



اختلالات تغییرات بیان ژن Lnc13 در بیماران مبتلا به سلیاک در مقایسه با افراد

سالم و همبستگی با ویژگی‌های کلینیکوپاتولوژیک

نغمه زمانی^۱، فرزانه تفویضی^{۱*}، محمد رستمی نژاد^۲

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

۲- مرکز تحقیقات اپیدمیولوژی پایه و مولکولی اختلالات گوارشی، موسسه تحقیقات گوارش و بیماری‌های کبدی، دانشگاه علوم

پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

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

افزایش معنی داری در بیان ژن Lnc13 در خون بیماران مبتلا به سلیاک در مقایسه با گروه سالم دیده شد ($P < 0.05$) (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 به کار رود.

کلیدواژه‌ها

بیماری سلیاک، بیان ژن، ژن‌های غیر کد کننده، ژن Lnc13

مقاله پژوهشی اصیل

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۴/۱۳

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۱۰/۱۰

*نویسنده مسئول: فرزانه تفویضی، گروه

زیست شناسی، واحد پرند، دانشگاه آزاد

اسلامی، پرند، ایران

تلفن: ۰۲۱-۵۶۷۳۳۰۳۷

پست الکترونیک:

farzanehtafvizi54@gmail.com



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 (۲و۱). 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 می‌کنند که علایم بهبود یافته است هر چند که بهبود روده ممکن است سال‌ها طول بکشد (۴).

افراد با سابقه خانوادگی نزدیک (والدین، فرزندان، خواهر و برادر) ریسک بروز بالاتری (نسبت ۱ 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 بخش‌هایی از ژنوم اند که تولید پروتئین یا محصول نمی‌کنند (۷). در سال‌های گذشته، نظر بر آن بوده است که این مناطق از ژنوم، توالی‌های 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 می‌توانند 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 آن تأثیر مستقیم دارند. پژوهش‌ها مطرح کننده اثر یکی از RNAهای غیر کد کننده 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 هاپلو تایپ در بروز بیماری تأثیرگذار است (۱۰). عملکرد ژن به صورتی است که تغییرات افزایش بیان 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 تاکنون مطالعه‌ای در مورد بررسی بیان این ژن در جمعیت ایرانی مبتلا به بیماری سلیاک بررسی نشده

^۱ Long non coding RNA



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

است؛ هدف از مطالعه حاضر، بررسی بیان ژن Lnc13 در بیماران سلیاک در مقایسه با افراد سالم در جمعیت ایرانی می‌باشد. 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، 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

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

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

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

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

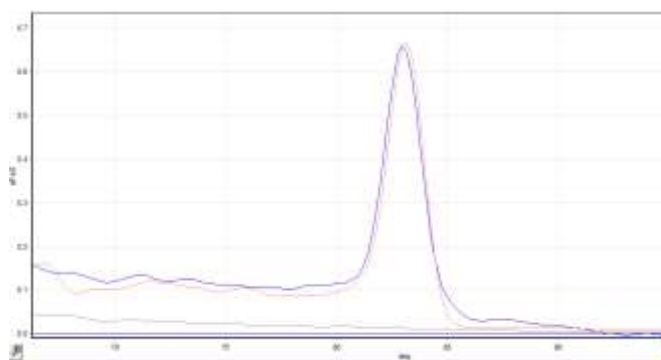


پرایمرهای مورد استفاده با نرم افزار Gene Runner و برنامه- های آنلین Primer3 (<http://primer3.ut.ee>) طراحی شدند (جدول ۱). بررسی کمی بیان ژن با تکنیک Real time PCR و طبق دستورالعمل کیت تجاری سایبر گرین (تاکارا- ژاپن) در دستگاه Real time (QIAGEN Rotor gene) انجام شد. ژن بتاگلوبولین به عنوان کنترل داخلی استفاده شد. واکنش کمی Real Time PCR با استفاده از cDNA به صورت تکرار دوتایی در پلیت های ۷۲ چاهکی در حجم نهایی ۲۰ میکرو لیتر بهینه سازی شد. مواد مورد استفاده در واکنش شامل ۱۰ میکرو لیتر از SYBR TM (2X) Master Mix (Takara Company)، ۱۰ میکرو مول از پرایمرهای پیشرو و معکوس (Reverse ، Forward primer) primer (شرکت تکاپو زیست)، ۷ میکرو لیتر از آب دیونیزه و ۲ میکرو لیتر cDNA الگو بود. برنامه دمائی در دستگاه به

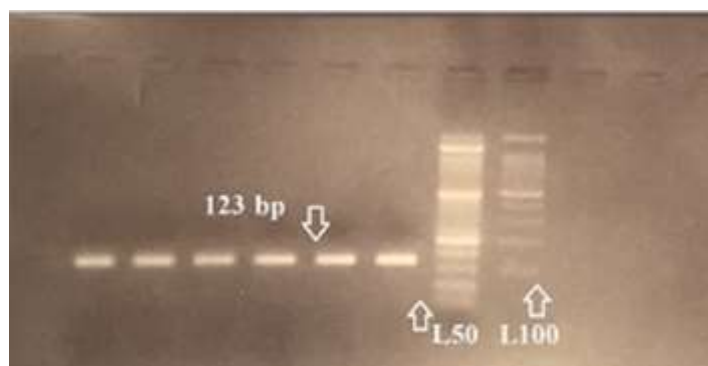
شرح ذیل بهینه سازی شد: مرحله ۹۵ درجه سانتی گراد برای ۳۰ ثانیه برای فعال سازی آغازی پرایمر، در ادامه ۴۰ سیکل که شامل ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۵ ثانیه، ۶۰ درجه سانتی گراد به مدت ۳۴ ثانیه و ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۴۰ ثانیه انجام گرفت. سپس منحنی ذوب تک قله ای که تایید کننده صحت تکثیر ژن مورد نظر بدون 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 واکنش های انجام شده با پرایمر اختصاصی، تنها یک باند اختصاصی دیده شد که این امر نشان دهنده عدم حضور ژن های غیر اختصاصی در آزمایش می باشد 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'- TTCACCTGAGACCCTGCAATG-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



شکل ۱- منحنی ذوب مربوط به ژن Lnc13



شکل ۲- 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 یک طرفه انجام شد. مقدار $P < 0.05$ از نظر آماری معنی دار 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 داده ها، جهت رسم نمودار سطوح بیان RNA از نرم افزار GraphPad prism 5 (<https://www.graphpad.com/scientific-software/prism>) استفاده شد.

یافته ها

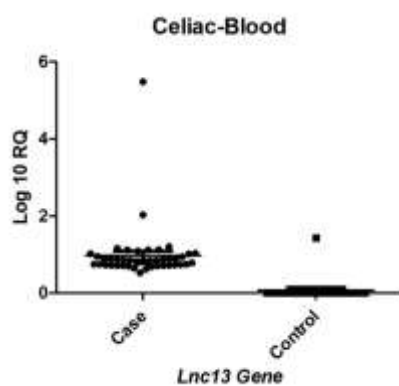
در پژوهش حاضر اطلاعات عمومی و دموگرافی مورد بررسی شامل ۵۰ نمونه بیمار مبتلا به سلیاک با میانگین سن $34/14 \pm 857/63$ و شاخص توده بدنی میانگین $\pm$ انحراف معیار: $23/6287 \pm 6/0959$ و ۲۰ نمونه فرد سالم با میانگین سن $\pm$ انحراف معیار: $52/25 \pm 17/459$ و شاخص توده بدنی میانگین $\pm$ انحراف معیار:

۲۶/۴ $\pm 3388/26309$ می باشد. اطلاعات بیشتر عمومی و دموگرافی مورد بررسی در این مطالعه شامل جنسیت، قومیت، سابقه خانوادگی ابتلا به سلیاک در جدول ۲ قابل مشاهده می باشد. مقایسه تغییرات بیان ژن Lnc13 بین گروه بیمار و کنترل، نشان دهنده افزایش بیان ژن Lnc13 در گروه بیماران مبتلا به سلیاک در مقایسه با گروه کنترل بود ($P < 0.05$) (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 شد و رابطه معنی داری در این دو گروه مشاهده نشد ($P = 0.9952$) (شکل ۴). آنالیز بیان نسبی تغییرات Lnc13 میان گروه قومیت های فارس، ترک، لر و کرد مبتلا به سلیاک نیز حاکی از عدم تغییرات معنی دار بین گروه های حاضر بود ($P = 0.7478$) (شکل ۵).

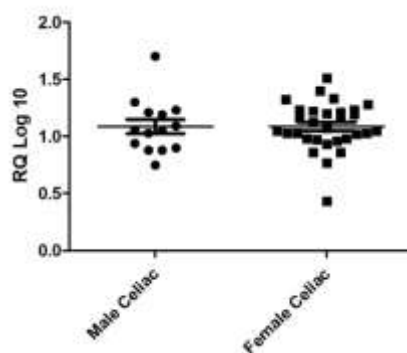


جدول ۲- اطلاعات دموگرافی بیماران سلیاک و افراد کنترل مورد مطالعه

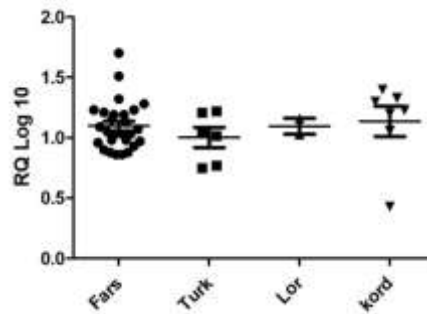
متغیر	بیماران		کنترل سالم	
	کل جمعیت (۵۰ نفر)	درصد فراوانی	کل جمعیت (۲۰ نفر)	درصد فراوانی
جنسیت	مرد	۱۴	۵	۴۵
	زن	۳۶	۱۵	۵۵
قومیت	فارس	۳۵	۱۲	۶۰
	ترک	۶	۶	۳۰
	لر	۲	۱	۵
	کرد	۷	۱	۵
سابقه خانوادگی	دارد	۳	۰	۰
	ندارد	۴۷	۲۰	۱۰۰



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



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

بحث

رونویسی ژنوم انجام پذیرفته است، آشکار ساخت که ژنوم یوکاریوتی به‌طور گسترده‌ای به تعداد زیادی از انواع lncRNAs (long non-coding RNAs) و ۲۰۰ nt و small ncRNAs با طول کمتر از ۲۰۰ nt رونویسی می‌شوند که جزو کلاس بزرگی از ncRNA ها به شمار می‌آیند (۳). LncRNA ها می‌توانند به شکل پلی‌آدنیل یا غیر آدنیل 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 کلاهی 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 (۵ و ۸). 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

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 از جمله 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



LncRNA ها به طور کل خیلی کمتر از سطح بیان mRNA های کد کننده پروتئینی هستند (۳). اگرچه دهها هزار از LncRNA ها از ژنوم انسانی کد می شوند، تعدادی از آن ها دارای مکانیسم های عملکردی هستند و می توانند حاوی نقش های تنظیمی و ساختاری در پروسه های مهم بیولوژیکی باشند. این مولکول ها با ترکیبات پروتئینی مرتبط بوده و نقش تعدیل کننده و تخصصی کردن عملکرد پروتئین ها در مجموعه ای از مسیرهای پیچیده یوکاریوتی را بر عهده دارند. با توجه به نقش گسترده LncRNA ها در مسیرهای سلولی، مشارکت آن ها در بیماری های انسانی قابل توجه می باشد (۹). مطالعات نشان می دهد که Lnc13 توسط Dcp2 پس از فعال شدن NF-kB تضعیف می شود و مهم تر از آن، نشان می دهد که Lnc13 می تواند بیان یک زیر مجموعه از ژن های 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 می شود و در نهایت اختلالات خود ایمنی مانند بیماری سلیاک می شود را باعث می شود (۱۳). همچنین دیده شده است که LncRNAs به مقدار قابل توجهی در توسعه التهاب و پیشرفت بیماری سلیاک دخیل می باشند (۱۰). علاوه بر این، ارتباط نزدیکی بین LncRNAs در تشخیص و پیش آگهی بیماران سلیاکی وجود دارد. ظرفیت بالقوه ای برای LncRNAs به عنوان بیومارکری جدید و قدرتمند برای پیش آگهی، شناسایی و یا درمان بیماری ها سلیاک در نظر گرفته شده است (۱۰). شناسایی جدید نشانگرهای زیستی و اهداف درمانی برای بیماری سلیاک، مستلزم درک مکانیسم مولکولی بیماری ها و زیست شناسی مولکولی آن ها مهم خواهد بود (۱۴). مکانیسم

اپی ژنتیک می تواند روی noncoding RNA ها رخ دهد و بیان آن ها را تغییر دهد. noncoding ها توسط طول شان تشخیص داده می شوند. long non coding RNA ها طولی بیش از ۲۰۰ نوکلئوتید دارند. این مولکول ها در ترجمه mRNA تداخل ایجاد می کنند و از این طریق باعث تنظیم بیان ژن می شوند (۱۵).

شواهد نشان می دهد که RNA های غیر کد شونده (LncRNAs, miRNA) نقش مهمی در زیست شناسی بیماری سلیاک دارند. باین حال، اینکه LncRNAs, miRNA چگونه می توانند در مورد بیماری و سلیاک هدف قرار بگیرند، ناشناخته باقی مانده است. در مطالعه پرنسner^۱ و همکاران در سال ۲۰۱۱، که به بررسی تغییرات بیان ژن های غیر کد کننده بر بیماری سرطان انجام گرفته است، از تکنیک microarray استفاده شده است و به همین دلیل بسیاری از ژن های غیر کد کننده ای در این مطالعه، مورد ارزیابی قرار گرفته اند که این امر تاییدی بر نقش محرز LncRNA ها در بروز بیماری هاست (۱۶ و ۱۷).

با توجه به بررسی های درین آ و همکاران در سال های اخیر، بسیاری از مطالعات انجام شده نشان دهنده نقش LncRNAs بر بیماری ها بوده است؛ باین حال، به دلیل نیاز به انجام بررسی های عمیق تر، به ویژه برای LncRNA ها که در سطوح نسبتاً پایین نسبت به ژن های کدگذار پروتئین بیان می شود، تحقق نتایج قطعی نیازمند هزینه و انجام تحقیقات بیشتر است (۱۸). همچنین گزارش شده است که بیان ژن های LncRNA به وسیله تکنیک microarrays نسبت به تکنیک RNAseq دارای حساسیت بیشتری بوده است (۱۹). این درحالیست که تکنیک بکار برده شده در طرح حاضر، Real

^۱Prensner

^۲Derrien



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 مورد بررسی 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 پیش‌آگهی 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 ته‌اجبی 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.

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

در بررسی انجام شده در سال ۲۰۱۶ در موسسه ایمنولوژی دانشگاه کلمبیا، نمونه‌های بیوپسی روده باریک در بیماران سلیاک بطور قابل ملاحظه‌ای میزان Lnc13 کاهش یافته است که می‌تواند نشان‌دهنده این مطلب باشد که Down Regulation منجر به التهاب دیده شده در این بیماران شود. مطالعات اخیر گواهی 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 hnRNP D (عضوی از خانواده ریبونوکلوپروتئین‌های هسته‌ای هتروژن است) تنظیم می‌کند. Lnc13 در هنگام تحریک سطوح کاهش یافته و منجر به افزایش بیان ژن‌های سرکوب شده می‌گردد (۱۱).

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, Giguek 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, Duttugupta R, Willingham AT, et al. RNA maps reveal new RNA classes and a possible function for pervasive transcription. *Science* 2007;316(5830):1484-8.



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. *Microna* 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.



Evaluation of Lnc13 relative expression in patients with Celiac disease comparing to healthy volunteers and correlation with clinicopathological feature

Naghmeh Zamani¹, Farzaneh Tafvizi^{*1}, Mohammad Rostaminejad²

1- Department of Biology, Parand Branch, Islamic Azad University, Parand, Iran

2- Gastroenterology and Liver Diseases Research Center, Research Institute for Gastroenterology and Liver Diseases, 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: 021-56733037

Email:

farzanehtafvizi54@gmail.com

ABSTRACT

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

LncRNA13 expression level was found higher in the case group, compared to that of the controls (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 in patients with Celiac disease comparing to healthy volunteers and correlation with clinicopathological feature. J Neyshabur Univ Med Sci 2019;6(4):27-38.