

مطالعه ارتباط پلی مورفیسم rs13476 در ژن کدکننده IncRNA 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 پذیرش: ۱۳۹۹/۱۰/۷

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۱۲/۱۳

چکیده

مقدمه: IncRNA GAS5 یک RNA طولیل غیر کدشونده است و در تنظیم بیان ژن‌ها نقش دارد. مطالعات نشان داده‌اند که بیان IncRNA GAS5 در سرم بیماران دیابتی کاهش می‌یابد. با توجه به نقش IncRNA GAS5، هدف پژوهش حاضر بررسی ارتباط بین پلی مورفیسم rs13476 در ژن کدکننده این IncRNA 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 پلی مورفیسم 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 پلی مورفیسم با خطر ابتلا به دیابت نوع دو، جنس و بروز بیماری آنالیز شد.

یافته‌های پژوهش: پس از تکثیر قطعه ۳۸۰ جفت‌بازی حاوی پلی مورفیسم rs13476 در همه نمونه‌ها و سپس هضم آنزیمی آن‌ها توسط آنزیم BCCI، همه 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 نبود ارتباط پلی مورفیسم مدنظر با خطر ابتلا به دیابت در این جمعیت، از این پلی مورفیسم نمی‌توان برای غربالگری بیماران دیابتی در جمعیت مدنظر استفاده کرد. مطالعات بیشتر در زمینه ارزیابی اهمیت پلی مورفیسم مطالعه‌شده در جمعیت‌های گوناگون ضروری است.

واژه‌های کلیدی: پلی مورفیسم SNP، IncRNA GAS5، دیابت نوع دو

* نویسنده مسئول: دانشیار گروه زیست‌شناسی، دانشکده 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 زمینه ژنتیکی و محیطی دارد. مطالعات نشان داده‌اند که احتمالاً بروز پاسخ‌های خودایمنی، نفوسیت‌های T، آنتی‌بادی‌ها، ماکروفاژها و عوامل محیطی مانند استرس، فشار، هیجان‌های روحی و داروها در بروز این بیماری مؤثرند (۱، ۲). اگرچه بر اساس مطالعات آماری و جغرافیایی، بیشترین میزان شیوع این بیماری در کشورهای آمریکایی و شرق میانی گزارش شده 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 (۳).

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

از یک سو، مطالعات متعددی پیشنهاد می‌کنند که پیچیدگی ژرفی میان IncRNAs و miRNAs در تنظیم فعالیت نسخه برداری وجود دارد. مطالعات بیوانفورماتیک بر روی تارگت سایت IncRNAها، شبکه گسترده‌ای از برهم‌کنش IncRNAs و miRNAs را نشان می‌دهد (۴). اعتقاد بر این است که IncRNAها تأثیری مشابه اسفنج، بر روی miRNAهای گوناگون دارد که در نهایت، عملکردهای وابسته به miRNAs را متوقف می‌کند (۵). از سوی دیگر، پلی مورفیسم‌ها در سطح IncRNAها می‌توانند تغییراتی در ساختار ثانویه

IncRNA ایجاد کنند و به دنبال آن، میزان تمایل به اتصال به miRNAهای مورد هدف را تحت تأثیر قرار دهند و سطح بیان IncRNA مدنظر تغییر یابد (۶)؛ همچنین SNPهای مشاهده شده در ژن‌های کدکننده IncRNAها می‌توانند به طور مستقیم، بیان و عملکرد IncRNAها را تحت تأثیر قرار دهند و یا پایداری و پیرایش آن‌ها دستخوش تغییراتی گردد (۷، ۸).

اگرچه چندین مطالعه در زمینه بیان و عملکرد IncRNA GAS5 در دیابت نوع دو انجام شده است؛ اما بر اساس جستجو در سایت‌های معتبر علمی، تاکنون مطالعه‌ای درباره ارتباط پلی مورفیسم rs13476 در ژن کدکننده IncRNA GAS5 با دیابت نوع دو انجام نشده است. این پلی مورفیسم در موقعیت chr1:173,835,919 قرار دارد و بر اساس بررسی‌های انجام شده، با پایگاه IncRNA SNP با miR-362 در ارتباط است (۹). هدف پژوهش حاضر، بررسی ارتباط میان پلی مورفیسم rs13476 در ژن کدکننده IncRNA GAS5 با خطر بروز دیابت نوع دو در جمعیت اصفهان است.

مواد و روش‌ها

این مطالعه به صورت مورد-شاهدی، بر روی ۲۰۰ بیمار دیابتی نوع ۲ و ۲۰۰ فرد سالم به عنوان گروه کنترل انجام شد (گفتنی است انتخاب این تعداد نمونه، بر اساس امکانات و دسترسی محدود به نمونه‌ها بود). کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد، این پژوهش را با شناسه IR.IAU.SHK.REC.1398.021 تأیید و تصویب کرد. افراد دیابتی از مراجعه کنندگان به آزمایشگاه بیمارستان الزهرا اصفهان بودند. به افراد شرکت کننده 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 شماره ۱ گزارش شده است.

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

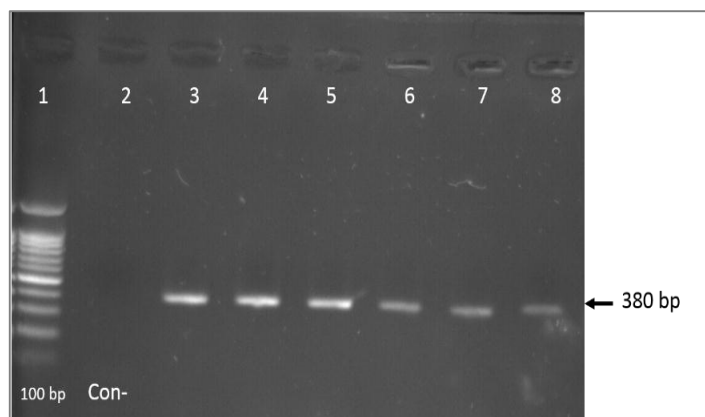
شاخص	افراد دیابتی نوع ۲	افراد سالم
قند خون ناشتا (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	189.80 ± 5.395	83.07 ± 8.90
کلسترول (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	211.76 ± 44.65	188.01 ± 38.55
تری‌گلیسیرید (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	250 ± 20	160 ± 37
هموگلوبین گلیکوزیله (درصد)	7.3 (6.72-8)	5 (4.9-5.2)

درجه سانتی‌گراد صورت گرفت؛ سپس RFLP بر روی محصول PCR برای پلی‌مورفیسم rs13476 توسط آنزیم BCCI، مطابق دستور شرکت تولیدکننده 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 به منظور تعیین ژنوتیپ برای انجام سکانس به شرکت پیشگام ارسال شد. آنالیز نتایج به دست آمده 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 رده سنی قرار داشتند و اختلاف فراوانی نمونه‌های زن و مرد میان دو گروه معنادار نبود. میانگین مقادیر FBS، TG و HbA1c در بیماران دیابتی، به طور 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 درجه آزادی یک، در حال تعادل بودند. پس از تکثیر DNA نمونه‌های جمع‌آوری شده و مشاهده محصول ۳۸۰ جفت باز (شکل شماره ۱)، محصولات PCR، برای تعیین ژنوتیپ هر یک از نمونه‌ها در هر دو جمعیت مطالعه شده، تحت هضم آنزیمی با آنزیم BCCI قرار گرفتند.

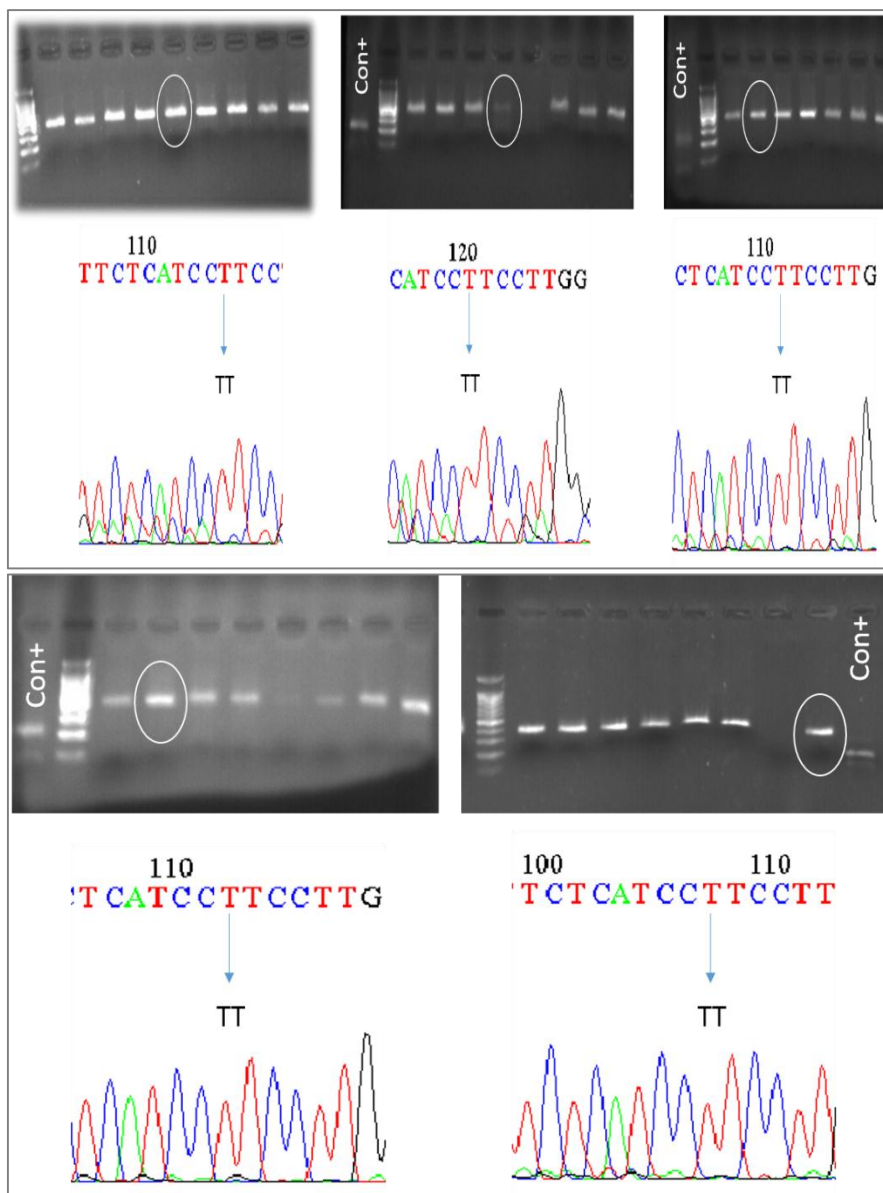
گروه کنترل از میان افراد سالم که معیارهای ابتلا به دیابت نداشتند و از لحاظ سن (±۵) و جنس با گروه بیمار، همسان‌سازی شده بودند، به طور تصادفی انتخاب گردیدند. ابتلا به دیابت با معیارهای سازمان جهانی بهداشت (WHO)، به صورت قند خون ناشتا (FBS) بالاتر از 126mg/dLit یا قند دوساعته پس از مصرف گلوکز (OGTT) بیشتر از 200mg/dLit و یا مصرف داروی ضد دیابت به تجویز پزشک تعریف شده است (۱۰). پس از جمع‌آوری ۵ میلی‌لیتر خون محیطی از جمعیت مورد مطالعه، 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 رفت و برگشت برای پلی‌مورفیسم rs13476 که دربرگیرنده ناحیه مدنظر بود، طراحی شد و اختصاصیت پرایمرهای طراحی شده در قسمت BLAST سایت NCBI ارزیابی گردید. توالی پرایمر رفت 5'- TGCCTCAGTTAA GATAATGGT-3' و توالی پرایمر برگشت 3'- CCTTATGGAC-5' و TCTGGATAGCA بود؛ سپس واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (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 هر کدام از پرایمرهای رفت و برگشت (5 pmol) ۱ میکرولیتر، ۲ میکرولیتر DNA ژنومی بود و PCR با دمای annealing ۵۷



شکل شماره ۱. الکتروفورز محصولات PCR برای قطعه حاوی پلی مورفیسم مدنظر بر روی ژل آگارز ۱ درصد باند ۳۸۰، نشان دهنده قطعه تکثیر شده مدنظر در دمای ۵۷°C است. چاهک شماره ۱ 100 bp DNA Ladder، چاهک شماره ۲ کنترل منفی و چاهک های ۳-۸ محصولات PCR تعدادی از نمونه های مطالعه شده را نشان می دهد.

که توالی آن در شکل ها مشاهده می شود و جایگاه برش آنزیم BCCI را دارد و در جایگاه برش این آنزیم فاقد پلی مورفیسم است، به عنوان کنترل مثبت کار در نظر گرفته شد و شرایط هضم آنزیمی بر روی این قطعه بهینه گردید. نتیجه هضم آنزیمی قطعه کنترل مثبت در شکل شماره ۲ نیز مشاهده می شود؛ همچنین نتایج سکانس تعدادی از نمونه ها که به صورت تصادفی انتخاب شده بودند، نتایج هضم آنزیمی را تأیید کردند که در شکل شماره ۲ آمده است.

در پژوهش حاضر، قطعاتی با اندازه های ۳۸۰ bp نشان دهنده ژنوتیپ (TT)، قطعاتی با اندازه های ۱۵۴، ۲۲۶ و ۳۸۰ bp نشان دهنده ژنوتیپ (TA) و قطعاتی با اندازه های ۱۵۴ و ۲۲۶ bp نشان دهنده ژنوتیپ (AA) است که نتایج هضم آنزیمی در شکل شماره ۲ قابل مشاهده است. در جمعیت مطالعه شده، هیچ نمونه ای مشاهده نگردید که قابلیت برش در حضور آنزیم مدنظر را داشته باشد. برای تأیید نتایج حاصل از تیمار با آنزیم، تعدادی از نمونه ها برای سکانس ارسال گردید و این نتایج تأیید شد. برای اطمینان از عملکرد آنزیم، قطعه ای



شکل شماره ۲. نتیجه الکتروفورز تعدادی از محصولات PCR تیمار شده با آنزیم BCCI که در همگی، باند برش نخورده ۳۸۰ جفت‌بازی مشاهده شد، به همراه نتیجه سکانس نمونه‌های مشخص شده بر روی ژل‌ها که همگی ژنوتیپ TT دارند.

اینتراکشن با miR-326 است، همراهی و ارتباطی با خطر بروز بیماری دیابت نوع دو ندارد. این مطالعه اولین بررسی بر روی واریانت‌های ژن Inc-GAS5 و ارتباط آنها با بیماری دیابت است. با توجه به اینکه آزمایش‌های گوناگون اساس و پایه ژنتیک در دیابت را برای میزان حساسیت به انسولین و ترشح آن تأیید کردند، نقش ژنتیک در دیابت نوع دو پذیرفته شده است (۱۱، ۱۲).

مطالعات نشان داد که سطح بیان Inc-GAS5 در سرم بیماران دیابت ملیتوس، به صورت معناداری کاهش می‌یابد، به طوری که کاهش غلظت سرم این RNAهای

با توجه به اینکه در جامعه مطالعه شده (سالم و بیمار)، همه 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 پلی مورفیسم rs13476 در دو جمعیت سالم و بیمار یادشده وجود ندارد و این نتایج نشان‌دهنده ارتباط نداشتن پلی مورفیسم rs13476 با خطر بروز دیابت است.

بحث و نتیجه‌گیری

در این پژوهش آشکار شد که پلی مورفیسم rs13476 در ژن کدکننده Inc-GAS5 که در محل

آسیای شرقی و آسیای غربی، هرکدام ۱۰۰ درصد گزارش شده، درحالی که این فراوانی در جمعیت‌های افریقا و امریکا، به ترتیب ۶۵ و ۹۷ درصد گزارش شده است (۱۷). فراوانی آلل T در جمعیت مطالعه شده 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 مطالعه شده نسبت داد.

این مطالعه، گزارشی برای پذیرش و یا رد ارتباط میان پلی مورفیسم 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 از آنجاکه ارتباط معناداری مشاهده نشد، با مطالعات بیشتر در سایر جوامع می‌توان به نتیجه جامع‌تری برای غربالگری دست یافت.

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

سپاس‌گزاری

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

کد/خلاق: IR.IAU.SHK.REC.1398.021

چرخشی می‌تواند به عنوان بیومارکر، در تشخیص افراد مبتلا به دیابت نوع دو ملیتوس استفاده شود (۱). در بررسی سازوکار عمل lnc RNA های کدشونده توسط GAS5 مشخص شده است که این RNA ها می‌توانند به صورت مستقیم، با دامنه متصل شونده به DNA در گیرنده‌های گلوکوکورتیکوئیدی برهم‌کنش دهند که این امر می‌تواند سبب مهار برهم‌کنش گیرنده گلوکوکورتیکوئید با ژن‌های هدف خود شود و در نتیجه، رونویسی از ژن‌های هدف گیرنده‌های گلوکوکورتیکوئیدی مهار می‌گردد (۱۳)؛ همچنین در سال ۲۰۱۹، نحوه عملکرد lncRNA GAS5 را در بافت آدیپوز مطالعه کردند و نشان دادند که این lncRNA از طریق اتصال به پروموتور گیرنده 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 lncRNA های 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 زود هنگام 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 lncRNA در این زمینه کمک خواهد کرد (۱۵). در همان سال، به نقش GAS5 به عنوان اسفنجی برای miR-222 در کنترل سطح بیان ژن p27 و به دنبال آن، تنظیم تکثیر و تهاجم سلول‌های بافت سرطان اندومتريال استخراج شده از بیماران دیابتی نیز اشاره شده است (۱۶).

نتایج بررسی پایگاه داده dbSNP نیز نشان داد که به صورت میانگین، فراوانی عمومی آللی برای آلل T در پلی مورفیسم rs13476، در جمعیت‌های گوناگون متفاوت است، به گونه‌ای که فراوانی این آلل در جمعیت

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) polymorphism 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 Immunol*2019;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 Sig*2010;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 Sci*2020;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 NY*2019;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 A¹, 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*

Scientific Journal of Ilam University of Medical Sciences