

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی استان اردبیل

دانشکده پزشکی

پایان نامه جهت اخذ درجه دکتری تخصصی رشته‌ی زنان

**عنوان:**

**بررسی سطح بیان lncRNA TERRA و طول تلومر**

**در نمونه جفت زنان مبتلا به پره اکلامپسی در**

**مقایسه با زنان نرمال**

استاد راهنما:

دکتر گیتی رحیمی ممقانی

دکتر سید سعید حسینی اصل

استاد مشاور:

دکتر فیروز امانی

نگارش:

دکتر مریم مرغوب

فروردین ۱۳۹۸

شماره پایان نامه: ۱۲۶۰

تقدیم به:

# پدر و مادر عزیز و مهربانم

تقدیم به :

همسرم که پناه خستگی ام بود و طی  
این مسیر سخت در سایه لطف او  
برایم هموار شد.

و پسر عزیزم

که صبورانه مرا همراهی کرد.

چکیده .....س

فصل اول: طرح تحقیق ..... ۱

۱-۱ مقدمه ..... **Error! Bookmark not defined.**

۱-۲ بیان مسئله ..... **Error! Bookmark not defined.**

۱-۳ تعریف واژه‌های کلیدی: ..... **Error! Bookmark not defined.**

۱-۴ اهداف ..... **Error! Bookmark not defined.**

۱-۵ فرضیات و سؤالات تحقیق: ..... **Error! Bookmark not defined.**

فصل دوم: پیشینه تحقیق ..... ۸

۲-۱ مبانی نظری ..... **Error! Bookmark not defined.**

۲-۱-۱ پره اکلامپسی و حاملگی ..... **Error! Bookmark not defined.**

۲-۱-۲ اپیدمیولوژی ..... **Error! Bookmark not defined.**

۲-۱-۳ پاتوفیزیولوژی ..... **Error! Bookmark not defined.**

۲-۱-۴ غربالگری و تشخیص پره اکلامپسی ..... **Error! Bookmark not defined.**

۲-۱-۵ عوامل خطر پره اکلامپسی ..... **Error! Bookmark not defined.**

۲-۱-۶ تشخیص پره اکلامپسی ..... **Error! Bookmark not defined.**

۲-۱-۷ عوارض پره اکلامپسی ..... **Error! Bookmark not defined.**

۲-۱-۸ کنترل پره اکلامپسی در طی دوران بارداری ..... **Error! Bookmark not defined.**

<b>Error! Bookmark not defined.</b> .....	Long noncoding RNA (lncRNA)	۲-۱-۲
<b>Error! Bookmark not defined.</b> .....	Telomere	۲-۲-۲
<b>Error! Bookmark not defined.</b>	Telomeric Repeat containing RNA (TERRA)	۲-۲-۳
<b>Error! Bookmark not defined.</b> .....	TERRA and Telomere	۲-۲-۴
<b>Error! Bookmark not defined.</b>	TERRA چه ارتباطی با انتهای کروموزوم دارد؟	۲-۲-۴-۱
<b>Error! Bookmark not defined.</b> .....	TERRA بیان سطح	۲-۲-۵
<b>Error! Bookmark not defined.</b> .....	طول تلومر	۲-۲-۶
<b>Error! Bookmark not defined.</b> .....	مطالعات مشابه	۲-۳
۳۵.....	<b>فصل سوم: شیوه اجرای تحقیق</b>	
<b>Error! Bookmark not defined.</b> .....	نوع مطالعه	۳-۱
<b>Error! Bookmark not defined.</b> .....	زمان انجام مطالعه	۳-۲
<b>Error! Bookmark not defined.</b> .....	محیط پژوهش	۳-۳
<b>Error! Bookmark not defined.</b> .....	جمعیت مورد مطالعه و حجم نمونه	۳-۴
<b>Error! Bookmark not defined.</b> .....	روش گردآوری اطلاعات	۳-۵
<b>Error! Bookmark not defined.</b> .....	وسایل لازم	۳-۶
<b>Error! Bookmark not defined.</b> .....	وسایل لازم جهت نمونه گیری و انتقال نمونه ها	۳-۶-۱
<b>Error! Bookmark not defined.</b> .....	وسایل لازم جهت خرد کردن بافت	۳-۶-۲
<b>Error! Bookmark not defined.</b> .....	مواد لازم جهت استخراج RNA و DNA	۳-۶-۳
<b>Error! Bookmark not defined.</b> .....	مواد لازم جهت سنتز C DNA	۳-۶-۴
<b>Error! Bookmark not defined.</b> .....	مواد لازم جهت Real Time	۳-۶-۵
<b>Error! Bookmark not defined.</b> .....	تجهیزات مورد نیاز	۳-۶-۶
<b>Error! Bookmark not defined.</b> .....	طراحی پرایمر	۳-۷

<b>Error! Bookmark not defined.</b> .....	۳-۸ روش کار
<b>Error! Bookmark not defined.</b> .....	۳-۸-۱ خرد کردن بافت
<b>Error! Bookmark not defined.</b> .....	۳-۸-۲ استخراج RNA
<b>Error! Bookmark not defined.</b> .....	۳-۸-۳ بررسی کمی و کیفی RNA
<b>Error! Bookmark not defined.</b> .....	۳-۸-۴ الکتروفورز ژل آگارز RNA
<b>Error! Bookmark not defined.</b> .....	۳-۸-۵ مقدار کمی DNA
<b>Error! Bookmark not defined.</b> .....	۳-۸-۶ الکتروفورز ژل آگارز DNA
<b>Error! Bookmark not defined.</b> .....	۳-۸-۷ سنتز cDNA
<b>Error! Bookmark not defined.</b> .....	۳-۸-۷-۱ ساخت cDNA برای RNA
<b>Error! Bookmark not defined.</b> .....	۳-۸-۸ مراحل انجام Real Time PCR
<b>Error! Bookmark not defined.</b> .....	۳-۸-۸-۱ بهینه سازی واکنش Real Time PCR
<b>Error! Bookmark not defined.</b> .....	۳-۸-۹ اندازه گیری طول تلومر
<b>Error! Bookmark not defined.</b> .....	۳-۸-۱۰ الکتروفورز محصولات روی ژل آگارز
<b>Error! Bookmark not defined.</b> .....	۳-۹ روش تجزیه و تحلیل داده ها و بررسی اماری
<b>Error! Bookmark not defined.</b> .....	۳-۱۰ معیار ورود
<b>Error! Bookmark not defined.</b> .....	۳-۱۱ معیار خروج
<b>Error! Bookmark not defined.</b> .....	۳-۱۲ ملاحظات اخلاقی
<b>Error! Bookmark not defined.</b> .....	۳-۱۳ محدودیت های مطالعه:
<b>Error! Bookmark not defined.</b> .....	۳-۱۴ متغیرهای مطالعه
۵۰.....	<b>فصل چهارم: نتایج</b>
<b>Error! Bookmark not defined.</b> .....	۴-۱ سطح بیان LNCRNA TERRA
<b>Error! Bookmark not defined.</b> .....	۴-۲ طول تلومر

**Error! Bookmark not defined.**..... ۴-۳ ترکیب سنی افراد مورد مطالعه

**Error! Bookmark not defined.**..... ۴-۴ سن بارداری افراد مورد مطالعه

**Error! Bookmark not defined.**..... ۴-۵ BMI افراد مورد مطالعه

**Error! Bookmark not defined.**..... ۴-۶ جنسیت نوزادان

**Error! Bookmark not defined.**..... ۴-۷ تفاوت در نحوه زایمان

۵۹..... **فصل پنجم: بحث و نتیجه گیری**

**Error! Bookmark not defined.**..... ۵-۱ بحث

**Error! Bookmark not defined.**..... ۵-۲ نتیجه گیری

**Error! Bookmark not defined.**..... ۵-۳ محدودیت‌های پژوهش:

**Error! Bookmark not defined.**..... ۵-۴ پیشنهادات

**Error! Bookmark not defined.**..... منابع:



## فهرست جداول

صفحه

عنوان

جدول ۱-۳: ساخت cDNA ..... **Error! Bookmark not defined.**

جدول ۲-۳: ساخت cDNA synthesis mixture ..... **Error! Bookmark not defined.**

جدول ۳-۳: مواد مورد نیاز جهت Real Time ..... ۴۵

جدول ۴-۳: سیکل دمایی واکنش Real Time ..... **Error! Bookmark not defined.**

جدول ۵-۳: توالی Telomere و 36B4 Primer ..... **Error! Bookmark not defined.**

جدول ۶-۳: سیکل دمایی Real Time PCR جهت بررسی طول تلومر ..... **Error! Bookmark not defined.**

جدول ۱-۴: سطح بیان LNCRNA TERRA را در افراد مورد مطالعه ..... **Error! Bookmark not defined.**

جدول ۲-۴: بررسی طول تلومر را در افراد مورد مطالعه ..... **Error! Bookmark not defined.**

جدول ۳-۴: میانگین سنی افراد مورد مطالعه ..... **Error! Bookmark not defined.**

جدول ۴-۴: میانگین سن بارداری افراد مورد مطالعه ..... **Error! Bookmark not defined.**

## فهرست اشکال

صفحه

عنوان

شکل ۱-۲: ساختار تلومر انسان شامل DNA تلومریک، کمپلکس Shelterin و کمپلکس تلومراز. **Error! Bookmark not defined.**

شکل ۲-۲: عملکرد TERRA در تلومرهای عملکردی و غیرعملکردی ..... **Error! Bookmark not defined.**

شکل ۱-۴: نمونه amplification curve های مربوط به ژن lnc RNA TERRA در نمونه پره اکلامپسی و

نرمال ..... **Error! Bookmark not defined.**

شکل ۲-۴: نمونه melting curve های مربوط به ژن lnc RNA TERRA در نمونه های پره اکلامپسی و

نرمال ..... **Error! Bookmark not defined.**

شکل ۳-۴: نمونه amplification curve های مربوط به طول تلومر در نمونه پره اکلامپسی و نرمال. **Error! Bookmark not defined.**

شکل ۴-۴: نمونه melting curve های مربوط به طول تلومر در نمونه پره اکلامپسی و نرمال. **Error! Bookmark not defined.**

شکل ۵-۴: نمونه amplification curve های مربوط به ژن 36B4 در نمونه پره اکلامپسی و نرمال. **Error! Bookmark not defined.**

شکل ۶-۴: نمونه melting curve های مربوط به ژن 36B4 در نمونه پره اکلامپسی و نرمال. **Error! Bookmark not defined.**

## فهرست نمودار

صفحه

عنوان

نمودار ۴-۱: ترکیب BMI مادران مورد مطالعه ..... **Error! Bookmark not defined.**

نمودار ۴-۲: ترکیب جنسیتی نوزادان در گروههای مورد مطالعه ..... **Error! Bookmark not defined.**

نمودار ۴-۳: تفاوت نوع زایمان در گروههای مورد مطالعه ..... **Error! Bookmark not defined.**

## بررسی سطح بیان LncRNA TERRA و طول تلومر در نمونه جفت زنان مبتلا به پره اکلامپسی در مقایسه با زنان نرمال

### چکیده

**سابقه و هدف:** پره اکلامپسی نوعی سندرم اختصاصی حاملگی است که تمام اعضای بدن را تحت تاثیر قرار میدهد و با افزایش فشارخون بیشتر از ۱۴۰/۹۰ و پروتئینوری مشخص میشود. یکی از علل احتمالی پره اکلامپسی عوامل ژنتیکی از جمله ژن های زمینه ساز ارثی میباشد. هدف از مطالعه حاضر بررسی سطح بیان LNCRNA TERRA و طول تلومر و ارتباط ان با پره اکلامپسی بود.

**مواد و روش ها:** در این مطالعه مورد-شاهدی در این مطالعه از ۲۵ مادر مبتلا به پره اکلامپسی که به بیمارستان علوی اردبیل مراجعه نمودند و کاندید ختم بارداری شدند نمونه جفت تهیه شد و برای گروه کنترل نیز از ۲۵ زن فاقد بیماری نمونه جفت تهیه شد. پس از استخراج RNA و سنتز cDNA میزان بیان ژن TERRA با استفاده از Real Time PCR اندازه گیری شد. سپس تغییرات طول تلومر با استفاده از تکنیک Telomere Length Assay اندازه گیری شد بعد از پایان کار اطلاعات در نرم افزار انالیز آماری تجزیه و تحلیل شد.

**یافته ها:** در این مطالعه میانگین بدست آمده برای سطح بیان LNCRNA TERRA در گروه مورد  $\pm 1/9$  و در گروه شاهد  $9/8 \pm 2/8$  بود. نتایج از مون نشان داد که بین دو گروه اختلاف آماری معنی داری از لحاظ سطح بیان LNCRNA TERRA وجود دارد.

همچنین در بررسی تفاوت طول تلومر در دو گروه، میانگین بدست آمده برای طول تلومر در گروه مورد  $4/35 \pm 1/9$  و در گروه شاهد  $6/2 \pm 1/54$  بود. نتایج از مون نشان داد که بین دو گروه اختلاف آماری معنی داری از لحاظ طول تلومر وجود دارد. در این مطالعه میانگین سنی کل مادران  $24/92 \pm 3/6$  سال بود. میانگین کلی سن بارداری مادران در این مطالعه  $37/3 \pm 2/1$  هفته و میانگین BMI افراد شرکت کننده در مطالعه  $24/1 \pm 3/8$  کیلوگرم بر متر مربع بود. نتایج حاصله نشان داد که بین سن بیماراران و سطح بیان LNCRNA TERRA و طول تلومر همبستگی معنی داری وجود ندارد. اختلاف آماری معنی داری بین جنسیت نوزادان در سطح بیان LNCRNA TERRA و طول تلومر وجود نداشت.

**نتیجه گیری:** نتایج بدست آمده از این مطالعه بیانگر نقش مشخص LNCRNA TERRA و طول تلومر در پره اکلامپسی می باشند.

**واژه های کلیدی:** پره اکلامپسی، طول تلومر، سطح بیان TERRA

