که ژن‌های دارای تفاوت بیان بین نمونه‌های بیماران و افراد نرمال بیش‌تر در مسیرهای تنظیمی مهمی مانند مسیرهای تأثیرگذار بر پلاکت و ایجاد نوتروفیل، مسیر ماتریکس خارج سلولی و *Focal adhesion*، مسیر *PI3K-Akt*، *ErbB*، مسیر *TGF-beta* نقش دارند که مسیرهای مهم به‌همراه ژن‌های دارای تغییرهای بیانی که در بین نمونه‌های بیمار و نرمال تأثیرگذار بودند در جدول ۱ نشان داده شده است.

پس از بررسی مسیرهای مهم تأثیرگذار در این بیماری، مشخص شد که مسیر *ErbB* از جمله مسیرهای تأثیرگذار در توسعه بیماری عروق کرونری است. ژن‌های مهمی که در بین نمونه‌های بیمار و نرمال در این مسیر نقش داشتند عبارت بودند از ژن‌های *NRG4*، *SHC3*، *CAMK2D*، *CRK* و *AREG*، *MAPK1*، *RPS6KB2* و *ERBB3* که در بین بیماران افزایش بیان داشته و ژن‌های *BRAF* و *ERBB3* که در بین نمونه‌های بیمار کاهش بیان داشتند که میزان افزایش و کاهش هر ژن به‌همراه *padj value* در جدول ۲ مشخص شده است.

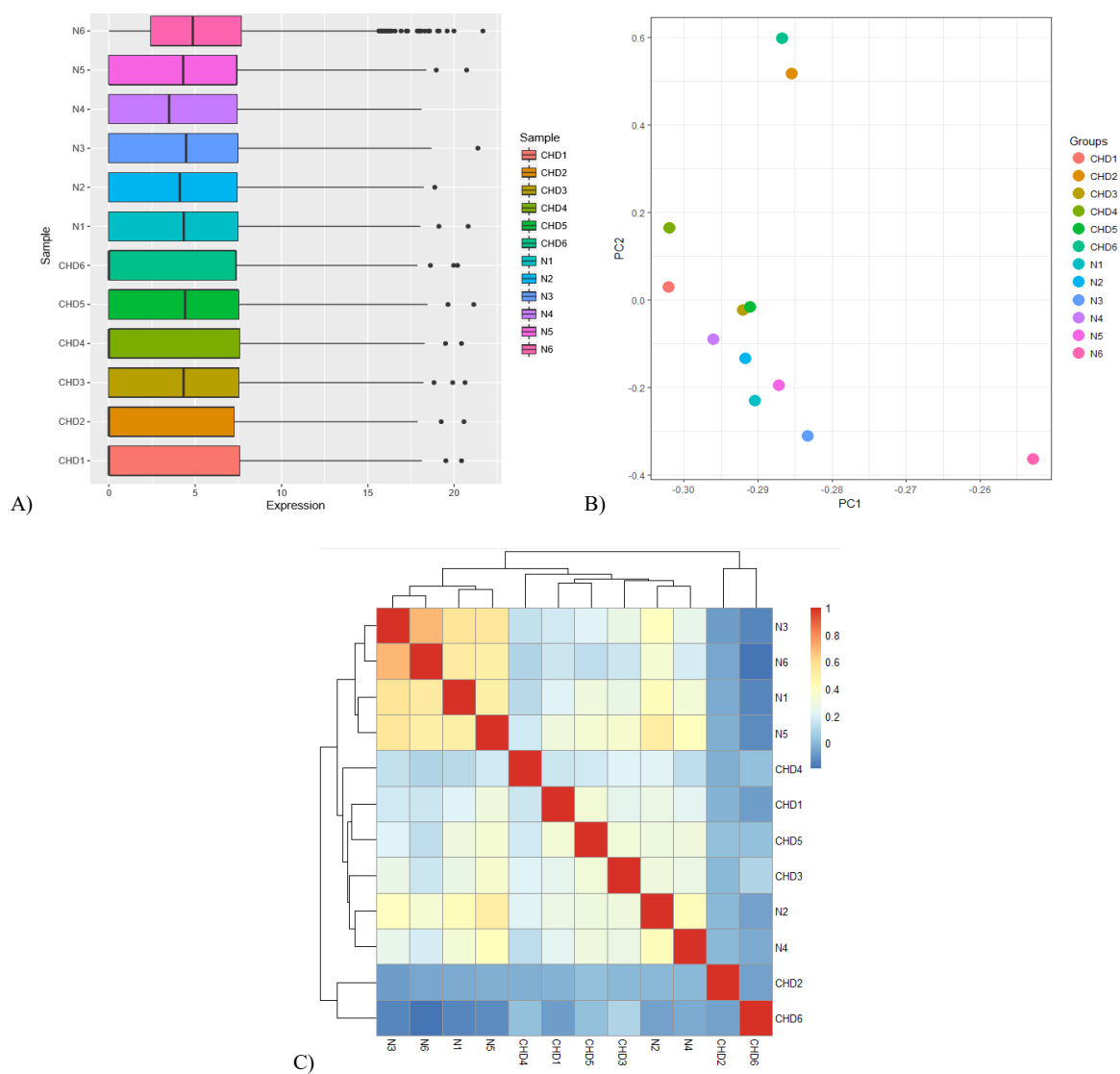
در نتیجه مشخص شد که مسیر سیگنالینگ *ErbB* و ژن‌های دخالت کننده در این مسیر، در توسعه بیماری عروق کرونری نقش مهمی ایفا می‌نمایند.

بحث

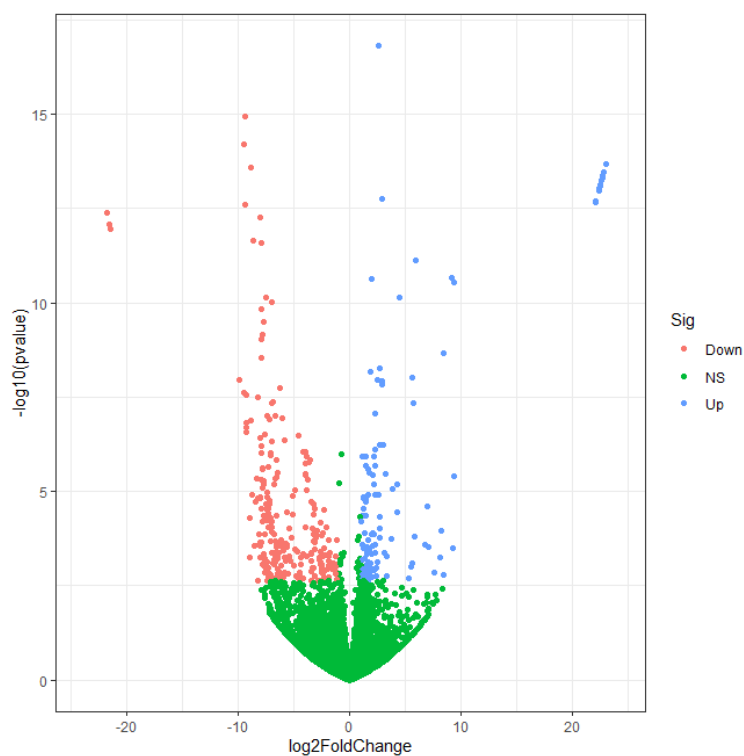
بیماری عروق کرونری یا انسداد عروق کرونر که به‌طور معمول به‌دلیل تصلب شرایین ایجاد می‌شود می‌تواند شریان‌ها را مسدود کرده یا به عروق آسیب برساند که باعث

⁵ Biological process

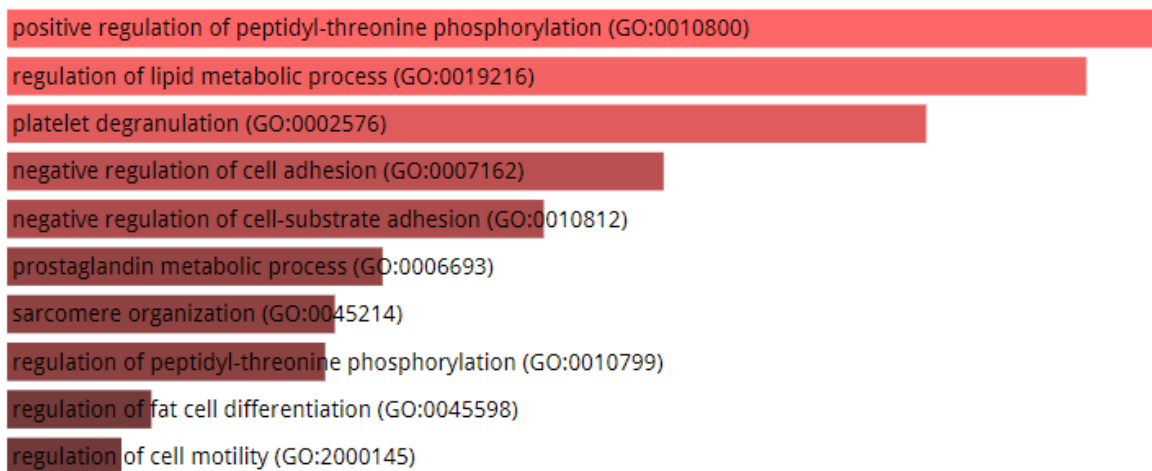
⁴ Principal component analysis



شکل ۱- (A) نمودار boxplot برای نمونه‌های بیماران و نرمال که عدم حضور داده‌های پرت، نشان دهنده کیفیت نمودار است. (B) نمودار PCA برای نمونه-های بیماران و نرمال که ۶ نمونه نرمال و ۶ نمونه بیمار به صورت نقاطی مشخص شده‌اند. (C) نمودار heatmap برای نمونه‌های بیماران و نرمال



شکل ۲- نمودار آتشفشانی ژن‌های دارای تفاوت بیان. نقاط قرمز نشان‌دهنده ژن‌های دارای کاهش بیان و نقاط آبی نشان‌دهنده ژن‌های با افزایش بیان هستند. نقاط سبز گ نیز ژن‌هایی هستند که تفاوت بیان خاصی را از لحاظ پارامتر $\log_2\text{FoldChange}$ نشان نمی‌دهند.



شکل ۳- آنالیز فرآیندهای بیولوژیکی (BP) ژن‌های دارای تفاوت بیان در بین نمونه‌های بیمار و نرمال

جدول ۱- مسیرهای مهم به همراه ژن های دارای تغییرهای بیان در بین نمونه های بیمار و نرمال

Pathway	Combined Score	Genes
Neutrophil extracellular trap formation	33.66	ITGB3, ITGA2B, NCF4, H2AC16, MPO, CASP4, H2BS1, MAPK1, CTSG, ELANE, AZU1, SELP, SLC25A6, TLR1
ECM-receptor interaction	13.55	SDC4, ITGB3, THBS1, GP5, FRAS1, IBSP, COL6A2, CHAD, CD36, FREM1
Platelet activation	4.09	MYLK2, GUCY1A1, ITGB3, ADCY1, GP5, GNAI1, MYL12B, PTGS1, COL3A1, STIM1, FZRL23
PI3K-Akt signaling pathway	3.06	IR51, LPAR4, FOXO3, AREG, THBS1, RPTOR, FGF7, BCL2L11, IBSP, CHAD, MAPK1, PCK2, IL4R, BDNF, LPAR5, MTCPI1, ATF4, TLR2
Focal adhesion	2.70	MYLK2, SHC3, ITGB3, TNC, ILK, BRAF, THBS4, COL6A2, CRK
ErbB signaling pathway	1.05	CAMK2D, SHC3, ERBB3, NRG4, RPS6KB2, MAPK1, BRAF, AREG, CRK
TGF-beta signaling pathway	0.66	LEFTY1, TGFB1, MAPK1, INHBB, TNF, THBS1, HAMP, BMP6,
Circadian rhythm	0.59	PRKAG2, RORA, RORB
mTOR signaling pathway	0.33	WNT10B, CAB39, IRS1, WNT7A, BRAF, TNF, RPTOR, DEPTOR, EIF4E2
MAPK signaling pathway	0.20	DUSP4, TGFB1, BDNF, EFNA5, STK4, TNF, ELK4, FGF16, PDGFC

جدول ۲- میزان افزایش و کاهش ژن های تأثیرگذار در مسیر ErbB

Gene	Log2foldchange	padj value	Significant
CAMK2D	4.11	1.360619e-13	Upregulation
SHC3	21.45	1.360619e-13	Upregulation
ERBB3	-4.25	1.360619e-13	Downregulation
NRG4	22.58	4.509532e-11	Upregulation
RPS6KB2	1.38	0.02016722	Upregulation
MAPK1	3.08	1.360619e-13	Upregulation
BRAF	-4.90	1.360619e-13	Downregulation
AREG	3.35	1.360619e-13	Upregulation
CRK	2.70	1.360619e-13	Upregulation

در بیماران، دارای افزایش بیان بوده که در مسیر سیگنالینگ ErbB نقش داشتند.

مطالعه ها نشان داده است که ژن *CAMK2D* از جمله ژن-هایی است که فعالیت و بیان آن در بافت قلبی آسیب دیده و بسیاری از مدل های حیوانی هایپر تروفی قلبی و نارسایی های قلبی افزایش پیدا می کند که افزایش بیان در این ژن منجر به افزایش استرس پاتولوژیک و ایجاد سلول های قلبی بی نظم و افزایش کلسیم سیتوپلاسمی و افزایش استرس اکسیداتیو می شود (۱۷-۱۵). مطالعه های زیادی بر روی ژن *SHC3* و

کاهش یا توقف جریان خون در عضله قلب می شود در نتیجه بررسی و دست یابی به مارکرهای تشخیصی دقیق و اختصاصی بسیار حائز اهمیت است (۱۲). مطالعه ها بر روی مدل های حیوانی مختلف نشان داده اند که مسیر سیگنالینگ ErbB در پاتوژنز و ایجاد تصلب شرایین و بیماری های قلبی و عروقی نقش داشته است (۱۴، ۱۳). در مطالعه حاضر، با بررسی ژن های دارای تفاوت بیان در مسیر بیماری عروق کرونری مشخص شد که ژن های *CAMK2D*، *SHC3*، *NRG4*، *RPS6KB2*، *MAPK1*، *AREG* و *CRK*

توانند در توسعه بیماری CAD نقش مهمی داشته باشند. بنابراین پیشنهاد می شود که بیان هر یک از ژن های پیشنهادی در این مطالعه، در بین نمونه های بیماران عروق کرونری مورد سنجش قرار گیرد.

ارتباط آن با بیماری های قلبی انجام نشده بود اما در یک بررسی مشخص شد نقص در ژن های خانواده SHC می تواند با تأثیر بر مسیر سیگنالینگ انسولین، می تواند منجر به بیماری های قلبی مادرزادی شود (۱۸). ژن نوروگلین ۴ (*NRG4*) به عنوان یک آدیپوکاین ترشحی جدید شناخته شده است که ممکن است از ایجاد چاقی و اختلال های متابولیکی محافظت کند. در بررسی توسط جیانگ و همکارانش مشخص شد که غلظت *NRG4* در خون، می تواند در شناسایی بیماران در معرض خطر *CVD* نقش داشته باشد (۱۹). در ادامه، بررسی ها نشان داد که جهش های ژنتیکی در ژن *MAPK1* می تواند از جمله فاکتورهای خطر در ایجاد بیماری CAD باشد (۲۰). بررسی ها بر روی ژن *AREG* نشان داد که این ژن به طور قابل توجهی رشد سلول های عضله ای صاف عروقی (VSMCs) را افزایش می دهد که رشد این سلول ها در توسعه بیماری CAD بسیار مهم است و هم چنین این ژن توسط مونوسیت ها و ماکروفاژها بیان می شود و در نتیجه افزایش بیان این ژن باعث افزایش فاکتورهای التهابی و انسداد بیش تر عروق می شود (۲۱،۲۲). در ارتباط با ژن *RPS6KB2* و *CRK* و تأثیر آن ها بر ایجاد بیماری های قلبی و عروقی تحقیقاتی صورت نگرفته بود.

هم چنین در این مطالعه مشخص شد که ژن های *ERBB3* و *BRAF* در بیماران دارای کاهش بیان بودند و مسیر سیگنالینگ ErbB را تحت تأثیر قرار می دادند. در ارتباط با تغییرهای بیانی ژن *BRAF* و تأثیر آن بر بیماری های قلبی و عروقی مطالعه ای انجام نشده بود. با بررسی بر روی تحقیقات اخیر در ارتباط با ژن *ERBB3* مشخص شد تکثیر این ژن به متابولیسم کلسترول لیپوپروتئین با چگالی کم (LDL-C) مربوط است که LDL-C نقش بسزایی در پیشرفت بیماری های قلبی عروقی دارد (۲۳،۲۴). یک بررسی بر روی این ژن مشخص کرد که ژنوتیپ CT و آلل rs877636 C در *ErbB3* می تواند یک نشانگر خطر CAD برای جمعیت هان در چین باشد (۲۵).

نتیجه گیری

در نتیجه به طور کلی با بررسی های انجام شده مشخص شده است که ژن های تأثیرگذار در مسیر سیگنالینگ ErbB می-

1. Mackay J, Mensah G. The Atlas of Heart Disease and Stroke. WHO 2004.
2. Faxon DP, Creager MA, Smith SC, Pasternak RC, Olin JW, Bettmann MA. Atherosclerotic Vascular Disease Conference: Executive summary: Atherosclerotic Vascular Disease Conference proceeding for healthcare professionals from a special writing group of the American Heart Association. *Circulation* 2004 109(21): 2595–604.
3. Choudhury R.P, Fuster V, Fayad Z.A. Molecular, cellular and functional imaging of atherothrombosis. *Nature Rev. Drug Discov* 2004, 913–925.
4. Schroeder JA, Jackson LF, Lee DC, Camenisch TD. Form and function of developing heart valves: Coordination by extracellular matrix and growth factor signaling. *J Mol Med* 2003;81(7):392–403.
5. Rohrbach S, Niemann B, Silber RE, Holtz J. Neuregulin receptors erbB2 and erbB4 in failing human myocardium -- depressed expression and attenuated activation. *Basic Res Cardiol* 2005 100(3):240–9.
6. Meric-Bernstam F, Johnson AM, Dumbrava EEI, Raghav K, Balaji K, Bhatt M, Murthy RK, Rodon J, Piha-Paul SA. Advances in HER2-targeted therapy: novel agents and opportunities beyond breast and gastric cancer. *Clin Cancer Res* 2019 25:2033–41.
7. Tse C, Gauchez AS, Jacot W, Lamy PJ. HER2 shedding and serum HER2 extracellular domain: biology and clinical utility in breast cancer. *Cancer Treat Rev* 2012 38:133–42.
8. Pernas S, Tolaney SM. HER2-positive breast cancer: new therapeutic frontiers and overcoming resistance. *Ther Adv Med Oncol* 2019 11.
9. Beltowski J, Jazmroz-Wisniewska A. Transactivation of ErbB receptors by leptin in the cardiovascular system: mechanisms, consequences and target for therapy. *Curr Pharm Des* 2014 20:616–24
10. Wang L, Huang Z, Huang W, Chen X, Shan P, Zhong P, Khan Z, Wang J, Fang Q, Liang G, Wang Y. Inhibition of epidermal growth factor receptor attenuates atherosclerosis via decreasing inflammation and oxidative stress. *Sci Rep* 2017 8:45917.
11. Shengli L, Yuchen L, Bing Ch. exoRBase: a database of circRNA, lncRNA and mRNA in human blood exosomes. *Nucleic Acids Res* 2018 46: 106-112.
12. Huang T, Yang B, Zheng J, Li G, Wahlqvist ML, Li D. Cardiovascular disease mortality and cancer incidence in vegetarians: a meta-analysis and systematic review. *Ann Nutr Metab* 2012 60(4): 233–40.
13. Beltowski J, Jazmroz-Wisniewska A. Transactivation of ErbB receptors by leptin in the cardiovascular system: mechanisms, consequences and target for therapy. *Curr Pharm Des* 2014 20:616–24.
14. Schreier B, Gekle M, Grossmann C. Role of epidermal growth factor receptor in vascular structure and function. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2014 23:113–21.
15. Zhang T. The deltaC isoform of CaMKII is activated in cardiac hypertrophy and induces dilated cardiomyopathy and heart failure. *Circ Res* 2003 92:912–919.
16. Gwathmey J.K. Abnormal intracellular calcium handling in myocardium from patients with end-stage heart failure. *Circ Res* 1987 61:70–76.
17. Maack C. Oxygen free radical release in human failing myocardium is associated with increased activity of Rac1-GTPase and represents a target for statin treatment. *Circulation* 2003 108:1567–1574.

Zhiling L, Longjiang X, Jiang L. Down-regulation of the insulin signaling pathway by SHC may relate with congenital heart disease in Chinese populations, *Clin Sci (Lond)* 2020 134(3): 349–358.

Jie J, Mingzhu L, Yanfang X. Circulating neuregulin 4 levels are inversely associated with subclinical cardiovascular disease in obese adults. *Sci Rep* 2016 (6).

Nan G, Nan Z, Liqiu Y, Xufen C, Jiawang W, Yunfei W. Correlation between genetic polymorphisms within the MAPK1/HIF-1/HO-1 signaling pathway and risk or prognosis of perimenopausal coronary artery disease. *Clin Cardiol* 2017 40:597–604.

Kato M, Inazu T, Kawai Y, Masamura K, Yoshida M, Tanaka N, Miyamoto K, Miyamori I. Ephiregulin is a potent mitogen for the vascular smooth muscle cell line, A7r5. *Biochem Biophys Res Commun* 2003 301:1109–1115.

Dreux A.C, Lamb D.J, Modjtahedi H, Ferns G.A. The epidermal growth factor receptors and their family of ligands: Their putative role in atherogenesis. *Atherosclerosis* 2006 186:38–53.

Prigent SA, Lemoine NR, Hughes CM, Plowman GD, Selden C, Gullick WJ. Expression of the bB-3 protein in normal human adult and fetal tissues. *Oncogene* 1992 7: 1273-8.

Willer CJ, Sanna S, Jackson AU, Scuteri A, Bonnycastle LL, Clarke R, Heath SC, Timpson NJ, Jarman SS, Stringham HM, Strait J, Duren WL, Maschio A, Busonero F, Mulas A, Albai G, Swift AJ, Orken MA, Narisu N, Bennett D, Parish S, Shen H, Galan P, Meneton P, Hercberg S, Zelenika D, Chen VM, Li Y, Scott LJ, Scheet PA, Sundvall J, Watanabe RM, Nagaraja R, Ebrahim S, Lawlor DA, Benlomo Y, DaveySmith G, Shuldiner AR, Collins R, Bergman RN, Uda M, Tuomilehto J, Cao A, Collins R, Lakatta E, Lathrop GM, Boehnke M, Schlessinger D, Mohlke KL, Abecasis GR. Newly identified loci that influence lipid concentrations and risk of coronary artery disease. *Nat Genet* 2008 40: 161-169.

Buamina M, Xiang X, Yi-Tong M, Zhen-Yan F, Yi-Ning Y, Xiao-Mei L, Fen L, Bang-Dang Ch, Fan-Tao G. Association between ErbB3 genetic polymorphisms and coronary artery disease in the Han and Uyghur populations of China, *Int J Clin Exp Med* 2015 8(9):16520-16527.