مجله دانشکده علوم پزشکی نیشابور

www.journalnums.ac.ir

Downloaded from journal.nums.ac.ir at 15:30 IRST on Saturday February 16th 2019

اختلالات تغییرات بیان ژن Lnc13 در بیماران مبتلا به سلیاک در مقایسه با افراد سالم و همبستگی با ویژگی‌های کلینیکوپاتولوژیک

نغمه زمانی[1]، فرزانه تفویضی*[1]، محمد رستمی نژاد[2]

۱- گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد پرند، پرند، ایران

۲- مرکز تحقیقات اپیدمیولوژی پایه و مولکولی اختلالات گوارشی، موسسه تحقیقات گوارش و بیماری‌های کبدی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

مقاله پژوهشی اصیل

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۴/۱۳

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۱۰/۱۰

***نویسنده مسئول:** فرزانه تفویضی، گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد پرند، پرند، ایران

تلفن:

پست الکترونیک:

farzanehtafvizi54@gmail.com

چکیده

مقدمه

بیماری سلیاک نوعی بیماری خود ایمنی بوده که در آن فرد، با مصرف گلوتن موجود در گندم، جو و چاودار دچار نوعی پاسخ ایمنی گشته، که در نهایت منجر به از بین رفتن پرزهای روده باریک می‌شود. با توجه به نقش محرز ژن‌های غیر کدکننده در بیماری سلیاک و تاثیر آنها در پیشرفت بیماری، این مطالعه جهت بررسی بیان ژن Lnc13 در بیماران مبتلا به سلیاک در مقایسه با گروه کنترل طراحی شد.

مواد و روش‌ها

مطالعه حاضر، از نوع مورد-شاهدی بوده که در آن ۵۰ فرد مبتلا به بیماری سلیاک، طی سال‌های ۱۳۹۵-۱۳۹۶ به بخش گوارش و کبد بیمارستان طالقانی مراجعه نموده‌اند، علاوه بر آن ۲۰ فرد سالم به عنوان گروه کنترل مورد بررسی قرار گرفتند. استخراج RNA از خون محیطی به وسیله کیت RNeasy Mini انجام شد. سنتز cDNA با استفاده از کیت ترمو فیشر انجام شده و پس از آن برای بررسی کمی بیان ژن Lnc13 با استفاده از تکنیک Real time PCR انجام گردید. تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم‌افزار دستگاه Rotor Gene، آنالیز داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS v.21 و رسم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار 5 prism GraphPad صورت گرفت.

یافته‌ها

میزان بیان ژن Lnc13 در خون بیماران سلیاک نسبت به گروه سالم بررسی شد که نشان دهنده افزایش معنی‌دار در ژن Lnc13 بود ($P<۰/۰۵$) (95% CI 0.5521 to 1.250).

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج به دست آمده می‌توان اظهار داشت که بیان ژن Lnc13 در خون بیماران مبتلا به سلیاک تغییر قابل توجهی در مقایسه با گروه شاهد دارد. لذا تغییرات بیان ژن Lnc13 در افراد مبتلا به بیماری سلیاک، می‌تواند به عنوان بیومارکری جهت پیش آگهی، تشخیص و درمان به‌کار رود.

کلیدواژه‌ها

بیماری سلیاک، بیان ژن، ژن‌های غیر کد کننده، ژنLnc13

Downloaded from journal.nums.ac.ir at 15:30 IRST on Saturday February 16th 2019

مقدمه

بیماری سلیاک نوعی بیماری خودایمنی با سابقه ژنتیکی است (۱ از هر ۱۰۰ نفر) که فرد با خوردن گلوتن، پروتئین موجود در گندم، جو و چاودار دچار پاسخ ایمنی می‌شود، که منجر به آسیب و از بین رفتن پرزهایی روده باریک می‌شوند (۱و۲). بیماران سلیاک با کاهش میزان جذب مواد مغذی شامل انواع ویتامین‌ها و مواد معدنی دچار نوعی کمبود تغذیه‌ای می‌شوند (۳). در حال حاضر تنها درمان برای بیماری سلیاک، رژیم غذایی فاقد گلوتن می‌باشد. اکثر بیماران ظرف مدت چند هفته پس از شروع درمان اظهار می‌کنندکه علایم بهبود یافته است هر چند که بهبود روده ممکن است سال‌ها طول بکشد (۴).

افراد با سابقه خانوادگی نزدیک (والدین، فرزند، خواهر و برادر) ریسک بروز بالاتری (نسبت۱ به ۱۰) نسبت به سایر افراد جامعه به بیماری دارند (۵). با توجه به عوارض احتمالی این بیماری از جمله لنفوم نان هوچکین، آدنوکارسینومای روده باریک، کارسینوم مری، سرطان پاپیلری تیروئید، ملانوما، آنمی فقر آهن، پوکی استخوان، ناباروری، عدم تحمل به لاکتوز، کمبود ویتامین و مواد معدنی، بیماری‌های سیستم عصبی محیطی و مرکزی مانند دمانس، ناکارآمدی پانکراس، و اختلال در کیسه صفرا و اهمیت نقش ژنتیک در بروز این بیماری، روش‌هایی جهت پیشگیری و حتی درمان آن ضروری به نظر می‌رسد (۶). در نتیجه این بیماری سبب بروز عوارضی همچون عدم جذب مواد غذایی، ویتامین‌ها، مواد معدنی و... گردیده که به دنبال آن ابتلا به انواع بیماری‌ها و گروه‌های سرطانی، خصوصا سرطان‌های لنفوم را به دنبال خواهد داشت. تشخیص بیماری سلیاک بر اساس نتیجه سرولوژی (آنتی بادی ضد ترنس گلوتامیناز بافتی) و نمونه‌برداری از روده کوچک صورت می‌گیرد.

مطالعات انجام شده در سال‌های اخیر نشان داد که RNAهای طولانی غیر کد کننده[۱]بخش‌هایی از ژنوم اند که تولید پروتئین یا محصول نمی‌کنند (۷). در سال‌های گذشته، نظر بر آن بوده است که این مناطق از ژنوم، توالی-های غیر کاربردی بوده‌اند که تاثیری بر بروز یا عدم بروز بیماری‌ها نداشته‌اند، اما در سال‌های اخیر، با توجه به بررسی‌های فراوان نشان داده شده است که این مناطق می-توانند نقش کلیدی در کاهش و یا افزایش فاکتورهایی که باعث بروز بیماری می‌شود، داشته باشند. به طور کلی، در بررسی‌های به عمل آمده در مورد عملکرد تنظیم ژنی با بررسی مناطق غیر کد کننده که حجم بسیاری از ژنوم را در بر می‌گیرد، این نتیجه به دست آمد که مناطق غیر کد کننده ژنوم نیز تأثیر بسیاری در بروز بیماری‌های ژنتیکی دارند (۸).

مطالعات اخیر نشان داده‌اند که تغییرات بیان ژن‌های مناطق غیر کد کننده بر بروز بیماری‌های دستگاه گوارش از جمله بیماری سلیاک و همچنین پیش برد تأثیر مستقیم دارند. پژوهش‌ها مطرح کننده اثر یکی از RNA های غیر کدکننده طولانی به نام Lnc-13 در بروز این بیماری است (۹). از قسمت‌های غیر کد کننده ژنوم که در بروز بیماری‌های ژنتیکی از جمله سلیاک نقش به سزایی دارد، می‌توان به Lnc13 اشاره کرد. این ژن با راه‌اندازی نوعی بلوک هاپلوتایپ در بروز بیماری تاثیرگذار است (۱۰). عملکرد ژن به صورتی است که با تغییرات میزان بیان افزایش سطوح Lnc13 منجر به سرکوب بیان گروهی از ژن‌ها شده و با ادامه این روند و کم شدن میزان Lnc13، بیان ژن‌های سرکوب شده افزایش می‌یابد (۱۱).

با توجه به اینکه مطالعه‌ای در ایران میزان بیان این ژن را در جمعیت بیماران مبتلا به بیماری سلیاک بررسی نکرده است

[۱] Long non coding RNA

Downloaded from journal.nums.ac.ir at 15:30 IRST on Saturday February 16th 2019

.هدف از مطالعه حاضر، بررسی بیان ژن Lnc13 در بیماران سلیاک در مقایسه با افراد سالم در جمعیت ایرانی بود. همچنین، ارتباط تغییرات بیان ژن Lnc13 و جنسیت، وضعیت تاهل، قومیت و سابقه خانوادگی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری نمونه‌ها

در مطالعه حاضر، تعداد ۵۰ نمونه بیمار مبتلا به سلیاک (۳۲ زن و ۱۴ مرد) و ۲۰ نمونه فرد سالم (۱۵ زن و ۵ مرد) به عنوان گروه کنترل، از میان افراد مراجعه کننده به پژوهشکده بیماری‌های گوارش و کبد دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی بین سال‌های ۱۳۹۵-۱۳۹۶ مورد بررسی قرار گرفتند. تعداد نمونه‌ها با استفاده از فرمول نمونه‌گیری مورد-شاهدی به دست آمده است.

فرمول محاسبه حجم نمونه

$$n = \frac{\left\{ z_{1-\alpha/2}\sqrt{2p_2^*(1-p_2^*)} + z_{1-\beta}\sqrt{p_1^*(1-p_1^*)+p_2^*(1-p_2^*)} \right\}^2}{(p_1^* - p_2^*)^2}$$

$$\alpha = 0.05 \quad power = 0.8(80\%)$$

$$p_1^* = 0.45 \quad p_2^* = 0.2$$

معیارهای پذیرش در گروه بیماران به شرح ذیل بوده است. مردان و زنان ایرانی الاصل و افرادی که نتیجه آندوسکوپی برای بیماری سلیاک در آنان مثبت گزارش شده است. در این گروه افرادی که نتیجه آسیب‌شناسی آنها برای بیماری سلیاک مثبت گزارش شده است و همچنین معیارهای پذیرش در گروه افراد سالم شاهد شامل مردان و زنان ایرانی الاصلی که نتیجه گزارش منفی برای بیماری سلیاک طی آندوسکوپی برای آنان از سوی پزشک متخصص به تایید رسیده است نیز شرکت داده شده‌اند.

در پرسشنامه تهیه شده، مشخصات بیمار مانند سن، شاخص توده بدنی، جنسیت، سابقه خانوادگی دریافت و ثبت گردید. در این مطالعه افراد با معیارهای متعارف تشخیصی مانند علائم بالینی، نتایج سرولوژی مثبت آندوسکوپی و یافته‌های هیستوپاتولوژیک که به مدت یک سال تحت رژیم فاقد گلوتن بودند به عنوان گروه بیمار و ۲۰ فرد سالم به عنوان گروه کنترل وارد مطالعه شدند. از کلیه افراد وارد شده به مطالعه رضایتنامه آگاهانه کتبی با مجوز کمیته اخلاق پژوهشکده بیماری‌های گوارش و کبد دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی دریافت گردید (کد اخلاق IR.SBMU.RIGLD.1395.156).

استخراج RNA و سنتز cDNA

۶ میلی‌لیتر خون تازه در لوله‌های حاوی EDTA جمع‌آوری و سپس PBMC آنها با استفاده از فایکول جداسازی گردید و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد ذخیره شد. RNA نمونه‌های موجود با استفاده از کیت استخراج RNeasy Mini(کیاژن-آلمان) Cat.No.80224 طبق دستور العمل شرکت مربوطه استخراج گردید و در دمای ۷۰- سانتی‌گراد ذخیره و نگهداری گردید. برای ارزیابی کیفیت و غلظت RNA استخراج شده، دانسیته نوری نمونه‌ها با استفاده از دستگاه نانودراپ (ترمو-ایالات متحده) بررسی شد. با توجه به دانسیته به دست آمده، مقادیر متغیر از RNA هر نمونه جدا گردید و به کمک کیت رونویسی معکوس (ترمو فیشر-ایالات متحده- (Cat.No.K1631) طبق دستور العمل شرکت مربوطه، cDNA سنتز شد.

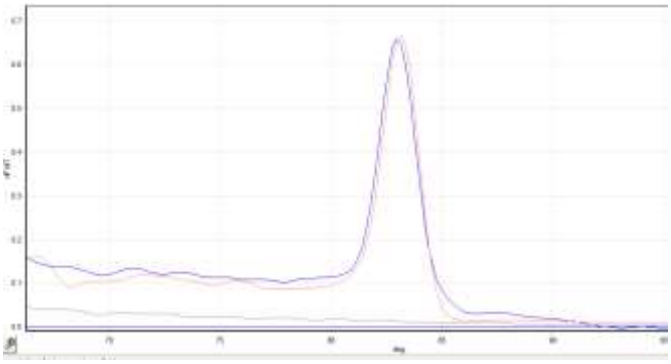
Real Time- PCR

Downloaded from journal.nums.ac.ir at 15:30 IRST on Saturday February 16th 2019

پرایمرهای مورد استفاده با نرم‌افزار Gene Runner و برنامه‌های آنلاین Primer3(http://primer3.ut.ee) طراحی شدند (جدول ۱). بررسی کمی بیان ژن با تکنیک Real time PCR و طبق دستورالعمل کیت تجاری سایبر گرین (تاکارا-ژاپن) در دستگاه Real time (QIAGEN Rotor gene 6000) انجام شد. ژن بتاگلوبولین به عنوان کنترل داخلی استفاده شد. واکنش کمی Real Time PCR با استفاده از cDNA به صورت تکرار دوتایی در پلیت‌های ۷۲ چاهکی در حجم نهایی ۲۰ میکرو لیتر بهینه سازی شد. مواد مورد استفاده در واکنش شامل ۱۰ میکرولیتر از SYBR TM (2X) Master Mix (Takara Company)، ۱۰ میکرو مول از پرایمرهای پیشرو و معکوس (Forwaed primer ، Reverse primer) (شرکت تکاپو زیست)، ۷ میکرولیتر از آب دیونیزه و ۲ میکرولیتر cDNA الگو بود. برنامه دمائی در دستگاه به شرح ذیل بهینه‌سازی شد: مرحله ۹۵ درجه سانتی‌گراد برای ۳۰ ثانیه برای فعال سازی آغازی پرایمر، در ادامه ۴۰ سیکل که شامل ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ ثانیه ،۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۴ ثانیه و ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۰ ثانیه انجام گرفت. سپس منحنی ذوب تک قله‌ای، که تایید کننده صحت تکثیر ژن مورد نظر بدون آلودگی بود مورد بررسی قرار گرفت (شکل ۱). علاوه بر این، محصول Real Time- PCR بر روی ژل آگارز با غلظت ۱/۵ درصد مشاهده گردید که در هر کدام از واکنش‌های انجام شده با پرایمر اختصاصی، تنها یک باند اختصاصی دیده شد که این امر نشان دهنده عدم حضور ژن‌های غیر اختصاصی در آزمایش می‌باشد که در شکل ۲ یک نمونه نشان داده شده است.

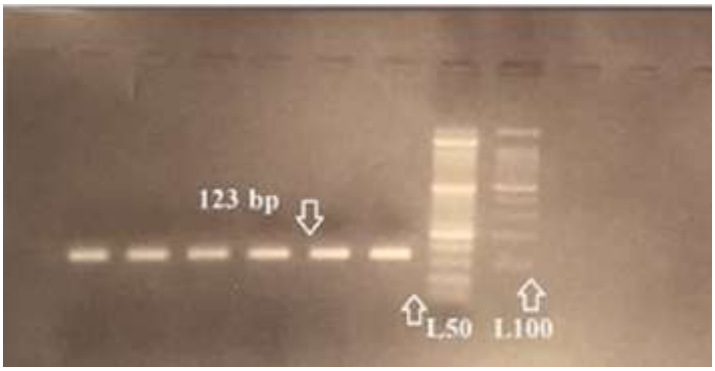
جدول ۱- توالی پرایمرهای مورد استفاده در مطالعه

توالی پرایمر	طول پرایمر	دمای اتصال	GC درصد	جهت پرایمر
5'- CTTTGGCACCAAGCAACATC-3'	۲۰	۵۸/۲۱	۵۰	Lnc13 Forward
5'- TTCACTGAGACCCTGCAATG-3'	۲۰	۵۷/۸۱	۵۰	Lnc13 Reverse
5'- TGCTGTCTCCATGTTTGATGTATCT-3'	۲۵	۶۰/۳۴	۴۰	B2M Forward
5'- TCTCTGCTCCCCACCTCTAAGT-3'	۲۵	۶۱/۹۸	۵۴/۵۵	B2M Reverse



شکل۱- منحنی ذوب مربوط به ژن Lnc13

Downloaded from journal.nums.ac.ir at 15:30 IRST on Saturday February 16th 2019



شکل۲- نتایج الکتروفورز نمونه بر روی ژل آگارز ۱/۵ درصد برای بررسی کیفیت و صحت پرایمر ژن هدف

آنالیز آماری

متغیرهای کمی با آزمون کای اسکور و آزمون ANOVA یک‌طرفه انجام شد. مقدار $P<۰/۰۵$ از نظر آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد. تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم-افزار SPSS v.19 (SPSS Inc.، Chicago، Ill، (USA) انجام شد. پس از اطمینان از توزیع نرمال داده‌ها، جهت رسم نمودار سطوح بیان RNA از نرم‌افزار GraphPad prism 5 (https://www.graphpad.com/scientific-software/prism/) استفاده شد.

یافته‌ها

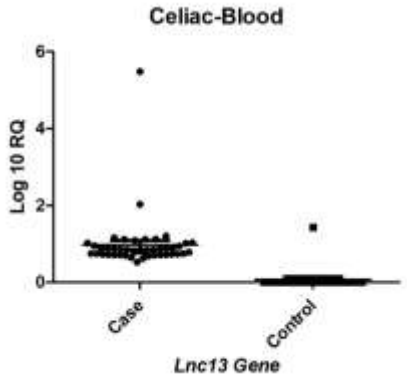
در پژوهش حاضر اطلاعات عمومی و دموگرافی مورد بررسی بیماران شامل تعداد ۵۰ نمونه بیمار مبتلا به سلیاک با میانگین سن± انحراف معیار:۸۵۷/۶۳±۳۴/۱۴ و شاخص توده بدنی میانگین± انحراف معیار:۶/۰۹۵۹±۲۳/۶۲۸۷ و ۲۰ نمونه فرد سالم با میانگین سن± انحراف معیار: ۲۵/۴۵۹±۵۲/۱۷ و شاخص توده بدنی میانگین± انحراف معیار: ۳۳۸۸/۲۶۳۰۹±۲۶/۴ می‌باشد. اطلاعات بیشتر عمومی و دموگرافی مورد بررسی در این مطالعه شامل جنسیت، قومیت، سابقه خانوادگی ابتلا به سلیاک در جدول ۲ قابل مشاهده می‌باشد.

تغییرات بیان ژن Lnc13 میان گروه بیمار و کنترل، نتایج نشان دهنده افزایش بیان ژن Lnc13 در گروه بیماران مبتلا به سلیاک در مقایسه با گروه کنترل بود ($P<۰/۰۵$) (95% CI 0.5521 to 1.250)(شکل ۳). جنسیت بیماران سلیاک با توجه به اطلاعات به دست آمده بیماران شامل ۱۴ مرد و ۳۶ زن بود. در مطالعه حاضر آنالیز بیان نسبی تغییرات Lnc13 میان گروه زن و مرد انجام گردید و رابطه معنی‌داری در این دو گروه مشاهده نگردید ($P=۰/۹۹۵۲$) (شکل ۴). در ادامه آنالیز بیان نسبی تغییرات Lnc13 میان گروه قومیت‌های فارس، ترک، لر، کرد مبتلا به سلیاک نیز نشان دهنده تغییرات بی‌معنی بین گروه‌های حاضر بود ($P=۰/۷۴۷۸$) (شکل ۵).

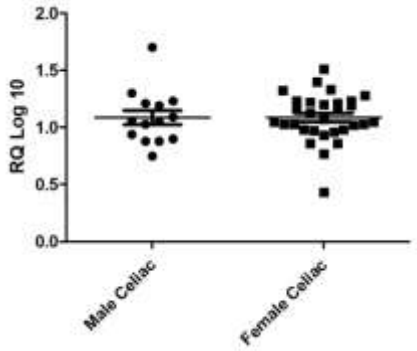
Downloaded from journal.nums.ac.ir at 15:30 IRST on Saturday February 16th 2019

جدول ۲- اطلاعات دموگرافی بیماران سلیاک و افراد کنترل مورد مطالعه

متغیر		بیماران		کنترل سالم	
		کل جمعیت (۵۰نفر)	درصد فراوانی	کل جمعیت (۲۰نفر)	درصد فراوانی
جنسیت	مرد	۱۴	۲۸	۵	۴۵
	زن	۳۶	۷۲	۱۵	۵۵
قومیت	فارس	۳۵	۷۰	۱۲	۶۰
	ترک	۶	۱۲	۶	۳۰
	لر	۲	۴	۱	۵
	کرد	۷	۱۴	۱	۵
سابقه خانوادگی	دارد	۳	۶	۰	۰
	ندارد	۴۷	۹۴	۲۰	۱۰۰

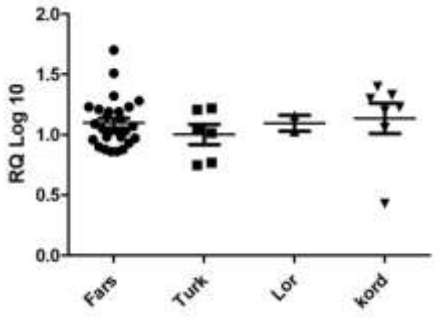


شکل ۳- مقایسه بیان ژن Lnc13 در دو گروه بیماران مبتلا به سلیاک و سالم



شکل ۴- مقایسه بیان ژن Lnc13 در دو گروه مرد و زن مبتلا به سلیاک

Downloaded from journal.nums.ac.ir at 15:30 IRST on Saturday February 16th 2019



شکل ۵- مقایسه بیان ژن Lnc13 در قومیت‌های فارس، ترک، لر، کرد مبتلا به سلیاک

بحث

بیماری سلیاک بیماری نسبتاً شایعی است که نقش ژنتیک در بروز آن به احراز رسیده است. در حال حاضر شیوع این بیماری در کشورهای در حال توسعه رو به فزونی است و به همین جهت امکان بررسی‌های بیشتر این بیماری درخواست می‌گردد (۱).

طبق بررسی‌های انجام شده، نشان داده شده است که LncRNAs نقش کلیدی نظارتی در بسیاری از بیماری‌ها ازجمله بیماری سلیاک دارند (۱۱). تا چندین سال گذشته، تنها به ارزشیابی قسمت‌های کد کننده پروتئین پرداخته می‌شد. در سال‌های اخیر، با بررسی مناطق غیر کد کننده که حجم بسیاری از ژنوم را در برمی‌گیرد این یافته حاصل شد که مناطق غیر کد کننده ژنوم، تأثیر بسیاری در بروز بیماری‌های ژنتیکی دارند (۷). اصل بیولوژی مولکولی، پروتئین‌ها را به‌عنوان اصلی‌ترین عناصر در عملکردهای سلولی در نظر گرفته و RNA ها را به‌عنوان واسطه‌ای میان توالی DNA و پروتئین‌های کد شده لحاظ می‌کردند (۲).

اطلاعات اخیر در مورد ncRNAs (non-coding RNAs) ها مطرح کردن عملکردهایی زیر بنایی برای این عناصر مانند ribosomal RNAs, transporter RNAs and small RNAs می‌باشد. اما مطالعاتی که در دهه گذشته بر روی رونویسی ژنوم انجام پذیرفته است، آشکار ساخت که ژنوم یوکاریوتی به‌طور گسترده‌ای به تعداد زیادی از انواع lncRNAs (long non-coding RNAs) با طول بیش از ۲۰۰nt و small ncRNAs با طول کمتر از ۲۰۰nt رونویسی می‌شوند که جزو کلاس بزرگی از ncRNA ها به شمار می‌آیند (۳). LncRNA ها می‌توانند به شکل پلی‌آدنیله یا غیر آدنیله بوده و در هسته یا سیتوپلاسم سلولی تجمع داشته باشند (۴). این عناصر توسط آنزیم RNA پلی مراز II (RNAPII)، رونویسی شده و دارای بخش کلاهک ´۵ هستند. lncRNA ها به گروه‌های مختلفی تقسیم‌بندی می‌شوند که شامل:(long intergenic non-coding RNAs) lincRNAs که از توالی‌های کناری ژن‌های کد کننده پروتئین رونویسی می‌شوند، eRNAs (enhancer RNAs)، lncRNA هایی که از منطقه اینهنسرها رونویسی می‌شوند، intronic lncRNAs که از مناطق اینترونی ژن‌های کد کننده پروتئینی رونویسی می‌شوند و antisense lncRNAs که از رشته آنتی سنس توالی ژن‌های کد کننده پروتئین سنتز می‌شوند (۵و۶و۸). این رو نوشت‌ها می‌توانند پردازش شوند و یا به حالت تک اگزونی غیر پردازش‌شده باشند و به نظر می‌رسد این عناصر شامل بزرگ‌ترین رونوشت‌های غیر کد شونده سلول‌های پستانداران هستند. سطوح بیان

Downloaded from journal.nums.ac.ir at 15:30 IRST on Saturday February 16th 2019

lncRNAها به‌طور کل خیلی کمتر از سطح بیان mRNA های کد کننده پروتئینی هستند (۳).

اگرچه ده‌ها هزار از lncRNA ها از ژنوم انسانی کد می‌شوند، تعدادی از آن‌ها دارای مکانیسم‌های عملکردی هستند و می‌توانند حاوی نقش‌های تنظیمی و ساختاری در پروسه‌های مهم بیولوژیکی باشند. این مولکول‌ها با ترکیبات پروتئینی مرتبط بوده و نقش تعدیل‌کننده و تخصصی کردن عملکرد پروتئین‌ها در مجموعه‌ای از مسیرهای پیچیده یوکاریوتی را بر عهده دارند. با توجه به نقش گسترده lncRNA ها در مسیرهای سلولی، مشارکت آن‌ها در بیماری‌های انسانی قابل‌توجه می‌باشد (۹). مطالعات نشان می‌دهد که Lnc13 توسط Dcp2 پس از فعال شدن NF-kB تضعیف می‌شود و مهم‌تر از آن، نشان می‌دهد که lnc13 می‌تواند بیان یک زیر مجموعه از ژن‌های التهابی مرتبط با بیماری سلیاک را از طریق تعامل با کروماتین و پروتئین چندمنظوره hnRNPD تنظیم کند (۱۰). باور بر این است که Lnc13 نقش مهمی در نگهداری از هموستاز ایمنی مخاطی روده دارد (۱۲). decapping از جمله عواملی است که منجر به اختلال در بیان ژن lnc13 می‌شود و درنهایت اختلالات خود ایمنی مانند بیماری سلیاک می‌شود را باعث می‌شود (۱۳). همچنین دیده شده است که LncRNAs به مقدار قابل‌توجهی در توسعه التهاب و پیشرفت بیماری سلیاک دخیل می‌باشند (۱۰). علاوه بر این، ارتباط نزدیکی بین lncRNAs در تشخیص و پیش‌آگهی بیماران سلیاکی وجود دارد. ظرفیت بالقوه‌ای برای LncRNAs به‌عنوان بیومارکری جدید و قدرتمند برای پیش‌آگهی، شناسایی و یا درمان بیماری‌ها سلیاک در نظر گرفته شده است (۱۰). شناسایی جدید نشانگرهای زیستی و اهداف درمانی برای بیماری سلیاک، مستلزم درک مکانیسم مولکولی بیماری‌ها و زیست‌شناسی مولکولی آن‌ها مهم خواهد بود (۱۴). مکانیسم اپی ژنتیک می‌تواند روی noncoding RNA ها رخ دهد و بیان آن‌ها را تغییر دهد. noncodingها توسط طول‌شان تشخیص داده می‌شوند. long non coding RNAها طولی بیش از ۲۰۰ نوکلئوتید دارند. این مولکول‌ها در ترجمه mRNA تداخل ایجاد می‌کنند و از این طریق باعث تنظیم بیان ژن می‌شوند (۱۵).

شواهد نشان می‌دهد که RNA های غیر کد شونده (lncRNAs, miRNA) نقش مهمی در زیست‌شناسی بیماری سلیاک دارند. بااین‌حال، اینکه lncRNAs, miRNA چگونه می‌توانند در مورد بیماری و سلیاک هدف قرار بگیرند، ناشناخته باقی‌مانده است. در مطالعه پرنسنر[1] و همکاران در سال ۲۰۱۱، که به بررسی تغییرات بیان ژن‌های غیر کد کننده بر بیماری سرطان انجام گرفته است، از تکنیک microarray استفاده شده است و به همین دلیل بسیاری از ژن‌های غیر کد کننده‌ای در این مطالعه، مورد ارزیابی قرار گرفته‌اند که این امر تاییدی بر نقش محرز lncRNA ها در بروز بیماری‌هاست (۱۶و۱۷).

با توجه به بررسی‌های درین[2] و همکاران در سال‌های اخیر، بسیاری از مطالعات انجام‌شده نشان دهنده نقش lncRNAs بر بیماری‌ها بوده است؛ بااین‌حال، به دلیل نیاز به انجام بررسی‌های عمیق‌تر، به‌ویژه برای lncRNA ها که در سطوح نسبتاً پایین نسبت به ژن‌های کدگذار پروتئین بیان می‌شود، تحقق نتایج قطعی نیازمند هزینه و انجام تحقیقات بیشتر است (۱۸). همچنین گزارش‌شده است که بیان ژن‌های lncRNA به‌وسیله تکنیک microarrays نسبت به تکنیک RNAseq دارای حساسیت بیشتری بوده است (۱۹). این درحالیست که تکنیک بکار برده شده در طرح حاضر، Real

[1] Prensner
[2] Derrien

Downloaded from journal.nums.ac.ir at 15:30 IRST on Saturday February 16th 2019

Time PCR بود که از حساسیت و دقت بالایی برخوردار است.

در بررسی انجام شده در سال ۲۰۱۶ در موسسه ایمنولوژی دانشگاه کلومبیا، نمونه‌های بیوپسی روده باریک در بیماران سلیاک بطور قابل ملاحظه‌ای میزان Lnc13 کاهش‌یافته است که می‌تواند نشان‌دهنده این مطلب باشد که Down Regulation منجر به التهاب دیده شده در این بیماران شود. مطالعات اخیر گواه یافتن قطعه‌ای از RNA است که در هنگام سرکوب شدن می‌تواند در التهاب روده که در بیماران سلیاک دیده می‌شود نقش داشته باشد. در مطالعه چند مرکزی انجام شده بین مرکز بیماری‌های سلیاک و دپارتمان میکروبیولوژی و ایمنولوژی دانشگاه کلمبیا بر روی LncRNA، ذکر شده است که این RNA نوعی بلوک هاپلوتایپ مرتبط با بیماری سلیاک را راه‌اندازی می‌کند و بیان ژن‌های التهابی مخصوصی را در شرایط هموستاتیک سرکوب می‌کند. Lnc13 بیان ژن را از طریق اتصال به hnRNPD (عضوی از خانواده ریبونوکلئوپروتئین های هسته‌ای هتروژن است) تنظیم می‌کند. Lnc13 در هنگام تحریک سطوح کاهش یافته و منجر به افزایش بیان ژن‌های سرکوب شده می‌گردد (۱۱).

نتیجه‌گیری

اگرچه تغییر بیان lncRNA ها با انواع مختلف بیماری‌های انسانی مرتبط است، اما اطلاعاتی جزئی از lncRNA در دست نیست. لذا پیشنهاد می‌گردد، سایر ژن‌های LncRNA و ارتباط آن‌ها با بیماری سلیاک در مطالعات آتی موردبررسی قرار گیرد. همچنین می‌توان به بررسی ارتباط پلی‌مورفیسم LncRNA ها و بیان ژن در سطح سرمی بیماران پرداخت. علاوه بر این، می‌توان به بررسی اختصاصی میزان بیان ژن Lnc13 در بافت بیماران سلیاکی پرداخته شود.

با توجه به یافته‌های حاضر، می‌توان پیشنهاد نمود که از تغییرات بیان ژن Lnc13 در بیماران سلیاکی، به عنوان بیومارکری جهت پیش آگهی و یا درمان استفاده شود. نکته قابل توجه در مطالعه حاضر آن است که، تغییرات بیانی در خون افراد بیمار دیده شده است که این امر به دلیل غیر تهاجمی بودن روش نمونه‌برداری بسیار حایز اهمیت است. علاوه بر آن این امر می‌تواند به دلیل محدودیت‌های موجود در طرح حاضر، از جمله تعداد نمونه، محدودیت‌های آزمایشگاهی و ... باشد.

References

1. Nejad MR, Rostami K, Emami MH, Zali MR, Malekzadeh R. Epidemiology of celiac disease in Iran: a review. Middle East J Dig Dis 2011;3(1):5-12.
2. Beckedorff FC, Amaral MS, Deocesano-Pereira C, Verjovski-Almeida S. Long non-coding RNAs and their implications in cancer epigenetics. Biosci Rep 2013;33(4). pii: e00061.
3. Djebali S, Davis CA, Merkel A, Dobin A, Lassmann T, Mortazavi AM, *et al*. Landscape of transcription in human cells. Nature 2012;489(7414):101-8.
4. Calcagno DQ, Gigek CO, Chen ES, Burbano RR, Smith MdAC. DNA and histone methylation in gastric carcinogenesis. World J Gastroenterol 2013;19(8):1182-92.
5. Kapranov P, Cheng J, Dike S, Nix DA, Duttagupta R, Willingham AT, *et al*. RNA maps reveal new RNA classes and a possible function for pervasive transcription. Science 2007;316(5830):1484-8.

Downloaded from journal.nums.ac.ir at 15:30 IRST on Saturday February 16th 2019

6. Guttman M, Amit I, Garber M, French C, Lin MF, Feldser D, Huarte M, *et al*. Chromatin signature reveals over a thousand highly conserved large non-coding RNAs in mammals. Nature 2009;458(7235):223-7.
7. Ranjbar R, Chaleshi V, Aghdaei H, Morovvati S. Investigating the association between miR-608 rs4919510 and miR-149 rs2292832 with colorectal cancer in Iranian population. Microrna 2018;7(2):100-6.
8. Wang D, Garcia-Bassets I, Benner C, Li W, Su X, Zhou Y, *et al*. Reprogramming transcription via distinct classes of enhancers functionally defined by eRNA. Nature 2011;474(7351):390-4.
9. Esteller M. Non-coding RNAs in human disease. Nat Rev Genet 2011;12(12):861-74.
10. Castellanos-Rubio A, Fernandez-Jimenez N, Kratchmarov R, Luo X, Bhagat G, Green PH, *et al*. A long noncoding RNA associated with susceptibility to celiac disease. Science 2016;352(6281):91-5.
11. Castellanos-Rubio A, Fernandez-Jimenez N2, Kratchmarov R1, Luo X3, Bhagat G4, Green PH, *et al*. A long noncoding RNA associated with susceptibility to celiac disease. Science 2016;352(6281):91-5.
12. Ryan JC, Wu Q, Shoemaker RC. Transcriptomic signatures in whole blood of patients who acquire a chronic inflammatory response syndrome (CIRS) following an exposure to the marine toxin ciguatoxin. BMC Med Genomics 2015;8(1):15.
13. Huarte M. A lncRNA links genomic variation with celiac disease. Science 2016;352(6281):43-4.
14. Weinberg R. The biology of cancer. Garland science; 2013.
15. Mercer TR, Dinger ME, Mattick JS. Long non-coding RNAs: insights into functions. Nat Rev Genet 2009;10(3):155-9.
16. Prensner JR, Chinnaiyan AM. The emergence of lncRNAs in cancer biology. Cancer discov 2011;1(5):391-407.
17. Yang G, Lu X, Yuan L. LncRNA: a link between RNA and cancer. Biochim Biophys Acta 2014;1839(11):1097-109.
18. Derrien T, Johnson R, Bussotti G, Tanzer A, Djebali S, Tilgner H, *et al*. The GENCODE v7 catalog of human long noncoding RNAs: analysis of their gene structure, evolution, and expression. Genome Res 2012;22(9):1775-89.
19. Fu X, Fu N, Guo S, Yan Z, Xu Y, Hu H, *et al*. Estimating accuracy of RNA-Seq and microarrays with proteomics. BMC genomics 2009;10:161.

Journal of Neyshabur University of Medical Sciences

www.journalnums.ac.ir

Evaluation of Lnc13 relative expression comparing to healthy volunteers and correlation with clinicopathological feature

Naghmeh Zamani[1], Farzaneh Tafvizi[*1], Mohammad Rostaminejad[2]

1- Department of Biology, Parand Branch Islamic Azad University, Parand, Iran
2- Gastroenterology and Liver Diseases Research Center, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Original Article

Received: Jul 4, 2018
Accepted: Dec 31, 2018

***Corresponding Author:**
Farzaneh Tafvizi, Department of Biology, Parand Branch Islamic Azad University, Parand, Iran
TEL:
Email:
farzanehtafvizi54@gmail.com

A B S T R A C T

Introduction
Celiac disease has been known to be one of the health concerns with an increasing trend worldwide. This autoimmune disease is due to a reaction to gluten resulting in destroyed intestinal villi. Recent studies have shown that Lnc13 affects the pathogenicity of the disease. However, recent studies showed that this group of genes can affect the inflammation due to the disease. We aimed to evaluate the expression of Lnc13 in Iranian celiac patients.

Materials and Methods
In this case-control study, a total of 50 celiac patients and 20 healthy controls blood samples were collected during the 1396-1395 years that referred to the Research Institute for Gastroenterology and Liver Diseases, ShahidBeheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran. To evaluate the relative expression of LncRNA13, the qRT-PCR method was applied.

Results
Significantly correlation between Lnc13 gene relative expression in patients with celiac disease and control group was observed (95% CI 0.5521 to 1.250, $P< 0.05$)

Conclusion
According to our investigation maybe an abnormal expression of Lnc13 gene in blood of celiac patients use as a biomarker for the direction Prognosis, diagnosis, and treatment of Celiac disease.

Keywords
Lnc13, long non coding RNA, gene expression, celiac disease

► ***Please cite this article as:*** Zamani N, Tafvizi F, Rostaminejad M. Evaluation of Lnc13 relative expression comparing to healthy volunteers and correlation with clinicopathological feature. J Neyshabur Univ Med Sci 2019;6(4):35-45.

Downloaded from journal.nums.ac.ir at 15:30 IRST on Saturday February 16th 2019