مقاله تحقیقی

مجله دانشگاه علوم پزشکی بابل
دوره بیستم، شمارهٔ ۴، فروردین ۱۳۹۷، صفحه ۲۹-۲۴

مقایسه سطح پلاسمایی RNA طویل غیرکدکننده BDNF-AS در بیماران مبتلا به آلزایمر با افراد سالم

رقیه عزیزی آقاعلی (MSc)[۱]، محمد خلج کندری (PhD)[۱*]، نرگس زینال زاده (PhD)[۱]، محمد علی حسین پور فیضی (PhD)[۱]، مهدی فرهودی (MD)[۲]، مهناز طالبی (MD)[۲]

۱-گروه زیست شناسی، دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران
۲-مرکز تحقیقات علوم اعصاب، دانشکده علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

دریافت: ۹۶/۸/۸، اصلاح: ۹۶/۱۱/۱۰، پذیرش: ۹۷/۱۲/۵

خلاصه

سابقه و هدف: تشخیص بیماری آلزایمر معمولا زمانی صورت می‌گیرد که آسیب های جدی به مغز وارد شده و درمان‌های رایج در ممانعت از آن ناکارآمد هستند. یکی از RNAهای دخیل در بیماری آلزایمر، RNA غیرکدکننده بلند بنام BDNF antisense(BDNF-AS) می‌باشد. این مطالعه با هدف بررسی حضور و مقایسه سطح BDNF-AS در پلاسمای بیماران آلزایمری و افراد سالم و ارزیابی پتانسیل آن به عنوان نشانگر پلاسمایی برای بیماری آلزایمر صورت گرفت.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه مورد-شاهدی، ۳۰ فرد مبتلا به آلزایمر دیرهنگام و ۳۰ فرد سالم بدون بیماری عصبی که از نظر سن با بیماران منطبق بودند، براساس معیارهای تشخیص بالینی بیماری آلزایمر توسط پزشک متخصص انتخاب و نمونه خون وریدی آنها دریافت شد. پلاسمای نمونه‌های خونی جداسازی و RNA تام پلاسما استخراج شد. پس از سنتز cDNA، حضور BDNF-AS در پلاسما توسط PCR بررسی شد. در نهایت، مقدار نسبی رونوشت‌های BDNF-AS در نمونه‌های پلاسمای بیماران آلزایمری و سالم با استفاده از Real time PCR مورد بررسی و مقایسه قرار گرفت.

یافته ها: نتایج حاصل نشان داد کهRNA غیرکدکننده بلند BDNF-AS در پلاسمای افراد بیمار و کنترل وجود دارد و مقایسه داده‌های به دست آمده از Real time PCR نشان داد که سطوح BDNF-AS در پلاسمای گروه بیماران (۰/۰۲۱±۰/۱۰۷) افزایش معنی‌داری نسبت به افراد سالم (۰/۰۰۶±۰/۰۳۹)دارد.

نتیجه گیری: نتایج حاصل از این بررسی اولیه نشان می‌دهد که شاید بتوان از مقدارRNA غیرکدکننده بلند BDNF-AS در پلاسما، به عنوان نشانگر خونی/پلاسمایی برای تشخیص بیماری آلزایمر استفاده کرد.

واژه های کلیدی: بیماری آلزایمر، BDNF-AS، نشانگر زیستی.

مقدمه

بیماری آلزایمر یکی از بیماری‌های تحلیل عصبی شایع می‌باشد و اغلب موارد زوال عقل را در افراد پیر سراسر دنیا تشکیل می‌دهد(۱). با این وجود تعداد اندکی از افراد در سنین میانسالی به این بیماری مبتلا می‌شوند که درنتیجه، این بیماری به شکل‌های زودهنگام و دیرهنگام طبقه‌بندی می‌شود (۲). آلزایمر دیرهنگام در سنین بالاتر از ۶۵ سال بروز می‌کند و تحقیقات مختلف نشان می دهد که تعاملات پیچیده بین عوامل ژنتیک، اپی‌ژنتیک و محیط عامل بروز آن می‌باشد(۳). با این وجود، نقش اصلی در ایجاد بیماری آلزایمر را پروتئین آمیلوئید بتا (Aβ) بازی می‌کند که از شکافت پروتئولیتیکی پروتئین پیش‌ساز آمیلوئید بتا (Amyloid Precursor Protein =APP) حاصل می‌شود(۴و۵). عدم تعادل بین تولید و پاک‌سازی و در نتیجه تجمع پپتیدهای Aβ منجر به افزایش میزان Aβ می‌شود که این پدیده می‌تواند یک عامل شروع‌کننده برای بیماری آلزایمر باشد(۴). عامل دیگر در ایجاد بیماری آلزایمر پروتئین تاو می‌باشد. در مغز بیماران آلزایمری پروتئین تاو به صورت غیر طبیعی هایپرفسفریله است و با یک استوکیومتری حداقل ۳ برابر بیشتر از تاو طبیعی یک مشخصه بافت‌شناسی بیماری است (۶). شواهد رو به رشدی نشان می‌دهند که کاهش سطوح عامل نوروتروفیک مشتق شده از مغز (Brain derived neurotrophic factor =BDNF) می‌تواند مرتبط با پاتوژنز بیماری آلزایمر باشد (۷و۸). BDNF یکی از مهمترین عوامل دخیل در نوروژنز و پلاستیستی سیناپس ها می باشد و کاهش آن در مغز بویژه هیپوکمپ به آسیب حافظه و یادگیری می انجامد، فرآیندی که وقوع آن در آلزایمر اثبات شده است (۸). بررسی سطح سرمی BDNF در بیماران آلزایمر پیشرفته و خفیف نشان داده است که سطح سرمی آن در بیماری آلزایمر نسبت به افراد سالم دچار کاهش می شود (۸و۹). این مطالعات نشان می

▣ این مقاله حاصل بخشی از نتایج پایان نامه رقیه عزیزی آقاعلی دانشجوی کارشناسی ارشد رشته ژنتیک دانشگاه تبریز و طرح تحقیقاتی به شماره ۲۷۱۷ مصوب ستاد توسعه علوم و فناوریهای شناختی می باشد.

* مسئول مقاله: دکتر محمد خلج کندری
آدرس: تبریز، بلوار ۲۹ بهمن، دانشگاه تبریز، دانشکده علوم طبیعی، گروه علوم جانوری. تلفن: ۳۳۳۶-۶۵۹۸-۰۴۱
E-mail: khalaj@tabrizu.ac.ir

[DOR: 20.1001.1.15614107.1397.20.4.4.8]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.20.4.24]

دهند که اختلال در تنظیم رونویسی و ترجمه BDNF می تواند با کاهش بیان آن به روند تحلیل قوای شناختی در پیشرفت بیماری آلزایمر کمک کند. لذا تلاش‌های زیادی برای درک نحوه تنظیم رونویسی و ترجمهBDNF صورت گرفته است. در طی چند سال گذشته، گزارش شده است که رونوشت‌های آنتی-سنس طبیعی (Natural antisense transcripts =NATs) به طور بالقوه در اکثر اختلالات انسان شامل بیماری آلزایمر، بیماری پارکینسون، سندرم x شکننده و غیره درگیر می‌باشند(۱۰).

NATها عموما از رشته مقابل سنس بسیاری از ژن‌های کدکننده پروتئین منشا می‌گیرند و اغلب در بخشی با mRNA، پروموتر و مناطق تنظیمی هم-پوشانی دارند(۱۱). مطالعات نشان داده است که BDNF با یک رونوشت آنتی-سنس بنام BDNF-AS که از رشته مقابل آن بیان می‌شود، تنظیم می‌شود. BDNF-AS یک RNA بلند غیرکدکننده (lncRNA) می‌باشد و جزو رونوشت‌های آنتی‌سنس طبیعی محسوب می‌شود. این ژن به طول حدود kb ۱۹۱، روی کروموزوم ۱۱ قرار دارد و شامل حداقل ۱۰ اگزون می‌باشد که توسط یک پروموتر رونویسی می‌شوند(۱۲). اگزون ۵ ژن BDNF-AS حدود ۲۲۵ نوکلئوتید با همه واریانت‌های ژن BDNF هم‌پوشانی کامل دارد. بنابراین، می-تواند با BDNF mRNA دوبلکس RNA-RNA تشکیل داده، در تنظیم پایداری و ترجمه BDNF اثرگذار باشد (۱۱) و بدین ترتیب می‌تواند در روند پیشرفت آلزایمر دخالت داشته باشد. هر دو رونوشت BDNF و BDNF-AS در بسیاری از بافت‌ها هم‌بیان هستند که نشان از ارتباط تنظیمی بین آنها می باشد(۱۲).

در حال حاضر تشخیص بیماری آلزایمر زمانی صورت می‌گیرد که آسیب‌های شدید و غیر قابل برگشتی در مغز اتفاق افتاده است و این وضعیت، درمان و حتی ممانعت از پیشرفت بیماری را غیرممکن می‌سازد (۱۳). مطالعات نشان داده است که شروع آسیب‌های منجر به آلزایمر به سالها قبل بر می‌گردد زمانی که تغییرات پروفایل بیانی ژن‌ها در مغز اتفاق می‌افتد. تشخیص زودهنگام این تغییرات ممکن است اقدامات لازم برای جلوگیری از پیشرفت بیماری و توسعه درمان‌های موثر، مفید باشد(۱۴). اما بافت مغز برای تشخیص زودهنگام تغییرات بیان ژنها، در دسترس نمی‌باشد. از طرفی، مایع مغزی-نخاعی (Cerebrospinal fluid =CSF) منبع خوبی برای تحقیق و تشخیص در مورد بیماری‌های تحلیل عصبی از جمله آلزایمر می‌باشد اما کاربرد بالینی آن به دلیل تهاجمی بودن روش، به ویژه در افراد سالمند محدود می‌باشد. گذشته از آن، نیاز به افراد بسیار ماهر، آن را برای استفاده‌های معمول نامناسب می‌سازد.

بنابراین، شناسایی بیومارکرهای جدید مقرون به صرفه و غیرتهاجمی که امکان شناسایی زودهنگام آلزایمر را فراهم کند، ضروری به نظر می رسد. پلاسما یک مایع بدنی پیچیده حاوی پروتئین‌ها، پپتیدها، لیپیدها و متابولیت‌ها می‌باشد که فعالیت‌های مختلف فیزیولوژیکی و پاتولوژیکی اندام‌های مختلف بدن از جمله سیستم عصبی مرکزی (Central Nervous System =CNS) را منعکس می‌کند و می‌تواند منبع مناسبی از نشانگرهای زیستی بیماریهای مختلف از جمله بیماری‌های تحلیل عصبی مثل آلزایمر باشد(۱۴).

لذا این مطالعه با هدف بررسی حضور و مقایسه سطح BDNF-AS در پلاسمای بیماران آلزایمری و افراد سالم و ارزیابی پتانسیل آن به عنوان نشانگر پلاسمایی برای بیماری آلزایمر صورت گرفت.

مواد و روش‌ها

این مطالعه مورد شاهدی پس از تصویب در کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی تبریز با کد TBZMED.REC. ۱۳۹۴.۱۰۰۰ بر روی ۳۰ نفر از مراجعه کننده به کلینیک اعصاب بیمارستان امام رضا (ع) تبریز انجام شد. تشخیص بیماری توسط متخصص بیماری‌های مغز و اعصاب بر اساس معیارهای انستیتو ملی انجمن آلزایمر و پیری (NIA-AA) انجام شد و افراد کنترل نیز به تعداد ۳۰ نفر از بین افرادی که هیچگونه بیماری اعصاب نداشتند و از لحاظ سنی با بیماران هماهنگ بودند با معاینه پزشک متخصص انتخاب شدند.

افراد تحت مطالعه در صورت نداشتن رضایت، عدم مطابقت علایم با معیارهای تشخیص آلزایمر، دمانس های قابل برگشت شامل هیپوتیرویدی، کمبود ویتامینهایE, B1, B12، الکلیسم، مصرف داروهای سایکوتیک، افسردگی شدید، نارسایی کبدی، نارسایی کلیوی، ضایعات فضاگیر مغزی، سابقه هماتوم ساب دورال، سابقه ترومای مغزی، سابقه عفونت و آنسفالیت مغزی، NPH و دمانس های غیرآلزایمر مانند دمانس لوب فرونتال و دمانس lewy body از مطالعه خارج شدند. از افراد شرکت کننده و یا قیم آنها رضایت آگاهانه اخذ شد و خون‌گیری از افراد صورت گرفت. پس از خونگیری، پلاسمای نمونه‌ها جداسازی و به فریزر۸۰- درجه سانتیگراد منتقل گردید.

به منظور استخراج RNA، ابتدا پلاسمای مورد نظر از فریزر ۸۰- درجه سانتیگراد خارج و سپس با استفاده از محلول تریزول شرکت Ambion، استخراج RNA طبق پروتکل شرکت سازنده از نمونه‌های پلاسما انجام شد. پس از استخراج RNA، غلظت و کیفیت RNA با استفاده از دستگاه نانودراپ بررسی شد. قبل از سنتز cDNA برای حذف آلودگی احتمالی DNA، تیمار با آنزیم DNase I (Thermo Scientific) صورت گرفت. پس از تیمار، با استفاده از کیت PrimeScript™ RT reagent Kit ساخت شرکت Takara از روی RNAی به دست آمده از هر نمونه، cDNA سنتز شد. برای نشان دادن حضور یا عدم حضور BDNF-AS در پلاسما از واکنش PCR استفاده شد. واکنشهای PCR در حجم نهایی ۲۵ میکرولیت با شرایط؛ واسرشت-سازی اولیه در دمای ۹۴ درجه سانتیگراد به مدت ۳ دقیقه، ۳۵ چرخه شامل واسرشت‌سازی در دمای ۹۴ درجه سانتیگراد به مدت ۳۰ ثانیه، اتصال پرایمر در دمای ۶۰ درجه سانتیگراد به مدت ۳۰ ثانیه گسترش در دمای ۷۲ درجه سانتیگراد به مدت ۱۵ ثانیه و گسترش نهایی در دمای ۷۲ درجه سانتیگراد به مدت ۵ دقیقه انجام گرفت. تکثیر با پرایمرهای BDNF-AS رفت 5- TGTAGAGATGAGCCCAAGGA -3 و برگشت 5- TGGTTAGATGAATTTGTGCTGT -3 و پرایمرهای ژن RNU6 رفت 5- CTCGCTTCGGCAGCACAT -3 و برگشت 5- GGAACGCTTCACGAATTTGC -3 به عنوان کنترل داخلی که توسط نرم‌افزار Gene Runner طراحی شدند، انجام شد.

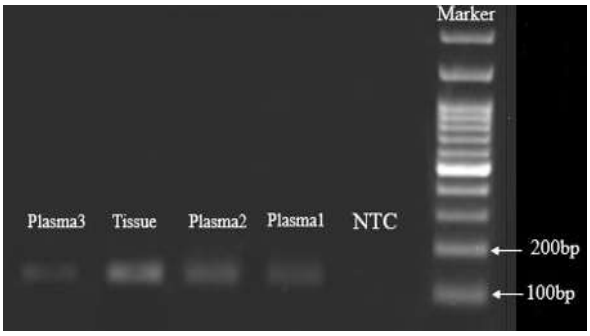
پرایمرها توسط شرکت Metabion آلمان سنتز شدند. برای انجام واکنش PCR، ۵ میکرولیتر Master mix2x، ۰/۳ میکرولیتر از هر پرایمر رفت و برگشت با غلظت ۱۰pmol، ۱ میکرولیتر cDNA و ۳/۴ میکرولیتر آب دوبار تقطیر به هر ویال واکنش افزوده گردید. حجم نهایی واکنش ۱۰ میکرولیتر می-باشد. واکنش در دستگاه PeQlab اجرا شد. در این آزمایشات حضور یا عدم حضور رونوشت های BDNF-AS در نمونه های پلاسما، متغیر مورد اندازه-

[DOR: 20.1001.1.15614107.1397.20.4.4.8]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.20.4.24]

گیری و معیار سنجش آن، مشاهده باند الکتروفورز حاصل از تکثیر در واکنش PCR بود. برای انجام واکنش real-time PCR، ۵ میکرولیتر Real Q Plus Master 2x ساخت شرکت Ampliqon، ۰/۲ میکرولیتر از هر پرایمر رفت و برگشت با غلظت ۱۰pmol، ۴ میکرولیتر cDNA و ۰/۸ میکرولیتر آب دوبار تقطیر به هر ویال واکنش افزوده شد. حجم نهایی واکنش ۱۰ میکرولیتر می‌باشد. واکنش در دستگاه step one plus شرکت ABI اجرا شد. برای هر نمونه دو تکرار در نظر گرفته شد و Ct میانگین برای هر نمونه محاسبه شد. از ژن RNU6 به عنوان کنترل داخلی استفاده شد. در نهایت، از فرمول $2^{-\Delta ct}$ برای برآورد سطح پلاسمایی BDNF-AS در نمونه ها استفاده شد. از آزمون آماری Independent t-test با سطح معنی داری p<۰/۰۵ برای مقایسه سطوح پلاسمایی در دو گروه استفاده شد.

یافته ها

بررسی حضور BDNF-AS در پلاسما: انجام PCR با استفاده از پرایمرهای اختصاصی BDNF-AS بر روی نمونه‌های پلاسما و الکتروفورز محصولات PCR بر روی ژل آگارز حاکی از ایجاد باند اختصاصی ۱۲۳ جفت‌بازی بود. این آزمایش بر روی ۱۰ نمونه آلزایمری و ۵ نمونه سالم انجام شد که در همه آنها تکثیر و باند اختصاصی ۱۲۳ جفت بازی مشاهده شد. نتایج حاصل از تکثیر و الکتروفورز سه نمونه در شکل ۱ نشان داده شده است. با توجه به مثبت بودن نتیجه، در ادامه تحقیق کمیت رونوشت های BDNF-AS در نمونه های پلاسما توسط real-time PCR مطالعه شد.

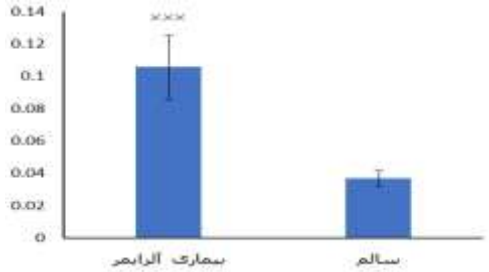


شکل ۱. ژل الکتروفورز نشان دهنده محصولات PCR مربوط به تکثیر BDNF-AS در نمونه‌های مختلف است. باندها به ترتیب Marker (اندازه نما)، NTC (کنترل منفی بدون الگو)، Plasma1,2,3 (نمونه های ۱، ۲ و ۳ پلاسمایی)، و Tissue (کنترل مثبت PCR با استفاده از نمونه بافتی کنترل).

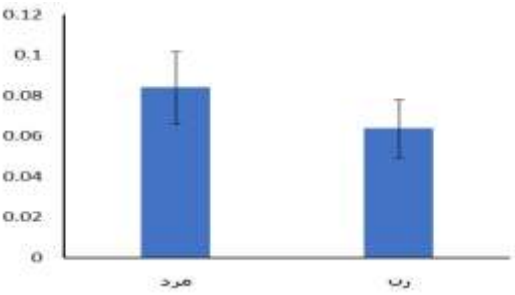
بررسی مقدار BDNF-AS در پلاسمای افراد سالم و بیمار: برای مشخص کردن مقدار BDNF-AS در نمونه های پلاسمای گروه سالم و گروه آلزایمر از روش real-time PCR کمی استفاده شد. برای نرمال‌سازی از مقدار رونوشتهای ژن RNU6 به عنوان کنترل داخلی که دارای بیان تقریبا ثابت در بافتهای مختلف است استفاده شد. نتایج حاصل نشان داد که میانگین مقادیر نسبی پلاسمایی در نمونه های آلزایمر برابر با ۰/۱۰۷±۰/۰۲۱ و در گروه افراد سالم برابر با ۰/۰۳۹±۰/۰۰۶ می‌باشد. مقایسه این اعداد نشان داد که مقدار BDNF-AS در پلاسمای گروه بیمار و گروه سالم با هم متفاوت بوده و در بیماران بالاتر است و این تفاوت به لحاظ آماری معنی‌دار می‌باشد (p<۰/۰۰۱)(نمودار ۲).

بررسی تغییرات مقدارBDNF-AS بین زنان و مردان: میانگین مقدار سطح پلاسمایی BDNF-AS در مردان برابر با ۰/۰۸۵±۰/۰۲۱ و در زنان برابر با ۰/۰۶۳±۰/۰۱۵ بود (نمودار ۳). اگرچه میانگین سطح پلاسمایی BDNF-AS در مردان بالاتر از زنان می باشد اما مقایسه این اعداد نشان داد که با بازه اطمینان ۹۵٪ تفاوت مشاهده شده در بین زنان و مردان از لحاظ آماری معنی‌دار نیست. بنابراین سطح پلاسمایی BDNF-AS ارتباطی با جنسیت افراد ندارد.

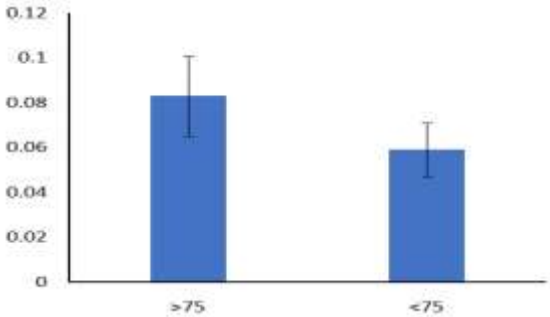
بررسی ارتباط مقادیر BDNF-AS پلاسمایی با سن: جهت بررسی ارتباط مقادیر BDNF-AS پلاسمایی با سن، نمونه های مورد آزمایش به دو گروه بالاتر از ۷۵ سال و پایین تر از ۷۵ سال تقسیم شدند. میانگین مقادیر نسبی پلاسمایی در نمونه های بالاتر از ۷۵ سال برابر با ۰/۰۸۵±۰/۰۲ و در گروه پایین-تر از ۷۵ سال برابر با ۰/۰۵۹±۰/۰۱۲ بود. میانگین سطح پلاسمایی رونوشتهای BDNF-AS در گروه افراد بالاتر از ۷۵ سال بیشتر از گروه افراد پایین تر از ۷۵ سال بود. اما این تفاوت معنی دار نمی باشد (نمودار ۴).



نمودار ۲. سطوح پلاسمایی BDNF-AS در گروه بیمار و گروه کنترل، (***) نشان‌دهنده سطح معنی‌داری در p<۰/۰۰۱ می‌باشد.



نمودار ۳. مقایسه سطوح پلاسمایی BDNF-AS بین دو جنس زن و مرد (p>۰/۰۵)



نمودار ۴. مقایسه سطوح پلاسمایی BDNF-AS بین دو گروه سنی بزرگتر از ۷۵ سال و کوچکتر از ۷۵ سال (p>۰/۰۵)

[DOR: 20.1001.1.15614107.1397.20.4.4.8]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.20.4.24]

بحث و نتیجه گیری

مطالعه حاضر نشان داد که BDNF-AS در پلاسمای افراد سالم و مبتلا به آلزایمر وجود دارد و می‌توان آن را با استفاده از روش PCR آشکارسازی کرد. همچنین مقایسه مقادیر پلاسمایی رونوشتهای BDNF-AS در گروه بیماران و افراد سالم نشان داد که سطح این RNAی بلند غیرکدکننده در پلاسمای افراد مبتلا به آلزایمر نسبت به افراد سالم دچار افزایش می شود. در مطالعات گذشته دخالت BDNF در عملکرد حافظه (۱۹-۱۶) و تغییر بیان آن در بیماری آلزایمر (۲۲-۲۰) گزارش و تایید شده است. همچنین، تاثیر BDNF-AS بر BDNF و نقش آن در عملکرد BDNF اثبات شده است(۱۱).

اما تا به حال، گزارشی در مورد سطح پلاسمایی BDNF-AS چه در افراد سالم و چه در بیماریهای مختلف ارائه نشده است. با این وجود، گزارشاتی در مورد سطح سرمی پروتئین BDNF و نه BDNF-AS در بیماران آلزایمر در دسترس می باشد. Borba و همکاران در تحقیق خود گزارش کردند که سطح سرمی پروتئین BDNF در بیماران آلزایمر کاهش می یابد (۸). گزارشات در مورد سطح سرمی پروتین BDNF متناقض می‌باشد، با این وجود، متاآنالیزی که در سال ۲۰۱۶ انجام گرفت حاکی از کاهش سطح سرمی آن در بیماران آلزایمری است (۱۵). با توجه به نقش مهاری BDNF-AS بر روی بیان ژن BDNF (۱۱)، می‌توان گفت که نتایج حاصل از مطالعه ما که نشان‌دهنده سطح بالای BDNF-AS در پلاسمای بیماران آلزایمری است با نتایج مطالعاتی که حاکی از سطح پایین BDNF در سرم بیماران مبتلا به آلزایمر است، همخوانی دارد. چراکه نشان داده شده است که مهار یا حذف BDNF-AS هم در شرایط in vitro و هم در in vivo می‌تواند سطوح BDNF را افزایش دهد (۱۱) و طبیعتا افزایش BDNF-AS به کاهش BDNF می‌انجامد. باتوجه به بالا بودن متوسط طول عمر زنان نسبت به مردان، شیوع بیماری آلزایمر در بین خانمها بیشتر از آقایان می‌باشد (۱۳). در مطالعه حاضر، مقایسه مقادیر پلاسمایی BDNF-AS در آقایان و خانمها نشان داد که بالابودن سطح پلاسمایی BDNF-AS در بیماران آلزایمری با جنسیت مرتبط نیست. این یافته نشان می‌دهد که سطح پلاسمایی BDNF-AS مستقل از جنسیت بوده و تغییر در سطح آن ناشی از بیماری آلزایمر می‌باشد و لذا می تواند نشانگر مطلوبی برای بیماری آلزایمر باشد.

گذشته از این، بیماری آلزایمر دیرهنگام، یک بیماری وابسته به سن است و با افزایش سن، احتمال ابتلاء به آلزایمر افزایش می‌یابد(۱۳). نتیجه حاصل از بررسی ارتباط سطح پلاسمایی BDNF-AS با سن، نشان داد که سطح پلاسمایی BDNF-AS با سن ارتباط معنی‌داری ندارد و لذا تغییر مشاهده شده در مقادیر پلاسمایی BDNF-AS بین افراد مبتلا به آلزایمر و گروه سالم ناشی از سن نبوده و با بیماری آلزایمر مرتبط است. در مجموع یافته‌های مطالعه حاضر نشان داد که BDNF-AS در خون و پلاسمای افراد مبتلا به بیماری آلزایمر و افراد سالم وجود دارد و با PCR قابل تشخیص است. همچنین سطح پلاسماییBDNF-AS در افراد مبتلا به آلزایمر نسبت به افراد سالم به طرز معنی‌داری بالاتر است و این بالابودن با جنسیت و سن افراد ارتباط ندارد. لذا BDNF-AS می‌تواند به عنوان نشانگر خونی/پلاسمایی بیماری آلزایمر در نظر گرفته شود.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از ستاد توسعه علوم و فناوریهای شناختی معاونت علمی ریاست جمهوری و همچنین از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه تبریز تشکر و قدردانی می گردد.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1397.20.4.4.8]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.20.4.24]

Comparison between the Plasma Levels of Long Noncoding RNA BDNF-AS in Patients with Alzheimer's disease and Healthy Subjects

R. Azizi-Aghaali (MSc)[1], M. Khalaj-Kondori (PhD)*[1], N. Zeinalzadeh (PhD)[1], M. A. Hoseinpour Feizi (PhD)[1], M. Farhoudi (MD)[2], M. Talebi (MD)[2]

1.Department of Biology, Faculty of Natural Sciences, Tabriz University, Tabriz, I.R.Iran
2. Neuroscience Research Center, Faculty of Medical Sciences Tabriz, Tabriz, I.R.Iran

J Babol Univ Med Sci; 20(4); Apr 2018; PP: 24-9
Received: Oct 30th 2017, Revised: Jan 30th 2018, Accepted: Feb 24th 2019.

ABSTRACT

BACKGROUND AND OBJECTIVE: Diagnosis of Alzheimer's disease usually occurs when serious damages have occurred in the brain and common treatments are ineffective in preventing it. One of the RNAs involved in Alzheimer's disease is a long noncoding RNA, called BDNF antisense (BDNF-AS). The aim of this study is to determine the presence and compare the BDNF-AS levels in plasma of Alzheimer's patients and healthy subjects, and to evaluate its potential as a plasma marker for Alzheimer's disease.

METHODS: In this case-control study, 30 patients with late-stage Alzheimer's disease and 30 healthy subjects without neurological disease who matched the patients in terms of age were selected by a specialist according to the criteria for clinical diagnosis of Alzheimer's disease and their intravenous blood samples were collected. The plasma of the blood samples was isolated and total plasma RNA was extracted. After cDNA synthesis, the presence of BDNF-AS in plasma was examined by PCR. Finally, the relative level of BDNF-AS transcripts in plasma samples of patients with Alzheimer's disease and healthy subjects was evaluated using Real Time PCR.

FINDINGS: The results of this study showed that long noncoding RNA BDNF-AS was present in the plasma of patients and controls. Comparison of Real Time PCR data showed that BDNF-AS levels in the plasma of patients (0.107±0.021) showed significant increase compared to healthy subjects (0.039 ± 0.006).

CONCLUSION: The results of this preliminary study indicate that the levels of long noncoding RNA BDNF-AS in plasma can be used as a blood/plasma marker for the diagnosis of Alzheimer's disease.

KEY WORD: *Alzheimer's disease, BDNF-AS, Biomarker*.

Please cite this article as follows:

Aziz-Aghaali R, Khalaj-Kondori M, Zeinalzadeh N, Hoseinpour Feizi MA, Farhoudi M, Talebi M. Comparison between the Plasma Levels of Long Noncoding RNA BDNF-AS in Patients with Alzheimer's disease and Healthy Subjects. J Babol Univ Med Sci. 2018;20(4):24-9.

* **Corresponding author: M. Khalaj-Kondori (PhD)**
Adress: Department of Animal Sciences, Faculty of Natural Sciences,Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz University, Tabriz, I.R.Iran.
Tel: +98 41 65983336
E-mail: khalaj@tabrizu.ac.ir

[DOR: 20.1001.1.15614107.1397.20.4.4.8]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.20.4.24]

References

1. Korolev IO. Alzheimer's Disease: A clinical and basic science review. Med Student Res J. 2014;4:24-33.

2. Rosenthal SL, Kamboh MI. Late-onset Alzheimer's disease genes and the potentially implicated pathways. Curr Genet Med Rep. 2014;2(2):85-101.

3. Huang Y, Mucke L. Alzheimer mechanisms and therapeutic strategies. Cell. 2012;148(6):1204-22.

4 .Masters CL, Cappai R, Barnham KJ, Villemagne VL. Molecular mechanisms for Alzheimer's disease: implications for neuroimaging and therapeutics. J Neuroch. 2006;97(6):1700-25.

5 Adlard PA, Tran BA, Finkelstein DI, Desmond PM, Johnston LA, Bush A, et al. A review of β-amyloid neuroimaging in Alzheimer's disease. Frontiers in neuroscience. 2014;8.

6.Mandelkow E-M, Mandelkow E. Tau in Alzheimer's disease. Trend Cell Biol. 1998;8(11):425-7.

7 .Fumagalli F, Racagni G, Riva M. The expanding role of BDNF: a therapeutic target for Alzheimer's disease?. Pharmacog J. 2006;6(1):8.

8 .Borba EM, Duarte JA, Bristot G, Scotton E, Camozzato AL, Chaves MLF. Brain-Derived neurotrophic factor serumlevels and hippocampal volume in mildcognitive impairment and dementia due toalzheimer disease.Demen Geriat Cog Dis Extra. 2016;6:559-67.

9.Ventriglia M, Zanardini R, Bonomini C, Zanetti O, Volpe D, Pasqualetti P, et al. Serum brain-derived neurotrophic factor levels in different neurological diseases. Bio Med Res Int. 2013;2013

10. Salta E, De Strooper B. Noncoding RNAs in neurodegeneration. Nat Rev Neurosci. 2017;18(10):627.

11. Modarresi F, Faghihi MA, Lopez-Toledano MA, et al. Inhibition of natural antisense transcripts in vivo results in gene-specific transcriptionalupregulation. Nat Biotechnol. 2012;30(5):453-9.

12 .Pruunsild P, Kazantseva A, Aid T, Palm K, Timmusk T. Dissecting the human BDNF locus: bidirectional transcription, complex splicing, and multiple promoters. Genomics. 2007;90(3):397-406.

13. Alzheimer's Association. 2016 Alzheimer's disease facts and figures. Alzheimers Dement. 2016; 12: 459-509.Available From: https://www.alz.org/documents_custom/2016-facts-and-figures.pdf

14. Song F ,Poljak A, Smythe GA, Sachdev P. Plasma biomarkers for mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. Brain Res Rev. 2009;61(2):69-80.

15. Ng kst, ho cs, tam w, kua eh, ho rc-m. Serum brain-derived neurotrophic factors (bdnf) levels in patients with alzheimer's disease (ad), individuals with mild cognitive impairment (mci), and healthy controls: a systematic review, meta-analysis, and meta-regression. J Alzheimer's Associ. 2016;12(7):P1181

16.Khalaj-Kondori M, Sadeghi F, Hosseinpourfeizi MA, Shaikhzadeh-Hesari F, Nakhlband A, Rahmati-Yamchi M. Boswellia serrata gum resin aqueous extract upregulates BDNF but not CREB expression in adult male rat hippocampus. Turk J Med Sci 2016;46(5):1573-8

17.Moussaieff A, Gross M, Nesher E, Tikhonov T, Yadid G, Pinhasov A. Incensole acetate reduces depressive-like behavior and modulates hippocampal BDNF and CRF expression of submissive animals. J Psychopharmacol. 2012;26:1584-93.

18.Bekinschtein P, Cammarota M, Medina JH. BDNF and memory processing. Neuropharmacol. 2014;76:677-83.

19 .Cunha C, Brambilla R, Thomas KL. A simple role for BDNF in learning and memory?. FrontMol Neurosci. 2010;3:1.

20. J Jiao SS, Shen LL, Zhu C, Bu XL, Liu YH, Liu CH, et al. Brain-derived neurotrophic factor protects against tau-related neurodegeneration of Alzheimer's disease. Transl Psychiatry. 2016;6(10):907.

21. Song JH, Yu JT, Tan L. Brain-Derived neurotrophic factor in alzheimer's disease: risk, mechanisms, and therapy. Mol Neurobiol. 2015;52(3):1477-93.

22.HeikkiTanila. The role of BDNF in Alzheimer's disease. Neurobiol Dis. 2017;97:71-200.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1397.20.4.4.8]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.20.4.24]