مطالعهٔ ارتباط پلی‌مورفیسم rs13476 در ژن کدکنندهٔ lncRNA GAS5 با بروز دیابت نوع دو در جمعیت اصفهان

عاصفه امینی[۱]، مریم پیمانی[*]

۱) گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۱۲/۱۳ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۱۰/۷

چکیده

مقدمه: lncRNA GAS5 یک RNA طویل غیر کدشونده است و در تنظیم بیان ژن‌ها نقش دارد. مطالعات نشان داده‌اند که بیان lncRNA GAS5 در سرم بیماران دیابتی کاهش می‌یابد. با توجه به نقش lncRNA GAS5، هدف پژوهش حاضر بررسی ارتباط بین پلی‌مورفیسم rs13476 در ژن کدکنندهٔ این lncRNA با بروز دیابت نوع دو در جمعیت اصفهان است.

مواد و روش‌ها: در این پژوهش مورد–شاهدی، ۲۰۰ فرد سالم و ۲۰۰ فرد بیمار دیابتی نوع دو به‌طور تصادفی، از جمعیت مدنظر انتخاب شدند. ژنوتیپ افراد برای پلی‌مورفیسم مدنظر، با روش PCR_RFLP تعیین و برای تأیید نتایج، تعدادی از نمونه‌ها سکانس گردید؛ سپس فراوانی ژنوتیپ‌ها و به دنبال آن، فراوانی آلل‌ها به‌منظور به دست آوردن ارتباط این پلی‌مورفیسم با خطر ابتلا به دیابت نوع دو، جنس و بروز بیماری آنالیز شد.

یافته‌های پژوهش: پس از تکثیر قطعهٔ ۳۸۰ جفت‌بازی حاوی پلی‌مورفیسم rs13476 در همهٔ نمونه‌ها و سپس هضم آنزیمی آن‌ها توسط آنزیم BCCI، همهٔ نمونه‌ها ژنوتیپ TT را نشان دادند. نتایج سکانس تعدادی از نمونه‌ها نیز، نتایج هضم آنزیمی را تأیید کردند. فراوانی ژنوتیپ TT در جمعیت یادشده، ۴۰۰ مورد (۱۰۰ درصد) و فراوانی آلل T، ۸۰۰ مورد گزارش شد و آلل A در جمعیت یادشده مشاهده نگردید.

بحث و نتیجه‌گیری: با توجه به نبودِ ارتباط پلی‌مورفیسم مدنظر با خطر ابتلا به دیابت در این جمعیت، از این پلی‌مورفیسم نمی‌توان برای غربالگری بیماران دیابتی در جمعیت مدنظر استفاده کرد. مطالعات بیشتر در زمینهٔ ارزیابی اهمیت پلی‌مورفیسم مطالعه‌شده در جمعیت‌های گوناگون ضروری است.

واژه‌های کلیدی: پلی‌مورفیسم SNP، lncRNA GAS5، دیابت نوع دو

* نویسندهٔ مسئول : دانشیار گروه زیست‌شناسی، دانشکدهٔ علوم پایه، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران

Email: m.peymani@iaushk.ac.ir

Copyright © 2019 Journal of Ilam University of Medical Science. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution international 4.0 International License (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/) which permits copy and redistribute the material, in any medium or format, provided the original work is properly cited.

مقدمه

دیابت نوع دو یکی از بیماری‌های متابولیک بسیار شایع است و زمینهٔ ژنتیکی و محیطی دارد. مطالعات نشان داده‌اند که احتمالاً بروز پاسخ‌های خودایمنی، لنفوسیت‌های T، آنتی‌بادی‌ها، ماکروفاژها و عوامل محیطی مانند استرس، فشار، هیجان‌های روحی و داروها در بروز این بیماری مؤثرند (۲، ۱). اگرچه بر اساس مطالعات آماری و جغرافیایی، بیشترین میزان شیوع این بیماری در کشورهای آمریکایی و شرق میانی گزارش‌شده است؛ اما در طی دهه‌های اخیر، شیوع این بیماری در ایران هم رو به افزایش است؛ بنابراین، مطالعات ژنتیکی مرتبط با جمعیت‌های ایرانی ضروری به نظر می‌رسد (۲).

lncRNA GAS5 یک RNA طویل غیر کدشونده است و در تنظیم بیان ژن‌ها نقش دارد. lncRNA GAS5 توسط مکان ژنی 1q25 کد می‌شود. نتایج یک مطالعه نشان داد که میزان بیان lncRNA GAS5 در سرم افراد مبتلا به دیابت کاهش می‌یابد. (۱). همان گروه در سال ۲۰۱۹، نحوهٔ عملکرد lncRNA GAS5 در بافت آدیپوز را مطالعه کردند و نشان دادند که این lncRNA از طریق اتصال به پروموتر گیرندهٔ انسولین، سطح بیان آن را تنظیم می‌کند و کاهش آن، مانع از جذب گلوکز و سیگنالینگ انسولین می‌شود (۳).

از یک‌سو، مطالعات متعددی پیشنهاد می‌کنند که پیچیدگی ژرفی میان lncRNAs و miRNAs در تنظیم فعالیت نسخه‌برداری وجود دارد. مطالعات بیوانفورماتیک بر روی تارگت سایت lncRNAها، شبکهٔ گسترده‌ای از برهم‌کنش lncRNAs و miRNAs را نشان می دهد (۴). اعتقاد بر این است که lncRNAها تأثیری مشابه اسفنج، بر روی miRNAهای گوناگون دارد که درنهایت، عملکردهای وابسته به miRNAs را متوقف می‌کند (۵). از سوی دیگر، پلی‌مورفیسم‌ها در سطح lncRNAها می‌توانند تغییراتی در ساختار ثانویهٔ lncRNA ایجاد کنند و به دنبال آن، میزان تمایل به اتصال به miRNAهای مورد هدف را تحت تأثیر قرار دهند و سطح بیان lncRNA مدنظر تغییر یابد (۶)؛ همچنین SNPهای مشاهده‌شده در ژن‌های کدکنندهٔ lncRNAها می‌توانند به‌طور مستقیم، بیان و عملکرد lncRNAها را تحت تأثیر قرار دهند و یا پایداری و پیرایش آن‌ها دستخوش تغییراتی گردد (۸، ۷).

اگرچه چندین مطالعه در زمینهٔ بیان و عملکرد lncRNA GAS5 در دیابت نوع دو انجام‌شده است؛ اما بر اساس جستجو در سایت‌های معتبر علمی، تاکنون مطالعه‌ای دربارهٔ ارتباط پلی‌مورفیسم rs13476 در ژن کدکنندهٔ lncRNA GAS5 با دیابت نوع دو انجام‌نشده است. این پلی‌مورفیسم در موقعیت chr1:173,835,919 قرار دارد و بر اساس بررسی‌های انجام‌شده، با پایگاه lncRNASNP با miR-362 در ارتباط است (۹). هدف پژوهش حاضر، بررسی ارتباط میان پلی‌مورفیسم rs13476 در ژن کدکنندهٔ lncRNA GAS5 با خطر بروز دیابت نوع دو در جمعیت اصفهان است.

مواد و روش‌ها

این مطالعه به‌صورت مورد-شاهدی، بر روی ۲۰۰ بیمار دیابتی نوع ۲ و ۲۰۰ فرد سالم به‌عنوان گروه کنترل انجام شد (گفتنی است انتخاب این تعداد نمونه، بر اساس امکانات و دسترسی محدود به نمونه‌ها بود). کمیتهٔ اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد، این پژوهش را با شناسهٔ IR.IAU.SHK.REC.1398.021 تأیید و تصویب کرد. افراد دیابتی از مراجعه‌کنندگان به آزمایشگاه بیمارستان الزهرا اصفهان بودند. به افراد شرکت‌کننده در مطالعه (برای بررسی بیوشیمیایی و ژنتیکی)، آگاهی کافی داده شد و رضایت از انجام تحقیق اخذ گردید. ویژگی‌های کلینیکالی مدنظر در جمعیت بیماران، در جدول شمارهٔ ۱ گزارش‌شده است.

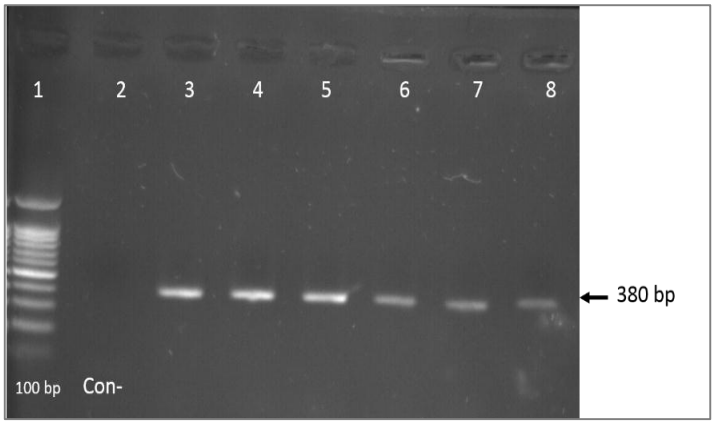
جدول شمارهٔ ۱. توزیع متغیرهای بالینی و بیوشیمیایی در بیماران دیابتی نوع ۲ و افراد سالم

شاخص	افراد دیابتی نوع ۲	افراد سالم
قند خون ناشتا (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	189.80±5.395	83.07±8.90
کلسترول (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	211.76±44.65	188.01±38.55
تری‌گلیسیرید (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	250 ±20	160 ±37
هموگلوبین گلیکوزیله (درصد)	7.3 (6.72-8)	5 (4.9-5.2)

گروه کنترل از میان افراد سالم که معیارهای ابتلا به دیابت نداشتند و از لحاظ سن (۵±) و جنس با گروه بیمار، همسان‌سازی شده بودند، به‌طور تصادفی انتخاب گردیدند. ابتلا به دیابت با معیارهای سازمان جهانی بهداشت (WHO)، به‌صورت قند خون ناشتا (FBS) بالاتر از 126mg/dLit یا قند دوساعته پس از مصرف گلوکز (OGTT) بیشتر از 200mg/dLit و یا مصرف داروی ضددیابت به تجویز پزشک تعریف‌شده است (۱۰). پس از جمع‌آوری ۵ میلی‌لیتر خون محیطی از جمعیت موردمطالعه، استخراج DNA ژنومی از سلول‌های گلبول‌های سفید خون افراد یادشده، با استفاده از کیت شرکت Genet bio (کره) انجام گرفت. تعیین ژنوتیپ با استفاده از روش PCR-RFLP صورت پذیرفت. بدین منظور ابتدا، با استفاده از نرم‌افزار Oligo vol.7 یک جفت پرایمر رفت‌وبرگشت برای پلی‌مورفیسم rs13476 که دربرگیرندهٔ ناحیهٔ مدنظر بود، طراحی شد و اختصاصیت پرایمرهای طراحی‌شده در قسمت BLAST سایت NCBI ارزیابی گردید. توالی پرایمر رفت 5'- TGCCTCAGTTAA GATAATGGT-3' و توالی پرایمر برگشت 5'- CCTTATGGAC-3' TCTGGATAGCA بود؛ سپس واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) بهینه‌سازی شد. مواد لازم برای انجام واکنش PCR در حجم ۲۵ میکرولیتر DNA ژنومی، ۸/۵ میکرولیتر آب دیونیزه، ۱۲/۵ میکرولیتر مستر میکس 2X (Ampliqon، دانمارک)، از هرکدام از پرایمرهای رفت‌وبرگشت (5 pmol) ۱ میکرولیتر، ۲ میکرولیتر DNA ژنومی بود و PCR با دمای annealing ۵۷ درجهٔ سانتی‌گراد صورت گرفت؛ سپس RFLP بر روی محصول PCR برای پلی‌مورفیسم rs13476 توسط آنزیم BCCI، مطابق دستور شرکت تولیدکنندهٔ آنزیم (NEB، انگلستان) انجام شد و قطعات حاصل از هضم آنزیمی بر روی ژل مشاهده گردید. در پایان، برای تأیید مراحل هضم آنزیمی، تعدادی از نمونه‌ها به‌منظور تعیین ژنوتیپ برای انجام سکانس به شرکت پیشگام ارسال شد. آنالیز نتایج به‌دست‌آمده از این پژوهش با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS vol.23.0، با تست آماری رگرسیون لجستیک انجام گردید و ارتباط ژنوتیپ‌های گوناگون مربوط به پلی‌مورفیسم یادشده با بروز بیماری دیابت نوع دو، در سطح کمتر از ۰/۰۵ بررسی شد.

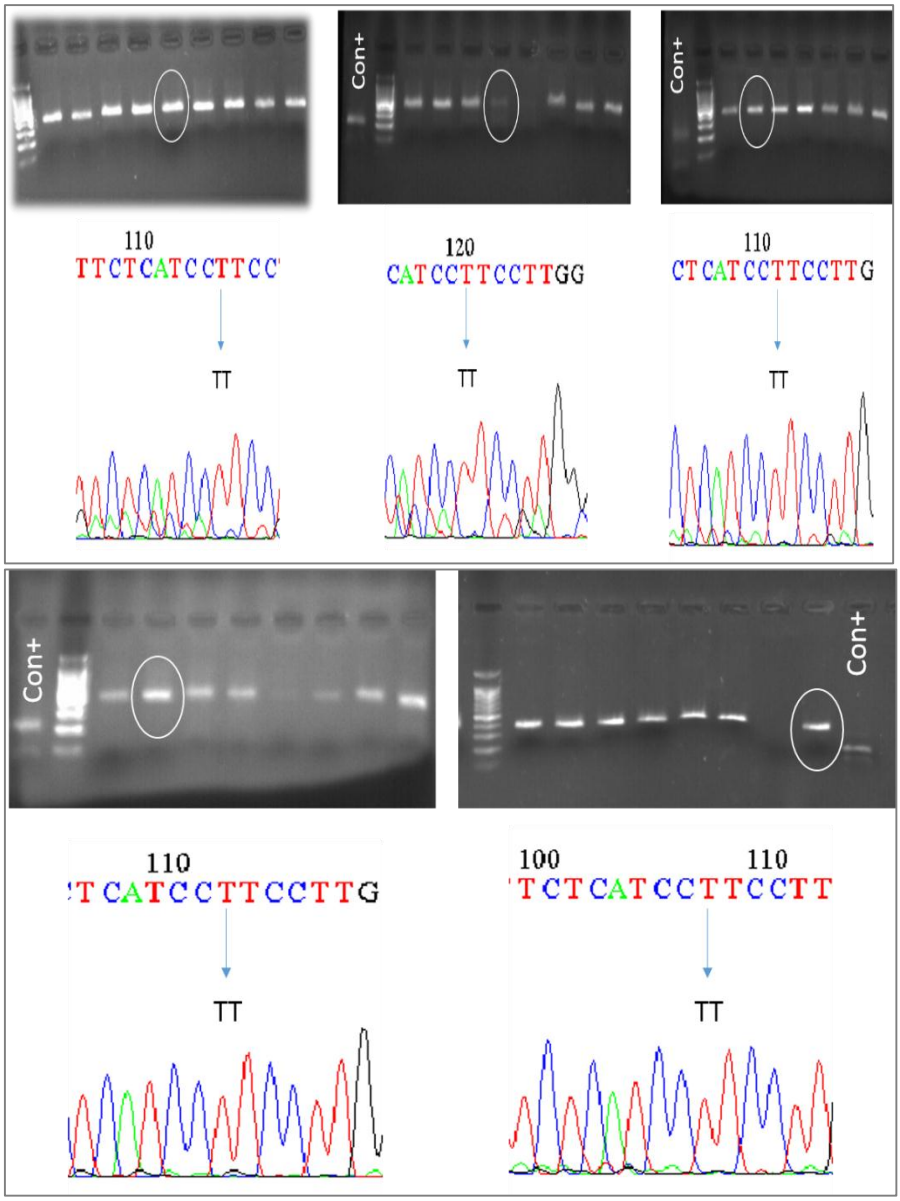
یافته‌های پژوهش

گروه سالم و بیمار در یک ردهٔ سنی قرار داشتند و اختلاف فراوانی نمونه‌های زن و مرد میان دو گروه معنادار نبود. میانگین مقادیر FBS، TG و HbA1c در بیماران دیابتی، به‌طور معناداری بیشتر از افراد سالم بود. اختلاف معناداری در میزان کلسترول میان دو گروه مشاهده نشد و هر دو گروه کنترل و بیمار از نظر شرایط تعادل هاردی–واینبرگ با درجهٔ آزادی یک، در حال تعادل بودند. پس از تکثیر DNA نمونه‌های جمع‌آوری‌شده و مشاهدهٔ محصول ۳۸۰ جفت باز (شکل شمارهٔ ۱)، محصولات PCR، برای تعیین ژنوتیپ هریک از نمونه‌ها در هر دو جمعیت مطالعه‌شده، تحت هضم آنزیمی با آنزیم BCCI قرار گرفتند.



شکل شمارهٔ ۱. الکتروفورز محصولات PCR برای قطعهٔ حاوی پلی‌مورفیسم مدنظر بر روی ژل آگارز ۱ درصد باند ۳۸۰، نشان‌دهندهٔ قطعهٔ تکثیرشدهٔ مدنظر در دمای ۵۷°C است. چاهک شمارهٔ ۱ 100 bp DNA Ladder، چاهک شمارهٔ ۲ کنترل منفی و چاهک‌های ۸-۳ محصولات PCR تعدادی از نمونه‌های مطالعه‌شده را نشان می‌دهد.

در پژوهش حاضر، قطعاتی با اندازه‌های ۳۸۰ bp نشان‌دهندهٔ ژنوتیپ (TT)، قطعاتی با اندازه‌های ۱۵۴، ۲۲۶ و ۳۸۰ bp نشان‌دهندهٔ ژنوتیپ (TA) و قطعاتی با اندازه‌های ۱۵۴ و ۲۲۶ bp نشان‌دهندهٔ ژنوتیپ (AA) است که نتایج هضم آنزیمی در شکل شمارهٔ ۲ قابل‌مشاهده است. در جمعیت مطالعه‌شده، هیچ نمونه‌ای مشاهده نگردید که قابلیت برش در حضور آنزیم مدنظر را داشته باشد. برای تأیید نتایج حاصل از تیمار با آنزیم، تعدادی از نمونه‌ها برای سکانس ارسال گردید و این نتایج تأیید شد. برای اطمینان از عملکرد آنزیم، قطعه‌ای که توالی آن در شکل‌ها مشاهده می‌شود و جایگاه برش آنزیم BCCI را دارد و در جایگاه برش این آنزیم فاقد پلی‌مورفیسم است، به‌عنوان کنترل مثبت کار در نظر گرفته شد و شرایط هضم آنزیمی بر روی این قطعه بهینه گردید. نتیجهٔ هضم آنزیمی قطعهٔ کنترل مثبت در شکل شمارهٔ ۲ نیز مشاهده می‌شود؛ همچنین نتایج سکانس تعدادی از نمونه‌ها که به‌صورت تصادفی انتخاب‌شده بودند، نتایج هضم آنزیمی را تأیید کردند که در شکل شمارهٔ ۲ آمده است.



شکل شمارهٔ ۲. نتیجهٔ الکتروفورز تعدادی از محصولات PCR تیمارشده با آنزیم BCCI که در همگی، باند برش‌نخوردهٔ ۳۸۰ جفت‌بازی مشاهده شد، به همراه نتیجه سکانس نمونه‌های مشخص‌شده بر روی ژل‌ها که همگی ژنوتیپ TT دارند.

با توجه به اینکه در جامعهٔ مطالعه‌شده (سالم و بیمار)، همهٔ نمونه‌ها پس از تیمار با آنزیم مدنظر، ژنوتیپ TT را نشان دادند، فراوانی ژنوتیپ TT، ۴۰۰ مورد و فراوانی آلل T، ۸۰۰ مورد گزارش شد. همان‌طور که مشاهده گردید، تفاوتی میان فراوانی ژنوتیپ‌ها و آلل‌های پلی‌مورفیسم rs13476 در دو جمعیت سالم و بیمار یادشده وجود ندارد و این نتایج نشان‌دهندهٔ ارتباط نداشتن پلی‌مورفیسم rs13476 با خطر بروز دیابت است.

بحث و نتیجه‌گیری

در این پژوهش آشکار شد که پلی‌مورفیسم rs13476 در ژن کدکنندهٔ lnc-GAS5 که در محل اینتراکشن با miR-326 است، همراهی و ارتباطی با خطر بروز بیماری دیابت نوع دو ندارد. این مطالعه اولین بررسی بر روی واریانت‌های ژن lnc-GAS5 و ارتباط آن‌ها با بیماری دیابت است. با توجه به اینکه آزمایش‌های گوناگون اساس و پایهٔ ژنتیک در دیابت را برای میزان حساسیت به انسولین و ترشح آن تأیید کردند، نقش ژنتیک در دیابت نوع دو پذیرفته‌شده است (۱۲، ۱۱).

مطالعات نشان داد که سطح بیان lnc-GAS5 در سرم بیماران دیابت ملیتوس، به‌صورت معناداری کاهش می‌یابد، به‌طوری‌که کاهش غلظت سرم این RNAهای

چرخشی می‌تواند به‌عنوان بیومارکر، در تشخیص افراد مبتلا به دیابت نوع دو ملیتوس استفاده شود (۱). در بررسی سازوکار عمل lnc RNAهای کدشونده توسط GAS5 مشخص‌شده است که این RNAها می‌توانند به‌صورت مستقیم، با دامنهٔ متصل‌شونده به DNA در گیرنده‌های گلوکوکورتیکوئیدی برهم‌کنش دهند که این امر می‌تواند سبب مهار برهم‌کنش گیرندهٔ گلوکوکورتیکوئید با ژن‌های هدف خود شود و درنتیجه، رونویسی از ژن‌های هدف گیرنده‌های گلوکوکورتیکوئیدی مهار می‌گردد (۱۳)؛ همچنین در سال ۲۰۱۹، نحوهٔ عملکرد lncRNA GAS5 را در بافت آدیپوز مطالعه کردند و نشان دادند که این lncRNA از طریق اتصال به پروموتر گیرندهٔ انسولین، سطح بیان آن را تنظیم می‌کند و کاهش آن، مانع از جذب گلوکز و سیگنالینگ انسولین می‌شود (۳).

در مطالعه‌ای در سال ۲۰۲۰ نشان داده شد که lncRNAهای در گردش H19 و GAS5 ممکن است با شیوع دیابت نوع دوم در ارتباط باشد؛ اما ممکن است نقش مهم تشخیصی / پیش‌آگهی در رتینوپاتی دیابت یا پاسخ زودهنگام تزریق داخل‌رحمی در بیماران مبتلا به رتینوپاتی نداشته باشد (۱۴).

در پژوهشی در سال ۲۰۱۹ نشان داده شد که lncRNA GAS5 با اسفنج miR-221، در پیشرفت نفروپاتی دیابت نقش دارد و به تشخیص و درمان‌های lncRNAدر این زمینه کمک خواهد کرد (۱۵). در همان سال، به نقش GAS5 به‌عنوان اسفنجی برای miR-222 در کنترل سطح بیان ژن p27 و به دنبال آن، تنظیم تکثیر و تهاجم سلول‌های بافت سرطان اندومتریال استخراج‌شده از بیماران دیابتی نیز اشاره‌شده است (۱۶).

نتایج بررسی پایگاه دادهٔ dbSNP نیز نشان داد که به‌صورت میانگین، فراوانی عمومی آللی برای آلل T در پلی‌مورفیسم rs13476، در جمعیت‌های گوناگون متفاوت است، به‌گونه‌ای که فراوانی این آلل در جمعیت آسیای شرقی و آسیای غربی، هرکدام ۱۰۰ درصد گزارش‌شده، درحالی‌که این فراوانی در جمعیت‌های افریقا و امریکا، به ترتیب ۶۵ و ۹۷ درصد گزارش‌شده است (۱۷). فراوانی آلل T در جمعیت مطالعه‌شده در پژوهش حاضر نیز، ۱۰۰ درصد به دست آمد که این تفاوت‌ها و شباهت‌ها در گزارش‌ها را می‌توان به تفاوت‌ها و شباهت‌های قومیتی و نژادی جمعیت‌های مطالعه‌شده نسبت داد.

این مطالعه، گزارشی برای پذیرش و یا رد ارتباط میان پلی‌مورفیسم ژن lnc-GAS5 و خطر بروز دیابت نوع ۲ در جمعیت اصفهان و کاربرد آن در علم پزشکی برای تعیین ژنوتیپ افراد و بررسی پرخطر بودن آن‌ها برای ابتلا به دیابت است و ازآنجاکه ارتباط معناداری مشاهده نشد، با مطالعات بیشتر در سایر جوامع می‌توان به نتیجهٔ جامع‌تری برای غربالگری دست یافت.

نتایج به‌دست‌آمده از این پژوهش نشان داد که در جمعیت مطالعه‌شده، آلل T به‌عنوان آلل غالب بوده و آلل A در جمعیت یادشده مشاهده نشده است؛ بنابراین می‌توان با تعمیم نتایج به‌دست‌آمده، به‌عنوان نتایج نمونه‌ای تصادفی از جمعیت بیماران دیابتی استان اصفهان بیان داشت که در جمعیت اصفهان، ژنوتیپ اصلی برای پلی‌مورفیسم rs13476 در ژن کدکنندهٔ lncRNA GAS5، ژنوتیپ TT است. با توجه به ارتباط نداشتن پلی‌مورفیسم مدنظر با خطر ابتلا به دیابت در جمعیت مطالعه‌شده، این مرتبط نبودن می‌تواند یا به علت تعداد اندک نمونه‌های مطالعه‌شده باشد و یا پلی‌مورفیسم rs13476 در بروز بیماری دیابت نقشی ندارد.

سپاس‌گزاری

این مقاله برگرفته از پایان‌نامهٔ کارشناسی ارشد و تحت حمایت معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد است. نویسندگان از همهٔ افرادی که در جمع‌آوری نمونه‌های خون در این پژوهش یاری رساندند، کمال تشکر و قدردانی را دارند.

کد اخلاق: IR.IAU.SHK.REC.1398.021

References

1.Carter G, Miladinovic B, Patel AA, Deland L, Mastorides S, Patel NA. Circulating long noncoding RNA GAS5 levels are correlated to prevalence of type 2

diabetes mellitus. BBA clinical. 2015;4:102-7. doi.10.1016/j.bbacli.2015.09.001.

2.Sari S, Badr R. The association of miR-27a (rs89581 (۹polymorphism with the risk of type 2 diabetes. J Shahrekord Uui Med Sci 2017;19:22-8.

3. Shi Y, Parag S, Patel R, Lui A, Murr M, Cai J, et al. Stabilization of lncRNA GAS5 by a small molecule and its implications in diabetic adipocytes. Cell Chem Biol 2019;26:319 330. doi.10.1016/j.chembiol.2018.11.012.

4.Jalali S, Bhartiya D, Lalwani MK, Sivasubbu S, Scaria V. Systematic transcriptome wide analysis of lncRNA-miRNA interactions. Plos One 2013;8:53823. doi. 10.1371/journal.pone.0053823.

5.Bayoumi AS, Sayed A, Broskova Z, Teoh JP, Wilson J, Su H, et al. Crosstalk between long noncoding RNAs and microRNAs in health and disease. Int J Mole Sci 2016;17:356. doi. 10.3390/ijms17030356.

6. Minotti L, Agnoletto C, Baldassari F, Corra F, Volinia S. SNPs and somatic mutation on long non coding RNA new frontier in the cancer studies? High Throughput 2018 ; 7:131-6. doi.10.3390/ht7040034.

7. Huang X, Zhang W, Shao Z. Association between long non coding RNA polymorphisms and cancer risk a meta analysis. Biosci Rep 2018;38:121-8. doi.10.1042/BSR20180365.

8. Castellanos A, Ghosh S. Disease associated SNPs in Inflammation related lncRNAs. Front Immunol2019;10:420. doi.10.3389/fimmu.2019.00420.

9.Gong J, Liu W, Zhang J, Miao X, Guo AY. lncRNASNP a database of SNPs in lncRNAs and their potential functions in human and mouse. Nucle Acids Res 2014;43:181-6. doi.10.1093/nar/gku1000.

10. Alberti KG, Zimmet PZ. Definition diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Diabet Med 1998;15:539-53. doi.10.1002/(SICI)1096-9136(199807)15:7<539

11. Cash JC, Glass CA. Family practice guidelines. 1th ed. Springer Publication Comp. 2010;P.2114.

12. Cheng J, Kapranov P, Drenkow J, Dike S, Brubaker S, Patel S, et al. Transcriptional maps of 10 human chromosomes at 5nucleotide resolution. Science 2005; 308:1149-54. doi. 10.1126/science.1108625

13. Kino T, Hurt DE, Ichijo T, Nader N, Chrousos GP .Noncoding RNA gas5 is a growth arrest and starvation associated repressor of the glucocorticoid receptor. Sci Sig2010;3:8. doi. 10.1126/scisignal.2000568.

14. Fawzy MS, Abdelghany AA, Toraih EA, Mohamed AM. Circulating long noncoding RNAs H19 and GAS5 are associated with type 2 diabetes but not with diabetic retinopathy a preliminary study. Bosn J Bas Med Sci2020;20:365-371. doi.10.17305/bjbms.2019.4533.

15. Ge X, Xu B, Xu W. Long noncoding RNA GAS5 inhibits cell proliferation and fibrosis in diabetic nephropathy by sponging miR221 and modulating SIRT1 expression. Ag Albany NY2019;11:8745-9. doi.10.18632/aging.102249.

16. Li Z, Yu Z, Meng X, Zhou S, Xiao S, Li X. Long noncoding RNA GAS5 impairs the proliferation and invasion of endometrial carcinoma induced by high glucose via targeting miR222-3pp27. Am J Trans Res 2019 ;11:2413-21.

17.Chen F, Li Y, Li M, Wang L. Long noncoding RNA GAS5 inhibits metastasis by targeting miR-182ANGPTL1 in hepatocellular carcinoma. Am J Cancer Res 2019;9:108-21.

Association of Rs13476 Polymorphism in lncRNA GAS5 Encoding Gene with Type 2 Diabetes in Isfahan, Iran

Amini A[1], Peymani M[1]*

(Received: March 3, 2020 Accepted: December 27, 2020)

Abstract

Introduction: Gas5 lncRNA is a long non-coded RNA that is involved in regulating gene expression. Studies have shown that the expression of GAS5 lncRNA is reduced in the serum of diabetic patients. Considering the role of GAS5 lncRNA, the present study aimed to investigate the association between rs13476 polymorphism in the gene encoding this lncRNA with the incidence of type 2 diabetes in Isfahan, Iran.

Materials & Methods: This case-control study was conducted on 200 healthy individuals and 200 patients with type 2 diabetes who were randomly selected from the target population. The individuals' genotypes were determined for the polymorphism using the PCR-RFLP method, and some samples were sequenced to confirm the results. Afterward, the frequency of genotypes, and consequently, the frequency of alleles was analyzed in order to obtain the relationship of this polymorphism with risk of type 2 diabetes, gender, and disease incidence.

Ethics code: IR.IAU.SHK.REC.1398.021

Findings: After amplification of 380 bp fragment containing rs13476 polymorphism in all samples and then enzymatic digestion by BCCI, all samples showed TT genotype. Moreover, the sequence results of a number of samples confirmed the results of enzymatic digestion. The frequency of TT genotype in the target population was 400 cases (100%), and the frequency of T allele was 800 cases. On the other hand, allele A was not observed in the target population.

Discussions & Conclusions: Due to the lack of association between polymorphism and risk of diabetes in this population, this polymorphism cannot be used to screen diabetic patients in Isfahan, Iran. Further studies are required to evaluate the importance of polymorphism studied in different populations.

Keywords: Diabetes type 2, Inc-GAS5, SNP Polymorphism

1.Dept of Biology, Faculty of Basic Sciences, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran
** Corresponding author Email: m.peymani@iaushk.ac.ir, Peymani62_m@yahoo.com*