



دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی فسا
دانشکده پزشکی

پایان نامه برای اخذ درجه کارشناسی ارشد بیوشیمی بالینی

عنوان :

بررسی سطح **microRNA** های ۲۲ ، ۲۱۴ ، و ۴۲۳ در آگزوزوم های ادرار بیماران مبتلا به نفروپاتی دیابتی نوع دو به
عنوان بیومارکرهای تشخیصی جدید

نگارنده :

علی غفوریان

استاد راهنما :

دکتر بهرام موحدی

استاد مشاور :

دکتر علی قنبری

شهریور ماه ۱۴۰۰

شماره پایان نامه : ۱۳۲

چکیده:

مقدمه: به دلیل اهمیت سلامت کلیه در بیماران دیابتی، تست میکروآلبومینوری برای سنجش میزان آسیب های کلیوی استانداردسازی شده است. اما به علت محدودیت های قدرت پیش بینی و عدم اختصاصیت و حساسیت کافی در استفاده از میکروآلبومینوری بعنوان بیومارکر، تلاش های بیشتری برای پیدا کردن بیومارکرهای حساس تر و اختصاصی تر برای تشخیص زودهنگام DN درحال انجام است. microRNAها، RNAهای کوچکی هستند که باعث تنظیم بیان ژن های هدف خود می شوند. در سلول های بافت کلیوی مبتلا به DN، سطوح بیان microRNAهای ۲۲، ۲۱۴ و ۴۲۳ دچار تغییر می شوند. از آنجایی که تغییر غلظت microRNAها در مایعات بدن نشانگر وجود شرایط پاتوفیزیولوژیک است و microRNAهای ادراری می توانند بیومارکرهای مناسبی برای تشخیص زودهنگام بیماری های کلیوی دیابتی باشند، هدف این مطالعه سنجش سطح microRNAهای ۲۲، ۲۱۴ و ۴۲۳ در اگزوزوم های ادراری به منظور پیشنهاد بیومارکرهای جدید، غیرتهاجمی و اختصاصی تر، برای تشخیص زودهنگام DN می باشد.

روش کار: ادرار صبحگاهی افراد سالم و افراد مبتلا به دیابت نوع دو را به کمک تست میکروآلبومینوری، به سه گروه ۱۲ تایی تقسیم کردیم (گروه کنترل، گروه افراد دیابتی با آلبومینوری نرمال، گروه افراد دیابتی دارای میکروآلبومینوری). سپس اگزوزوم های ادراری بوسیله کیت شرکت آگروسیب استخراج شد و سپس microRNAهای اگزوزومی بوسیله ترايزول GeneALL استخراج شدند. رونویسی معکوس microRNAها به cDNA بوسیله پرایمرهای اختصاصی Stem-loop انجام شد و بررسی تفاوت سطح microRNAها بوسیله تکنیک Real-time PCR انجام گرفت.

نتایج: میانگین سطح miR-۲۲ و miR-۲۱۴ در گروه C نسبت به گروه A و B افزایش معنادار داشت و سطح miR-۴۲۳ در گروه C نسبت به A و B کاهش معنادار داشت (PValue > ۰/۰۵). میانگین سطح miR-۲۲ و miR-۲۱۴ در گروه B نسبت به A افزایش معنادار نداشت اما سطح miR-۴۲۳ در گروه B نسبت به A کاهش معنادار داشت.

نتیجه گیری: می توان از microRNAهای ۲۲ و ۲۱۴ بعنوان بیومارکرهای جدید و غیرتهاجمی برای تشخیص زودهنگام نروپاتی دیابتی استفاده کرد.

کلید واژه ها: microRNA، اگزوزوم، دیابت نوع دو، نروپاتی دیابتی، میکروآلبومینوری

Abstract

Background: Due to the importance of measuring kidney health in patients with diabetes, microalbuminuria tests have been standardized to measure the extent of kidney damage. Research has shown that due to limited predictive power and lack of specificity and sensitivity in using microalbuminuria as a diagnostic biomarker, more efforts are being made to find more sensitive and specific biomarkers than microalbuminuria for early diagnosis of diabetic nephropathy is in processing. Because microRNAs from urinary exosomes can be good biomarkers for early diagnosis of diabetic kidney disease as well as potential therapeutic targets The aim of this study was to detect differences in the expression of microRNAs 22, 214 and 423 in the urinary exosomes of patients with type 2 diabetes, in order to propose a new profile for early diagnosis of type 2 diabetic nephropathy.

Material and methods: We divided the morning urine collected from healthy people and people with type 2 diabetes into three groups of 12 using urinary microalbumin test. Urinary exosomes were then extracted by ExoCib Company kit and then exosomal microRNAs were extracted manually by trizol reagent. Reverse transcription of microRNAs to cDNA was performed by SMOBIO kit using specific Stem-loop RT-PCR primers and finally the difference in expression of microRNAs was performed by Real-time PCR technique. Finally, the analysis of differences in the expression of microRNAs with each other in different groups was performed by 2^{-Ct} method.

Results: The results of this study showed that the mean levels of miR-22 and miR-214 in group C increased significantly compared to groups A and B (PValue < 0,05). Also, the mean level of miR-423 in group C was significantly lower than groups A and B (PValue < 0,05). In another comparison, it was shown that the mean levels of miR-22 and miR-214 in group B did not increase significantly compared to group A (PValue > 0,05) but the mean level of miR-423 in group B decreased significantly compared to group A (PValue < 0,05).

Conclusion: The results of this study showed that microRNAs 22 and 214 can be used as new and non-invasive biomarkers predicting diabetic nephropathy.

Key words: micro RNA, Type 2 Diabetes, diabetic nephropathy, urinary exosomes