

Ülseratif Kolit Hastalarında Gen İfade Analizi

Gene Expression Analysis in Ulcerative Colitis Patients

Elif Pala¹, Esra Bozgeyik², Musa Aydın³

¹ SANKO Üniversitesi, Tıbbi Biyoloji, Gaziantep, Türkiye

² Gaziantep Üniversitesi, Tıbbi Biyoloji, Gaziantep, Türkiye

³ Gaziantep Üniversitesi, İç Hastalıkları, Gastroenteroloji, Gaziantep, Türkiye

ÖZET

Amaç: Ülseratif Kolit (ÜK), genetik olarak duyarlı kişilerde çevresel faktörlere karşı abartılı bir immün yanıt sonucu oluşan ve etyopatogenezi henüz tam olarak aydınlatılmamış bir hastalıktır. Bu çalışma ile ÜK hastalarında inflamasyonun en yoğun olduğu bölge ve normal kolonik mukozadan alınan biyopsi materyallerindeki gen ifade farklılıkları incelenerek hastalığın ortaya çıkışı ve ilerleyişi ile ilişkili olabilecek biyobelirteçlerin tespit edilmesi ve böylelikle patogenezinin anlaşılmasına katkıda bulunulması amaçlanmıştır.

Yöntem: ÜK tanısı almış 16 hastadan alınan inflamasyonlu ve normal mukozaya ait biyopsi materyallerindeki gen ifade farklılıkları, kısmi transkriptom analiz yöntemi olan Differential Display-PCR (DD-PCR) kullanılarak araştırılmıştır.

Bulgular: Farklı seviyede gen ifadesi olduğu tespit edilen ve dizin analizi yapılan aday transkriptler arasında üçünün genomda farklı genlerin intronik bölgelerine yerleşim gösterdiği belirlenmiştir. Bu üç transkript arasında biri için ise daha detaylı analizler gerçekleştirilmiştir. Öncelikle, bu transkriptin cDNA uçlarının dizilimini tespit etmek amacıyla Rapid Amplification of cDNA Ends (RACE) deneyleri yapılmış ve 5' ucuna ait 920 bp'lik bölgenin dizilimi de tespit edilmiştir. Ardından, bölgeye ait tasarlanan primerler kullanılarak kısmi miktarlara dayalı gen ifade analizi yapılmış ancak inflamasyonlu ve normal kolonik mukozaları arasında gen ifade seviyeleri bakımından anlamlı bir fark bulunamamıştır. Ayrıca, ticari olarak satılan 20 farklı dokunun RNA'sı ve 11 farklı kanser hücre hattına ait RNA'lar kullanılarak gen ifade profilleri yapılmış, birçok doku ve kanser hücresinde ilgili transkriptin ifadesinin gerçekleştiği belirlenmiştir.

Sonuç: Bu çalışma sonucunda, daha önce başka hiçbir grup tarafından tanımlanmamış yeni bir transkript tespit edilmiştir. İleriki çalışmalarda bu yeni transkriptin Northern Blot ile tam boyunun belirlenmesi ve işlevsel analizlerinin gerçekleştirilmesi hedeflenmektedir.

Anahtar Sözcükler: Ülseratif Kolit, DD-PCR, lncRNA, aday transkript

Geliş Tarihi: 08.05.2018

Kabul Tarihi: 30.08.2018

ABSTRACT

Aim: Ulcerative Colitis (UC) of which the etiopathogenesis is not yet fully elucidated is a disease that comes out as a result of an exaggerated immune response against environmental factors in genetically susceptible individuals. In this study, our aim was to identify the biomarkers that may be associated with the emergence and the progression of UC by putting forward the gene expression differences between the most inflamed region and normal colonic mucosa in UC patients.

Material and Methods: Gene expression differences were analyzed between inflamed and normal colonic mucosa biopsy materials of 16 UC patients by using Differential Display-PCR (DD-PCR) partial transcriptome analysis method.

Results: Among the differentially-expressed candidate transcripts, 3 were determined to span intronic regions of different genes. A more detailed analysis was carried out for one transcript among three. Firstly, Rapid Amplification of cDNA Ends (RACE) was conducted in order to determine the flanking sequences and the 920 bp sequence flanking to 5'-end was determined by this method. A semi-quantitative expression analysis comparing the expression levels between inflamed and normal colonic mucosa was conducted, but there was no significant difference. Additionally, the expression of this transcript in various tissues and cancer cells was also confirmed by expression profiling via commercially available human RNA panel of 20 different tissues and 11 different cancer cell-lines.

Conclusion: As a result of this study, a novel transcript which was not previously reported by any others was determined. The determination of the full-length of this transcript by using Northern Blot and the functional analyses is aimed for further studies.

Key Words: Ulcerative Colitis, DD-PCR, lncRNA, novel transcript

Received: 05.08.2018

Accepted: 08.30.2018

GİRİŞ

Ülseratif Kolit (ÜK) nedeni tam anlaşılamamış alevlenme ve hafiflemeler ile seyreden kronik bir barsak hastalığıdır (1). Görülen belirtilerinin hiçbirisi ÜK hastalığına özgün olmaması nedeniyle hasta doktora başvurduğunda belirtiler genellikle haftalar veya aylardır mevcut olabilmektedir (2). ÜK her yaşta görülebilen bir hastalık olup özellikle çocuklarda hızlı bir şekilde ilerleyerek büyüme ve gelişmeyi olumsuz etkilemektedir (3). Bu hastalıkta ikizlerde yapılan çalışmalar genetik etmenlerin rolünü desteklemektedir. Tek yumurta ikizlerinde hastalık rastlanma olasılığının (%15.4), çift yumurta ikizlerinden (%3.9) daha fazla olduğu gösterilmiştir (4). ÜK genetiği ile ilgili en önemli yaklaşımlardan biri; Genom Boyu İlişkilendirme Çalışmaları (GWAS) sonucunda epitel bariyer genlerinden olan ECM1, CDH1, HNF4a ve LAMB1 ile ilişkisinin gösterilmesidir (5).

ÜK'de hastalığın tanısı, prognoz ve tedavisinde serolojik belirteçlerin önemi giderek artmaktadır. Anti-Nötrofil Sitoplazmik Antikor (ANCA) bu hastalığın tanısında kullanılan tek serolojik belirteçtir (6,7). ÜK hastaları kolon kanseri açısından risk altında olup kolon kanseri gelişme riski 10 yıl sonra %2, 20 yıl sonra %8, 30 yıl sonra %18 olarak tespit edilmiştir (8).

Bu çalışmada, ÜK hastalarından alınan inflamasyonlu ve normal dokular arasında gen ifade farklılıkları Differential Display-PCR yöntemi kullanılarak araştırılmış ve daha önce tanımlanmamış bir uzun kodlanmayan RNA (lncRNA) saptanmıştır. mRNA'lar, miRNA'lar ve lncRNA'lar gibi RNA transkript miktarlarındaki farklılıklar yeni biyobelirteç adaylarını oluşturmaktadır (9,10). Farklı dokularda da ifade olduğu teyit edilen bu transkriptin ÜK hastalığı ile olası ilişkisinin araştırılması yapılmıştır. Bu şekilde gen ifade farklılıkları ortaya konularak hastalığın ortaya çıkışı, seyri ile ilgili olabilecek biyobelirteçlerin tespit edilmesi ve hastalığın patogenezinin anlaşılmasına katkıda bulunulması hedeflenmiştir.

YÖNTEM

Bu çalışmaya Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Gastroenteroloji Bilim Dalı'na başvuran ÜK tanısı almış 16 hastanın kolonoskopi yoluyla alınan inflamasyonlu kolonik mukoza ve normal mukoza biyopsi materyalleri dâhil edilmiştir. Çalışma Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu tarafından 04.12.2012/446 numaralı kararıyla uygun bulunmuştur, ayrıca çalışmamız Gaziantep Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri kapsamında (BAP- T.F. 1314) desteklenmiştir.

Toplanan dokulardan öncelikle RNA eldesi (QIAGEN Sample & Assay Technologies) ve cDNA eldesi (AMV First Strand cDNA Synthesis Kit #E6550S, NEB) gerçekleştirilmiştir. DD-PCR yönteminde 12 adet kısmi değişken primer; 3 adet de sabit primerin kendi içlerinde kombinasyonları ile 36 ayrı primer seti elde edilmiş ve gen ifadesi değişimlerinin araştırılması için bu primer setleri kullanılmıştır.

Poliakrilamid jelde yürütülen örneklerin gümüş boyama yöntemi ile boyanmasından sonra farklı ifade edilen genler olduğu düşünülen bantların analizi ilk aşamada göz ile yapılmış ve bu aday bölgelerin birbiri ile karışmaması için kullanılan primerler baz alınarak sistematik bir isimlendirmeye tabi tutulmuşlardır. Aday bölgelerin densitometrik analizleri, dijital ortama aktarılan jel görüntüleri üzerinden ImageJ (v1.46r) programı yardımı ile yapılmış, neticede her bir örneğin gen ifadesi kıyaslanabilir sayısal değerlere dönüştürülmüştür. Kısmi miktarlara dayalı yöntemde her inflamasyonlu ve normal doku için ölçümü yapılan aday bölgenin ölçüm değerleri GAPDH geni ile normalize edilmiştir. Normalizasyon yapılırken $\text{Normalizasyon} = \frac{\text{Hedef gen/Referans gen}}{\text{İnflamasyonlu Hedef gen/Referans gen}}$ formülü kullanılmıştır. Ölçüm değerleri SPSS 15.0 for Windows Evaluation Version dosyası haline getirilip istatistiksel analiz yapılmıştır.

Aynı zamanda GraphPad Prism 6.02 programında bulunan D'Agostino & Pearson omnibus normality test, Shapiro-Wilk normality test ve Kolmogorov-Smirnov test kullanılarak değerlendirilmiştir. Dağılımın normalite testi yapıldıktan sonra SPSS 15.0 for Windows Evaluation Version programı kullanılmıştır. Ölçüm sonuçlarına 'Wilcoxon' testi uygulanmış, p değeri p<0.05 olanlar anlamlı kabul edilmiştir.

İnflamasyonlu ve normal grup arasında farklı seviyede ifade olduğu tespit edilen ve dizin analizi yapılması gerektiği düşünülen Arb 8-10-11/poli C kombinasyonları ile çoğaltılmış üç bölge seçilmiştir. Bu ilgili bölgelere ait gen ifadesini temsil eden bantlar poliakrilamid jelden kazanmış ve ardından sekans PCR yapılarak dizin analizi gerçekleştirilmiştir. İntronik yerleşim gösterdiği tespit edilen bu bölgelerden diğerlerine referans oluşturması bakımından, öncelikle bir tanesi üzerinde yoğunlaşmıştır. Belirlenen aday bölgenin aydınlatılmasına yönelik yapılan laboratuvar çalışmaları; 1) Aday bölgeye ait gen ifade primerlerinin tasarlanması, ÜK hastalarına ait inflamasyonlu ve normal dokularda bu bölgenin kısmi miktara dayalı yöntemle gen ifade ölçümlerinin yapılması ve ÜK hastalığı ile ilgili muhtemel ilişkinin araştırılması 2) Aday bölgenin hangi dokularda ve kanser hücre hatlarında ifade olduğu belirlenmesi amacıyla dokuya ve kanser tipine özgü profillemeye analizleri yapılması 3) Aday bölgenin 5' ve 3' sonlarının belirlenmesi amacıyla RACE metodunun uygulanması şeklinde devam ettirilmiştir.

SONUÇLAR

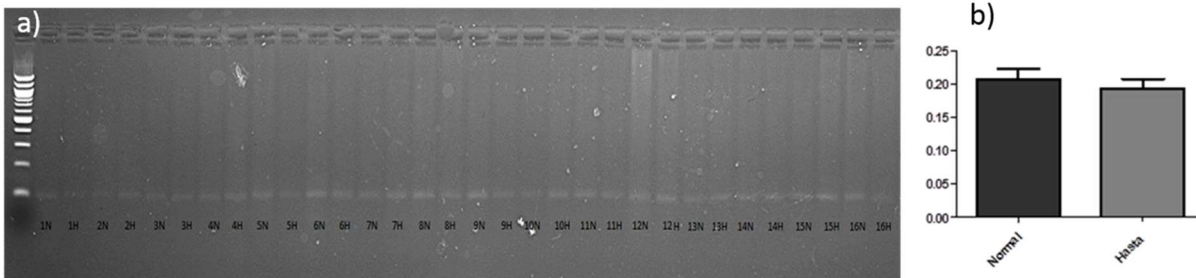
Kolonoskopi yoluyla alınan toplam 32 biyopsi materyalinden RNA ve tek sarmal cDNA eldesi işlemlerini takiben DD-PCR yöntemine uygun olarak, 12 değişken (Arb 1-12) ve 3 sabit (poli A-C-G) primer çifti ile 36 farklı kombinasyon oluşturulmuş ve ikinci sarmal cDNA'ları yapılmıştır. Ardından elde edilen örnekler, poliakrilamid jel elektroforezinde yürütülmüş ve gümüş boyama işlemleri gerçekleştirilmiştir.

Farklı seviyede gen ifadesi olduğu görülen ve dizin analizi yapılması gerektiği düşünülen bölgeler arasında üç bölge seçilmiştir. Bu ilgili bölgelere ait gen ifadesini temsil eden bantlardan, poliakrilamid jelden kazanma ve ardından sekans PCR gerçekleştirilmesi suretiyle dizin analizi gerçekleştirilmiştir. Bu üç banttan yapılan dizin analizi neticesinde her birinin farklı genlerin intronik bölgelerine yerleşim gösterdiği tespit edilmiştir.

Yapılan BLAST analizleri sonucunda tespit edilen örtüşme oranları yüksek bulunmuştur. Aynı zamanda belirlenen e değerlerindeki belirgin düşüklük ise örtüşmenin şans eseri olma ihtimalini ortadan kaldırmaktadır.

Aday bölgelerin intronik bölgelere yerleşim göstermesi ve DD-PCR yönteminin yeni genler keşfedilmesine açık bir yöntem olması (11), bu bölgelerin daha önce tanımlanmamış birer yeni transkript olma ihtimalini düşündürmüştür. Bu fikirden yola çıkılarak referans veri tabanları (Vega, Ensembl, Havana, NCBI) taranmış ve belirlenen dizinlerin örtüştüğü herhangi bir transkripte rastlanmamıştır. Yeni transkriptler olması ihtimal üç bölge arasında öncelikle 1 numara olarak adlandırılan bölge ile çalışmaya başlanmıştır. Buradan elde edilen bilgiler ışığında bir model oluşturularak diğer bölgelerin de çalışılması planlanmıştır.

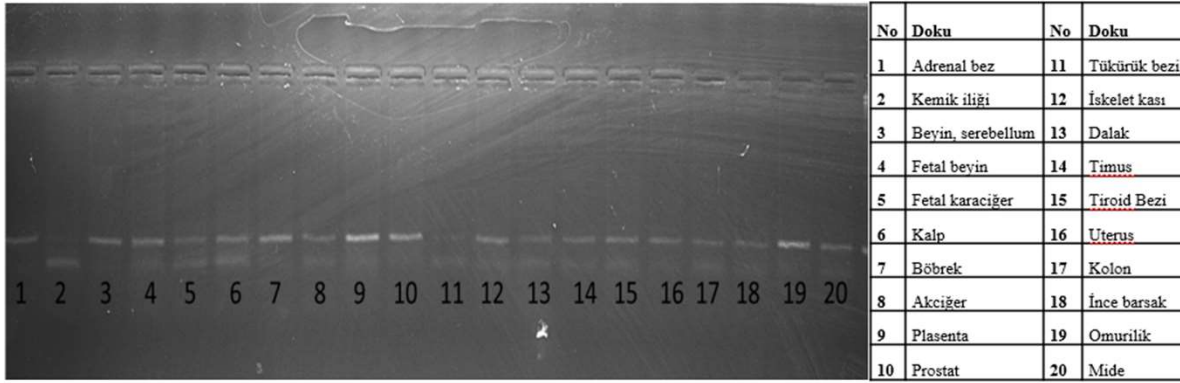
Yöntem bölümünde anlatılan, belirlenen aday bölgenin tanımlanması amacıyla yapılan laboratuvar çalışmalarının birincisi doğrultusunda, 16 hastanın inflamasyonlu ve normal dokusundan aday bölgeye ait gen ifade analizi kısmi miktara dayalı yöntemle ölçülmüştür. Bu amaçla öncelikle normalizasyon çalışmasında kullanılmak üzere, housekeeping gen olan GAPDH bölgesine ait primerler ve ardından aday bölgeye ait tasarlanan gen ifade primerleri kullanılarak tepkime gerçekleştirilmiştir. Aday bölgenin tüm dokularda ifade olduğu tespit edilmiş (Şekil 1a) ve kısmi miktara dayalı yöntemle ölçüm gerçekleştirilmiştir. Bu sonuçlara göre 1 numaralı aday bölgenin inflamasyonlu ve normal kolonik mukozaları arasında gen ifade seviyeleri bakımından anlamlı bir fark bulunamamıştır (Şekil 1b).



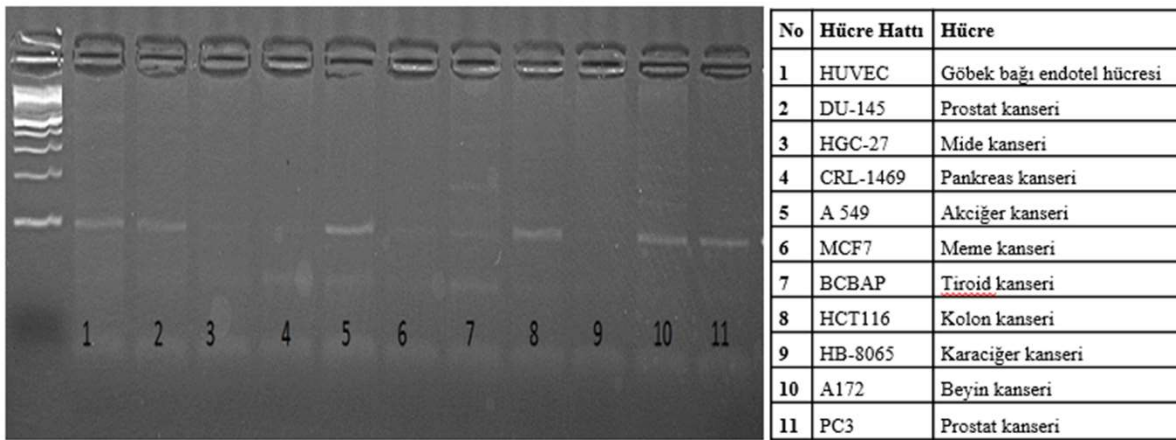
Şekil 1. a) 16 ÜK hastasının normal ve inflamasyonlu dokularından elde edilen cDNA'nın, aday transkripte ait primerler kullanılarak yapılan reaksiyon sonucu elde edilen agaroz jel görüntüsü b) 1 numaralı aday bölgenin GAPDH ile normalizasyonu sonucu inflamasyonlu ve normal doku arasındaki ifadenin farkı (p>0.05)

Yöntem bölümünde anlatılan belirlenen aday bölgenin tanımlanması amacıyla yapılan laboratuvar çalışmalarının ikincisi doğrultusunda, ticari olarak satın alınan 20 farklı dokuya ait RNA örneklerinden elde edilen tek sarmal cDNA'lar, aday bölgeyi içeren primer çiftleri ile çoğaltılmış ve incelenen

tüm dokularda gen ifadesinin gerçekleştiğini görülmüştür (Şekil 2). Ayrıca 11 farklı hücre hattında aday bölgenin gen ifadesinin araştırılması yapılmış ve ilgili aday bölgenin sadece karaciğer kanseri hücre hattında ifade edilmediği tespit edilmiştir (Şekil 3).



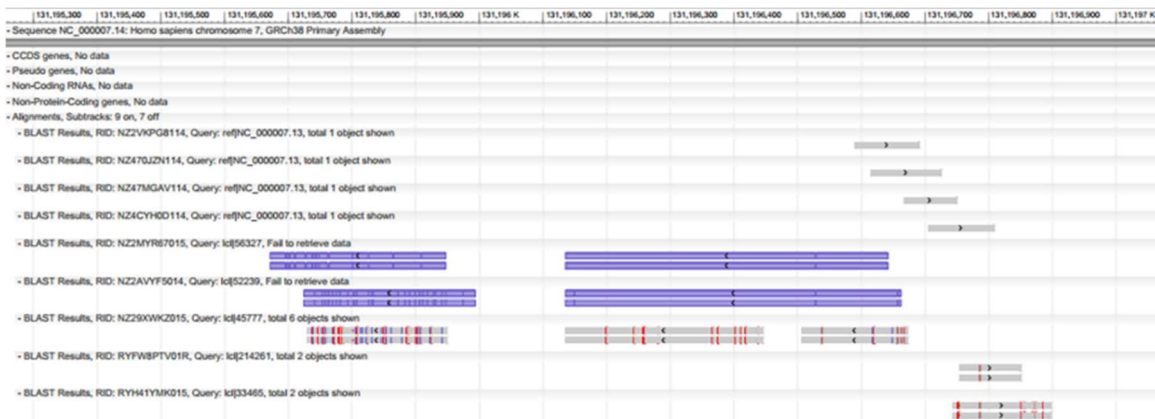
Şekil 2. İlgili transkriptin gen ifadesinin araştırıldığı 20 farklı dokuya ait cDNA'nın, aday bölgeye ait primerler kullanılarak yapılan reaksiyon sonucu elde edilen agaroz jel görüntüsü



Şekil 3. Aday bölgenin gen ifadesinin araştırıldığı 11 farklı hücre hattından izole edilen cDNA'nın, aday bölgeye ait primerler kullanılarak yapılan reaksiyon sonucu elde edilen agaroz jel görüntüsü

Yöntem bölümünde anlatılan belirlenen aday bölgenin tanımlanması amacıyla yapılan laboratuvar çalışmalarının üçüncüsü doğrultusunda, kısmi olarak dizisi bilinen bu bölgenin cDNA sonlarını elde etmek amacıyla RACE

deneyleri yapılmıştır. Yapılan bu deneyler neticesinde dizi analizinde 254 bç'lik tespit edilen aday bölgenin 5'ucundan 920 bç'lik bir kısmın uzatıldığı tespit edilmiştir (Şekil 4).



Şekil 4. Yapılan RACE analizlerinden elde edilen dizin analizi sonuçlarının NCBI Workbench yazılımında oturtulmuş şekli

TARTIŞMA

Kronik inflamatuvar hastalıkları gibi büyük popülasyonları etkileyen hastalıklarda, uygulanacak olan tedaviyi kişiselleştirmek ve hastalığın tedavisini takip edebilmek amacıyla yeni biyobelirteçlerin belirlenmesi oldukça önemlidir. Genomik yaklaşımlar ve genel gen ifadesi profillerinin çıkarılması bu yöndeki çalışmaların büyük bir kısmını oluşturmaktadır. Kronik inflamatuvar hastalıkların patofizyolojisi çeşitli hücre kültürü ve hayvan modelleme çalışmaları ile incelenmektedir (12). Hastalığın dokularda bıraktığı moleküler izler, hastalıklardaki doku ifadelerinde bıraktığı moleküler izlerden

daha belirgindir. Bu nedenle çok kolay bir şekilde ulaşılabilir olan periferik kanda hastalığa özgü gen ifade izlerini tespit etmek mümkündür (13). mRNA'lar, miRNA'lar ve lncRNA'lar gibi RNA transkript miktarlarındaki farklılıklar yeni biyobelirteç adaylarını oluşturmaktadır (9,10). Bu çalışmada ÜK hastalarının inflamasyonun en yoğun olduğu bölge ve normal kolonik mukozadan alınan biyopsi materyalleri arasındaki gen ifade farklılıklarının DD-PCR yöntemi kullanılarak ortaya konulması planlanmıştır. Bu sayede hastalığın ortaya çıkışı, seyri ile ilgili olabilecek biyobelirteçlerin tespit edilmesi ve hastalığın patogenezinin anlaşılmasına katkıda bulunulması hedeflenmiştir.

DD-PCR özellikle gen ifade çalışmalarında yaygın olarak kullanılmak üzere geliştirilmiş, nispeten eski ve uygulanması çok kolay olmayan bir yöntemdir. Bilinmeyen dizilimler ile çalışılmasına imkân vermesi dolayısıyla yeni genlerin keşfedilmesine olanak sağlayan bir sistemdir (14). Zuo ve arkadaşları tarafından 1997 yılında yapılan bir çalışmada ilk kez ÜK hastalarında bu yöntem ile hastalıklı ve normal doku arasındaki gen ifade farklılıklarının incelenmesi yapılmıştır. Bu çalışmada 8 adet değişken, 3 adet sabit primer seti kullanılarak 24'lü kombinasyon oluşturulmuş ve toplamda 25 adet transkriptte gen ifade farklılığı tespit edilmiştir. Yapılan DNA dizin analizleri neticesinde ifade farklılığı tespit edilen 25 adet gen bölgesinden 14 tanesinin diğer çalışmalar ile örtüşmesi, elde edilen verilerin güvenilirliğini desteklemektedir (15). Ancak bu çalışmanın 2000 yılında tamamlanan insan genom projesinden önce yapılmış olması ve kullanılan primer sayısının azlığı, çalışmada yapılan taramanın daha kapsamlı bir şekilde yapılabileceğini düşündürmüştür. Zuo ve arkadaşlarının çalışmasına kıyasla bu çalışma ile 12 adet değişken primer ve 3 adet sabit primer kullanılarak transkriptomun daha büyük bir yüzdesi taranmıştır. Farklı seviyede gen ifadesi gösteren 3 banttan yapılan DNA dizin ve BLAST analizleri neticesinde üç bölgenin de farklı genler içerisindeki intronik bölgelere yerleşim gösterdiği tespit edilmiştir. 1 numara olarak adlandırılan aday bölge, çalışma modeli oluşturması için detaylı analiz yapılmak üzere seçilmiştir.

Yine yapılan bir çalışmada DD-PCR yöntemi kullanılarak prostat kanseri olan hastaların kanlarında RNF19A (ring finger protein 19A) transkriptinin anlamlı derecede yüksek olduğu gösterilmiş ve bu sonuç qRT-PCR kullanılarak da teyit edilmiştir (16). Elde edilen sonuçlar bu yöntemin yeni biyobelirteçlerin araştırılmasında kullanılabilir, diğer yöntemlere göre birçok avantajları bulunan, nispeten eski ancak halen kabul gören bir yöntem olduğunu göstermektedir (16,17).

Uzunluğu 200 nükleotitten daha fazla olan; uzun kodlamayan RNA'lar (lncRNA) üzerine yapılan çalışmalar son yıllarda artmış ve gen ifadesinin düzenleyicileri olarak kabul edilmişlerdir (18,19). Yapılan literatür taramaları sonucunda bir inflamatuvar barsak hastalığı (IBH) olan ÜK ve lncRNA'ları kapsayan az sayıda çalışmaya rastlanmıştır. 2013 yılında Mirza ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, daha önce bu hastalıklarda belirlenmemiş lncRNA'ları sistematik olarak araştırmak, dizilerine ve yapısal özelliklerine göre ayırmak amaçlanmıştır. Bu doğrultuda IBH ve T1D aday genlerini çevreleyen 5 kb aşağı/yukarılık bir kısım taranmıştır. Sarmal yönüne bakılmaksızın 778 IBH ve 588 T1D aday geninin 5 kb aşağı/yukarılık kısmından ayrı ayrı 1131-537 intergenik lncRNA belirlenmiştir. Bu çalışma ile bilinen lncRNA'lar içerisinde tekrarlayan elementlerin sıklığı incelenmiş ve toplam lncRNA genlerinin yaklaşık %81'inin tekrarlayan elemanları barındırdığı belirlenmiştir (20). Bu tekrarlayan dizilerin %85'ini, araya serpiştirilen diziler olarak bilinen Short Interspersed Elements (SINE) (%34), Long Interspersed Elements (LINE) (%27), Long Terminal Repeat (LTR) (%13) ve DNA elementleri (%9) oluşturmaktadır. IBH ve T1D bölgeleri ilişkili ifadenme profilleri, İnsan Vücudu Haritalaması (Human Body Map-HMP) verileri kullanılarak yapılmıştır. Fragments per Kilobase of Exon permillion Reads (FPKM) >1 eşik değeri temel alınarak yapılan çalışmada IBH'deki lncRNA'lardan 251/4272, T1D'deki lncRNA'lardan 79/816'sının tüm HBM dokularında ifade olduğu görülmüştür (20). Bu çalışmada belirlenen aday bölgenin ticari olarak satın alınan dokularda gen ifadesinin araştırılması yapılmış ve bu dokuların tamamında (%100) değişen oranlarda ifade olduğu tespit edilmiştir (Şekil 2). Ayrıca bu çalışmanın temeli olan barsak dokusunda belirlenen aday bölgenin, aynı zamanda ticari olarak satın alınan kolon RNA'sında da ifade olduğunun belirlenmesi çalışmanın kendi içerisindeki sağlamasıdır.

2016 yılında yapılan bir çalışmada 12 ÜK hastasının inflamasyonlu ve normal dokuları arasında bir lncRNA olan H19'un gen ifade seviyeleri arasındaki farklılıklar araştırılmıştır. Sonuç olarak H19'un epitel bariyer fonksiyonunu bozarak ÜK gelişiminde önemli bir role sahip olduğu ve tedavide bir hedef olarak kullanılabilirliği öne sürülmüştür (21).

Sonuç olarak bu çalışma DD-PCR yöntemi ile ÜK hastalarında inflamasyonlu ve normal kolonik mukoza arasındaki gen ifade farklılıklarının araştırması esasında yapılan dizin analizleri neticesinde intronik bölgeye yerleşim gösteren ve 200 bç'den uzun olması nedeniyle lncRNA olduğu düşünülen bir bölgenin karakterizasyonu için ön çalışma niteliğindedir. Tespit edilen aday bölge ile ilgili yapılması hedeflenenler arasında; ÜK hastalarında hasta sayısını genişletmek ve hastaların kendi aralarındaki mevcut inflamasyon derecelerini gruplandırmak, varlığı kesin olan aday bölge ile ilgili öncelikle Northern Blot deneyleri ile transkriptin tam boyunu tespit etmek ve aday transkriptin fonksiyon analizinin gerçekleştirilme bulunmaktadır.

Çıkar Çatışması

Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması bildirmemiştir.

KAYNAKLAR

1. Jewell DP. Ulcerative Colitis. Sleisenger & Fordtran's Gastrointestinal and Liver Disease Pathophysiology/Diagnosis/Management. In: M. Feldman, Sleisenger, M.H, Scharschmidt B.F. 8nd ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company; 2006:p.2499-549.
2. Farrell RJ, Peppercorn MA. Ulcerative colitis. Lancet. 2002; 359(9303): 331-40.
3. Van Limbergen J, Russell RK, Drummond HE, Aldhous MC, Round NK, Nimmo ER, Smith L, Gillett PM, McGrogan P, Weaver LT, Bisset WM, Mahdi G, Arnott ID, Satsangi J, Wilson DC. Definition of phenotypic characteristics of childhood-onset inflammatory bowel disease. Gastroenterology. 2008; 135(4): 1114-22.
4. Brant SR. Update on the heritability of inflammatory bowel disease: the importance of twin studies. Inflamm Bowel Dis. 2011;17(1):1-5.
5. Ramasundara M, Leach ST, Lemberg DA, Day AS. Defensins and inflammation: the role of defensins in inflammatory bowel disease. J Gastroenterol Hepatol. 2009;24(2):202-8.
6. Jennette JC, Wilkman AS, and Falk RJ. Anti-neutrophil cytoplasmic autoantibody-associated glomerulonephritis and vasculitis. Am J Pathol. 1989; 135(5):921-30.
7. Lesavre P. ANCA; diversity and clinical applications. Advances Nephrol. 1993;22:237-67.
8. Rizzo A, Pallone F, Monteleone G, Fantini MC. Intestinal inflammation and colorectal cancer: a double-edged sword? World J Gastroenterol. 2011; 17(26): 3092-100.
9. White NM, Maher CA. The potential use of lncRNAs found in the 8q24 region as biomarkers for colon cancer. Ann Oncol. 2017 Aug 1;28(8):1688-1689.
10. Deng H, Wang JM, Li M, Tang R, Tang K, Su Y, Hou Y, Zhang J. Long non-coding RNAs: New biomarkers for prognosis and diagnosis of colon cancer. Tumour Biol. 2017 Jun;39(6):1010428317706332.
11. Liang P, Pardee AB. Analysing differential gene expression in cancer. Nat Rev Cancer. 2003;3(11):869-76.
12. Dudley JT1, Tibshirani R, Deshpande T, Butte AJ. Disease signatures are robust across tissues and experiments. Molecular systems biology. 2009;5(1):307.
13. Mesko B1, Poliska S, Szegedi A, Szekanecz Z, Palatka K, Papp M, Nagy L. Peripheral blood gene expression patterns discriminate among chronic inflammatory diseases and healthy controls and identify novel targets. BMC medical genomics. 2010;3(1):15.
14. Chang KC, Komm B, Arnold NB, Korc M. The application of differential display as a gene profiling tool. Methods Mol Biol. 2007; 383:31-40.
15. Zuo L1, Ogle CK, Fischer JE, Nussbaum MS. mRNA differential display of colonic mucosa cells in ulcerative colitis. Journal of Surgical Research. 1997; 69(1):119-127.
16. Bai VU1, Hwang O, Divine GW, Barrack ER, Menon M, Reddy GP, Hwang C. Averaged differential expression for the discovery of biomarkers in the blood of patients with prostate cancer. PLoS one. 2012;7(4):e34875.
17. Stein J, Liang P. Differential display technology: a general guide. Cell Mol Life Sci. 2002;59(8):1235-40.
18. Ponting CP, Oliver PL, Reik W. Evolution and functions of long noncoding RNAs. Cell. 2009;136:629-641. 8.
19. Whitehead J, Pandey GK, Kanduri C. Regulation of the mammalian epigenome by long noncoding RNAs. Biochim Biophys Acta. 2009;1790: 936-947
20. Mirza AH, Kaur S, Brorsson CA, Pociot F. Effects of GWAS-Associated Genetic Variants on lncRNAs within IBD and T1D Candidate Loci. PLoS one. 2014;9(8):e105723.
21. Chen SW, Wang PY, Liu YC, Sun L, Zhu J, Zuo S, Ma J, Li TY, Zhang JL, Chen GW, Wang X, Zhu QR, Zheng YW, Chen ZY, Yao ZH, Pan YS. Effect of Long Noncoding RNA H19 Overexpression on Intestinal Barrier Function and Its Potential Role in the Pathogenesis of Ulcerative Colitis. Inflamm Bowel Dis. 2016 Nov;22(11):2582-2592.