

Altered Expression of Long Non-Coding RNAs NEAT1, H19, and MALAT1 in Peripheral Blood Cells of Patients with Allergic Rhinitis after Treatment with Pharmaceutical Combinations of Budesonide and Fexofenadine versus Fluticasone Propionate and Fexofenadine

Asadi Gelayol¹, Falahi Sara², Rajabinejad Misagh³, Feizollahi Parisa⁴, Mortazavi Seyyed Hamidreza⁵, Gorgin Karaji Ali⁶, Salari Farhad⁷, Rezaeiemanesh Alireza⁸

1.MSc of Immunology, Department of Immunology, Faculty of Medicine, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran. 0000-0001-7197-541X.

2.MSc of Immunology, Department of Immunology, Faculty of Medicine, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran. 0000-0001-7435-7246.

3.Student Research Committee, Department of Immunology, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran. 0000-0002-1217-2059.

4.MSc of Immunology, Department of Immunology, Faculty of Medicine, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran. 0000-0003-0897-7345.

5.Allergy and Clinical Immunology Fellowship, Department of Pediatrics, Faculty of Medicine, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran. 0000-0001-8612-3914.

6.Associated professor of Immunology, Department of Immunology, Faculty of Medicine, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran. 0000-0003-4537-5722.

7.Assistant professor of immunology, Department of Immunology, Faculty of Medicine, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran. 0000-0003-3211-0354.

8.Assistant professor of immunology, Department of Immunology, Faculty of Medicine, Kermanshah University of Medical Sciences, Daneshgah Street, Shahid Shiroudi Boulevard, PO-Box: 6714869914, Kermanshah, Iran. 0000-0003-2551-705X, alireza.rezaeiemanesh@kums.ac.ir

ABSTRACT

Background and Aim: Allergic rhinitis is the most common chronic inflammatory disorder of the nasal mucosa. Long non-coding RNAs (lncRNA) are a group of non-coding RNAs involved in the pathogenesis of various inflammatory diseases. This study intended to evaluate the expression of long non-coding RNAs NEAT1, H19, and MALAT1 in patients with allergic rhinitis (AR) before and after treatment with budesonide and fexofenadine in comparison with fluticasone propionate and fexofenadine.

Materials and Methods: Blood samples were taken from 53 patients with allergic rhinitis (including 29 patients treated with budesonide and fexofenadine and 24 patients treated with fluticasone propionate and fexofenadine) before and one month after the initiation of treatment. The mRNA expression levels of NEAT1, H19, and MALAT1 were measured by the Real-Time PCR method.

Results: Our results showed that mRNA expression levels of H19 and MALAT1 significantly increased after treatment with budesonide and fexofenadine ($p = 0.001$, $p = 0.002$, respectively), while mRNAs expression levels of NEAT1 and H19 significantly decreased after treatment with fluticasone propionate and fexofenadine ($p = 0.014$, $p = 0.036$, respectively).

Conclusion: The combination of budesonide and fexofenadine by increasing the expression levels of MALAT1 and the combination of fluticasone propionate and fexofenadine by decreasing the expression level of NEAT1 and H19 were effective in reducing the clinical symptoms of allergic rhinitis patients.

Keywords: Allergic Rhinitis; lncRNA; Glucocorticoid; NEAT1; H19; MALAT1

Received: June 19, 2019

Accepted: July 9, 2019

How to cite the article: Hamideh Torkiyan, Sedigheh Sedigh Mobarakabadi, Alireza khajavi, Reza Heshmat, Samad Safiloo, Giti Ozgoli. Effect of Gallbladder 21 Acupressure on Length of Delivery in Nulliparous. *ŠJKU* 2023;27(1):74-86.

تغییر بیان RNAهای طول غیرکدکننده NEAT1، H19 و MALAT1 در سلول های خون محیطی بیماران مبتلا به رینیت آلرژیک پس از درمان با ترکیبات دارویی بودسوناید و فکسوفنادین در مقابل فلوتیکازون پروپیونات و فکسوفنادین

گلایول اسدی^۱، سارا فلاحی^۲، میثاق رجبی نژاد^۳، پریسا فیض الهی^۴، سید حمیدرضا مرتضوی^۵، علی گرگین کرچی^۶، فرهاد سالاری^۷، علیرضا رضایی منش^۸

۱. کارشناسی ارشد ایمونولوژی، گروه ایمونولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران. ۵۴۱-۷۱۹۷-۰۰۰۱-۰۰۰۰
۲. کارشناسی ارشد ایمونولوژی، گروه ایمونولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران. ۷۲۴۶-۷۴۳۵-۰۰۰۱-۰۰۰۰
۳. دانشجوی دکتری ایمونولوژی، گروه ایمونولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران. ۲۰۵۹-۱۲۱۷-۰۰۰۲-۰۰۰۰
۴. کارشناسی ارشد ایمونولوژی، گروه ایمونولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران. ۷۳۴۵-۰۸۹۷-۰۰۰۲-۰۰۰۰
۵. فوق تخصص بیماری های آسم، آلرژی و ایمونولوژی بالینی، گروه اطفال، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران. ۰۰۰۱-۰۰۰۰-۸۶۱۲-۳۹۱۴
۶. دانشیار ایمونولوژی، گروه ایمونولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران. ۵۷۲۲-۴۳۳۷-۰۰۰۳-۰۰۰۰
۷. استادیار ایمونولوژی، گروه ایمونولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران. ۳۵۴-۳۲۱۱-۰۰۰۳-۰۰۰۰
۸. استادیار ایمونولوژی، گروه ایمونولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، خیابان دانشگاه، بلوار شهید شیرودی، alirezazaeiemanesh@gmail.com صندوق پستی: ۶۷۱۴۸۶۹۹۱۴، کرمانشاه، ایران. ۷۰۵-۲۵۵۱-۰۰۰۳-۰۰۰۰

چکیده

زمینه و هدف: رینیت آلرژیک شایع ترین اختلال التهابی مزمن مخاط بینی است. RNA های طول غیرکدکننده (lncRNA) گروهی از RNA های غیرکدکننده می باشند که در پاتوژنز بیماری های التهابی مختلف نقش دارند. در این مطالعه هدف این است میزان بیان RNA های غیر کد کننده طول NEAT1، H19 و MALAT1 را در بیماران مبتلا به رینیت آلرژیک قبل و بعد از درمان با ترکیب دارویی فکسوفنادین و فلوتیکازون پروپیونات در مقایسه با ترکیب دارویی فکسوفنادین و بودسوناید بررسی شود.

مواد و روش ها: از ۵۳ بیمار مبتلا به رینیت آلرژیک (شامل ۲۹ بیمار تحت درمان با بودسوناید و فکسوفنادین و ۲۴ بیمار تحت درمان با فلوتیکازون پروپیونات و فکسوفنادین) قبل و یک ماه بعد از شروع درمان نمونه خون گرفته شد. سطح بیان RNA های NEAT1، H19 و MALAT1 قبل و یک ماه بعد از شروع درمان با استفاده از تکنیک Real-Time PCR اندازه گیری شد.

یافته ها: نتایج مطالعه ی ما نشان داد که سطح بیان RNA های H19 و MALAT1 بعد از درمان با بودسوناید و فکسوفنادین به طور معناداری افزایش یافت (به ترتیب $p = ۰/۰۰۱$ و $p = ۰/۰۰۲$) در حالی که سطح بیان RNA های NEAT1 و H19 بعد از درمان با فلوتیکازون پروپیونات و فکسوفنادین به طور معناداری کاهش یافت (به ترتیب $p = ۰/۰۱۴$ و $p = ۰/۰۳۶$).

نتیجه گیری: ترکیب بودسوناید و فکسوفنادین با افزایش سطح بیان MALAT1 و ترکیب فلوتیکازون پروپیونات و فکسوفنادین با کاهش سطح بیان NEAT1 و H19 در کاهش علائم بالینی بیماران مبتلا به رینیت آلرژیک موثر بودند.

کلمات کلیدی: رینیت آلرژیک، LncRNA، گلوکوکورتیکوئید، NEAT1، H19، MALAT1

وصول مقاله: ۱۴۰۰/۸/۲۶ اصلاحیه نهایی: ۱۴۰۱/۲/۲۴ پذیرش: ۱۴۰۱/۲/۲۶

مقدمه

رینیت آلرژیک (Allergic Rhinitis, AR) شایع ترین اختلال التهابی مزمن مخاط بینی است که در افراد مستعد از لحاظ ژنتیکی بعد از در معرض قرار گرفتن با آلرژن های استنشاقی ایجاد می شود. این بیماری با علائم بالینی مانند گرفتگی بینی، آبریزش بینی، عطسه، خارش بینی، انسداد بینی، سردرد، درد ناحیه صورت، گوش درد، خارش گلو، خروپف و ترشحات پشت بینی مشخص می شود. التهاب رینیت آلرژیک با فراخوانی و تجمع موضعی ماست سل ها، ائوزینوفیل ها، بازوفیل ها، سلول های کمکی نوع ۲ (Th2) و ترشح سایتوکاین ها و کموکاین های التهابی از این سلول ها همراه می باشد (۱). میزان شیوع جهانی رینیت آلرژیک ۱۰ تا ۳۰ درصد است و تقریباً ۴۰ درصد بیماران مستعد آسم هستند که به طور جدی بر کیفیت زندگی آنها تأثیر می گذارد و بار اقتصادی زیادی را بر دوش جامعه می گذارد. بنابراین درک بهتر پاتوژنز رینیت آلرژیک به منظور شناسایی اهداف درمانی جدید ضرورت می یابد (۲).

در سال های اخیر نقش RNA های طویل غیرکدکننده (Long Non-Coding RNAs, lncRNAs) در پاتوژنز بیماری های التهابی مختلف مورد توجه قرار گرفته است. lncRNA ها نوعی از RNA های غیر کد کننده با طولی بیش از دویست نوکلئوتید می باشند که فاقد چارچوب خوانش باز کد کننده ی پروتئین می باشند (۳). lncRNA ها در انواعی از فرآیند های فیزیولوژیک و پاتولوژیک، از جمله ؛ تنظیم اپی ژنتیک، تنظیم سیکل سلولی و تمایز سلولی، تنظیم عملکرد های سیستم ایمنی، سرطان، بیماری های قلبی عروقی، بیماری های عصبی و تنفسی دخیل هستند (۴).

MALAT1 یکی از اولین lncRNA هایی بود که در ارتباط با غربالگری ژن های همراه با آدنوکارسینوما ریه کشف شد و تحت عنوان MALAT1 (metastasis associated lung adenocarcinoma transcript 1) نام گذاری شد (۵). ماکروفاژهای مقیم مجاری تنفسی ملقب به ماکروفاژهای آلوئولار عموماً از پیش ساز های جنینی رده

ی میلوئیدی مشتق شده و در افراد سالم دارای ماهیت سرکوب کنندگی سیستم ایمنی مشابه با ماکروفاژهای نوع M2 است. در بیماران مبتلا به التهاب آلرژیک ظرفیت افزایش یافته ای از ترشح مدیاتورهای التهابی توسط این ماکروفاژها در حضور آلرژن گزارش شده است (۶). RNA طویل غیرکدکننده MALAT1 دارای عملکرد تنظیمی حیاتی در پلاریزاسیون ماکروفاژها به سمت M1 و مهار تمایز آن ها به سمت ماکروفاژهای M2 دارد (۷، ۸). در سلول های دندریتیک سل CD11c⁺ مشتق از موش های تحریک شده با لیپو پلی ساکارید، MALAT1 از طریق مسیر وابسته به NF-κB افزایش یافته و باعث ایجاد فنوتیپ تورلوژنیک در DC های فعال شده با لیپو پلی ساکارید و افزایش تولید اینترلوکین - ۱۰ می شود (۹). شواهد نشان داده اند که DC های تورلوژنیک، تحمل ایمنی را با تنظیم فعالیت سلول های T تنظیمی ایجاد می کنند که میتواند در تخفیف علائم آلرژیک موثر باشد (۱۰). Nuclear Enriched Abundant Transcript 1, NEAT1، دیگر RNA طویل غیرکد کننده می باشد که سطح سایتوکاین های Th2 از جمله اینترلوکین - ۴، اینترلوکین - ۵ و اینترلوکین - ۱۳ را در سلول های TCD4⁺ افزایش می دهد. NEAT1 موجب تمایز سلول های Th2 از طریق محور EZH2/ITCH/STAT6 می شود (۱۱). NEAT1 به عنوان بیومارکر برای مشخص کردن خطر و شدت بیماری آسم معرفی شده است و ارتباط مثبتی با افزایش بیان سایتوکاین های التهابی همانند فاکتور نکروز دهنده ی تومور آلفا (TNF-α)، اینترلوکین - ۱ آلفا و اینترلوکین - ۱۷ دارد (۱۲). H19 نیز یک RNA طویل غیرکد کننده است که اثرات آن در بیماری های مختلفی مطالعه شده است (۱۳، ۱۴). H19، بیان سایتوکاین های التهابی از جمله فاکتور نکروز دهنده ی تومور آلفا، اینترلوکین - ۱ آلفا، اینترلوکین - ۶، MCP-1 و فاکتور رشد اپی تلیال عروق (Vascular Endothelial Growth Factor, VEGF) و در نهایت آسیب های ریوی و فیبروز را در مدل های موشی مبتلا به سندرم

دارویی بودسوناید و فکسوفنادین و ترکیب دارویی فلوئیکازون پروپیونات و فکسوفنادین بر سطح بیان RNA های غیر کد کننده طویل NEAT1، H19 و MALAT1 در سلولهای خون محیطی گروه بیمار مبتلا به رینیت آلرژیک قبل و بعد از درمان می باشد. نتایج این مطالعه می تواند دانش ما را در مورد تاثیر مصرف داروهای نام برده بر سطح بیان این RNA های غیر کد کننده طویل و همچنین اثرات آنها در ایجاد یا کنترل رینیت آلرژیک افزایش داده و در تصمیم گیری در خصوص مصرف این داروها در آینده به ما کمک نماید.

مواد و روش ها

جمعیت مورد مطالعه:

مطالعه ی حاضر از نوع مطالعات کار آزمایی بالینی اتفاقی (Randomized Clinical Trial) می باشد. افراد ورود یافته به این پژوهش، شامل ۵۳ نفر از بیماران مراجعه کننده به کلینیک فوق تخصصی آسم و آلرژی بیمارستان محمد کرمانشاهی است که بیماری آنها توسط پزشک متخصص آسم و آلرژی براساس معیارهای تشخیصی رینیت آلرژیک (ARIA یا Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma) تایید شده است (۲۱). از همه ی شرکت کنندگان در مطالعه پس از کسب آگاهی در مورد اهداف و روش تحقیق رضایت نامه ی کتبی اخذ گردید و مطالعه با مجوز کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه با کد اخلاق (IR.KUMS.REC.1400.478) به انجام رسید. همچنین این مطالعه با دو شماره ثبت کارآزمایی بالینی (IRCT2017050233622N2 و IRCT2017042433622N2) در مرکز ثبت کارآزمایی های بالینی ایران (IRCT) تایید شد.

۵۳ بیمار مبتلا به رینیت آلرژیک توسط پزشک متخصص به صورت انتخاب تصادفی به دو گروه تقسیم شدند. گروه اول شامل ۲۹ بیمار (۱۸ مرد و ۱۱ زن، با میانگین سنی: $32/8 \pm 1/9$) که روزانه یک قرص ۶۰ میلی گرمی

دیسترس تنفسی حاد افزایش می دهد (۱۵). همچنین، H19 فعال سازی و تکثیر فیروبلاست ها و فیروز ریوی را از طریق محور miR-196a/COL1A1 افزایش می دهد (۱۶).

داروی فکسوفنادین به عنوان یک آنتی هیستامین نسل دوم دارای اثرات فارماکو کینتیک مطلوبی می باشد؛ در مطالعات درون تنی (in vivo) و برون تنی (in vitro) نشان داده شده است که فکسوفنادین علاوه بر بلوک کردن رسپتور های H1، پاسخهای التهابی آلرژیک که با واسطه ماست سل ها، بازوفیل ها، سلولهای اپی تلیال، ائوزینوفیل ها و لنفوسیت ها ایجاد می شود را نیز کاهش می دهد (۱۷). علاوه بر آنتی هیستامین های H1، کورتیکواستروئید های استنشاقی نیز یکی از درمان های اصلی می باشند که می توانند علائم رینیت آلرژیک را کنترل کنند؛ کورتیکواستروئید ها جزء عوامل ضدالتهابی موثری هستند که به طور گسترده در کنترل بیماری های آلرژیک استفاده می شوند (۱۸). بودسوناید گلوکوکورتیکواستروئیدی است که سابقه ای طولانی در درمان موضعی آسم و رینیت داشته و اثرات ضد آلرژیک آن کاملاً مشهود است (۱۹). داروی فلوئیکازون پروپیونات نیز یکی از استروئیدهای استنشاقی موثر می باشد که در درمان رینیت آلرژیک مورد استفاده قرار می گیرد (۲۰).

اثر بخشی کورتیکواستروئیدهای استنشاقی مانند بودسوناید و فلوئیکازون پروپیونات که نسبت به کورتیکواستروئید های سیستمیک داری عوارض کمتری می باشند و همچنین آنتی هیستامین های نسل دوم مانند فکسوفنادین که داری اثرات طولانی مدت و عوارض جانبی کمتری می باشند در بهبود علائم رینیت آلرژیک به تایید رسیده و بسیاری از درمانگران این داروهای مرسوم را یکی از گزینه های درمانی لازم در درمان رینیت آلرژیک می دانند (۱۷، ۱۹). بنابراین با توجه به اثربخشی این داروهای مرسوم در درمان بیماران رینیت آلرژیک و همچنین اهمیت و نقش RNA های غیر کد کننده طویل در بیماری های آلرژیک و تنفسی، هدف از انجام این مطالعه بررسی تاثیر ترکیب

فکسوفنادین و دو پاف بودسونايد به مدت ۳۰ روز دریافت نمودند و گروه دوم شامل ۲۴ بیمار (۱۵ مرد و ۹ زن، با میانگین سنی: 34.4 ± 1.2) که روزانه یک قرص ۶۰ میلی گرمی فکسوفنادین و دو پاف فلوئیکازون پروپیونات به مدت ۳۰ روز دریافت نمودند. معیارهای ورود به مطالعه شامل داشتن سن بین ۱۸ تا ۶۵ سال از هر دو جنس زن و مرد، ابتلا به رینیت آلرژیک براساس شرح حال معاینات بالینی و داشتن علائم عطسه، خارش بینی، آبریزش بینی و احتقان بینی بود. لازم به ذکر است که معیار خروج از مطالعه بیمارانی بودند که در دوماه اخیر داروهای ضد التهابی غیر استروئیدی به استثنای داروهای نام برده را مصرف کرده اند. همچنین زنان باردار، افراد زیر ۱۸ سال و اشخاصی با سابقه ی سایر بیماری های التهابی، عفونت شدید و سرطان از مطالعه خارج شدند. قبل و یک ماه بعد از شروع درمان برای هر بیمار پرسشنامه ای مربوط به ارزیابی علائم بالینی براساس معیارهای ARIA تنظیم و تکمیل شد که در آن علائم پنج گانه انسداد راه هوایی، عطسه، خارش بینی، خارش چشم، آبریزش چشم و آبریزش بینی بررسی شد. بیماران شدت علائم بالینی خود را با توجه به ۵ نمره (score) گزارش کردند (نمره صفر، عدم وجود علائم؛ نمره ۱، علائم خفیف با حداقل آگاهی؛ نمره ۲، علائم خفیف که با فعالیت های روزمره و خواب تداخل ندارند؛ نمره ۳، علائم متوسط یا قابل تحمل که با فعالیت های روزمره و خواب تداخل ندارند؛ نمره ۴، علائم شدیدی که گاهی اوقات در فعالیت های روزمره و خواب تداخل ایجاد می کنند؛ نمره ۵، علائم شدیدی که تحمل آن دشوار است و فعالیتهای منظم روزانه و خواب را مختل می کند). نمونه گیری از خون:

از هر بیمار ۷ میلی لیتر خون محیطی قبل از درمان و یک ماه پس از شروع درمان گرفته شد. ۲ میلی لیتر از نمونه ی خون برای اندازه گیری سطح بیان lncRNA های NEAT1، MALAT1 و H19 به لوله حاوی EDTA منتقل شد. اندازه گیری سطح IgE توتال سرمی و درصد ائوزینوفیلی:

سنجش سطح IgE توتال سرمی با تکنیک الایزا طبق پروتکل کیت (IgE EIA Kit, Pad-tan Elm, Iran) با استفاده از دستگاه ELISA reader STAT FAX4200 اندازه گیری شد. همچنین از هر نمونه گسترش خونی تهیه شد تا به روش میکروسکوپی درصد سلول های ائوزینوفیل محاسبه گردد.

استخراج RNA، سنتز cDNA:

استخراج RNA از نمونه های خون محیطی حاوی EDTA با استفاده از کیت یکتا تجهیز آزما (Yekta Tajhiz Azma) براساس پروتکل انجام شد. غلظت و خلوص RNA استخراج شده با استفاده از دستگاه نانودراپ (NanoDrop 2000UV-Vis Spectrophotometer / Thermo Scientific, USA) و اینتگریتی با ژل آگارز ۱ درصد بررسی شد. RNA های استخراج شده تا مرحله سنتز cDNA در دمای ۸۰- نگهداری شدند. سنتز cDNA از mRNA تام با استفاده از کیت یکتا تجهیز آزما (Yekta Tajhiz Azma) براساس پروتکل شرکت و با استفاده از دستگاه ترموسایکلر (Bio-Rad Thermal Cycler) انجام شد. غلظت و خلوص cDNA سنتز شده با استفاده از دستگاه نانودراپ اندازه گیری شد و سپس جهت انجام مراحل بعدی در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شد.

Real-time PCR:

سطح بیان ژن های NEAT1، H19 و MALAT1 با تکنیک Real-time PCR کمی (RT-qPCR) و با استفاده از دستگاه 96 Roche Life Science LightCycle® مورد بررسی قرار گرفت. از ژن RNA به عنوان ژن خانه دار (Housekeeping) و یا کنترل داخلی استفاده گردید. توالی پرایمرهای اختصاصی برای واکنش در جدول ۱ نشان داده شده است. واکنش RT-qPCR در حجم کلی ۱۵ ماکرولیتر شامل ۷/۵ میکرولیتر مستر میکس سایبرگرین شرکت Ampliqon (RealQ Plus 2x MasterMix Green without Rox)، ۰/۵ ماکرولیتر از هر پرایمر، ۱ ماکرولیتر cDNA و

۵/۵ ماکرولیتر آب فاقد نوکلئاز طبق برنامه ی ذکر شده در جدول ۲ انجام شد.

جدول ۱. پرایمر های اختصاصی جهت واکنش Real-Time PCR

اندازه (جفت باز)	پرایمر برگشت	پرایمر رفت	ژن
۱۰۴	ACTTCCTCCTCCTAAGCCTCTG	GCCAGTGTGAGTCCTAGCATTG	NEAT1
۱۳۱	CAACCAGTGCAAATGACTTAG	TTTCATCCTTCTGTCTCTTTGT	H19
۱۷۹	GTGGCAAAATGGCGGACTTT	GCTCTGTGGTGTGGGATTGA	MALAT1
۹۴	AACGCTTCACGAATTTGCGT	CTCGCTTCGGCAGCACA	U6 snRNA

جدول ۲. برنامه ی زمان بندی دستگاه Real-time PCR

تعداد سیکل	دما	زمان	نوع برنامه
۱	۹۵ درجه سلیسیوس	۲۰ ثانیه	incubation-Pre
۴۰	۹۵ درجه سلیسیوس ۶۰ درجه سلیسیوس	۱۰ ثانیه ۲۰ ثانیه	2 Step Amplification
۱	۹۵ درجه سلیسیوس ۶۰ درجه سلیسیوس ۹۵ درجه سلیسیوس	۵ ثانیه ۶۰ ثانیه ۱ ثانیه	Melting
۱	۵۰ درجه سلیسیوس	۳۰ ثانیه	Cooling

تجزیه و تحلیل آماری:

آنالیز آماری داده های بدست آمده و رسم نمودارها به ترتیب با استفاده از نرم افزارهای SPSS نسخه ۱۶ (SPSS, Chicago, IL, USA) و graphPad Prism (GraphPad, Software, La Jolla, نسخه ۸, California, USA) انجام شد. نرمال بودن توزیع داده ها با آزمون کولموگروف - اسمیرنوف ارزیابی شد. برای مقایسه ی داده های غیرنرمال (سن و جنس) بین دو گروه تحت درمان از آزمون من ویتنی استفاده شد. مقایسه ی تغییرات میان گروهی برای داده های غیرنرمال (NEAT1)،

MALAT1 H19، IgE و درصد ایوزینوفیل ها) با استفاده از آزمون ویلکاکسون انجام شد. متغیرهای کمی به صورت میانگین $\pm$ انحراف از معیار بیان شدند. مقدار P کمتر از ۰/۰۵ به عنوان سطح آماری معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته ها

نتایج آنالیز های آماری با استفاده از آزمون آماری من ویتنی نشان داد که اختلاف معنی داری بین دو گروه بیمار تحت درمان از لحاظ سن و جنس وجود نداشت (به ترتیب $p = ۰/۶$ ، $p = ۰/۸$). سطح بیان mRNA های NEAT1،

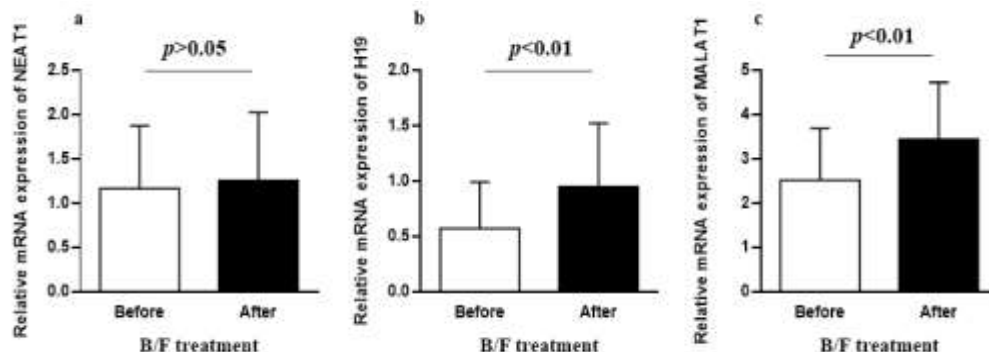
H19 و MALAT1 در هر دو گروه بیمار تحت درمان در مقایسه با قبل از درمان مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. آنالیز داده ها با استفاده از آزمون آماری ویلکاکسون نشان داد که سطح بیان RNA های H19 و MALAT1 بعد از درمان با بودسوناید و فکسوفنادین به طور معناداری افزایش یافت (به ترتیب $p = 0/001$ ، $p = 0/002$) در حالی که تغییرات معنی داری در بیان ژن NEAT1 در این بیماران قبل و بعد از درمان مشاهده نشد ($p = 0/536$) (نمودار ۱). همچنین، آنالیز داده ها نشان داد که سطح بیان RNA های NEAT1 و H19 بعد از درمان با فلوتیکازون پروپیونات و فکسوفنادین به طور معناداری کاهش یافت (به ترتیب $p = 0/014$ ، $p = 0/036$) در حالی که تفاوت معنی داری بین سطح بیان ژن MALAT1 در این بیماران قبل و بعد از درمان مشاهده نشد ($p = 0/199$). (نمودار ۲).

به علاوه نتایج آنالیزهای آماری با استفاده از آزمون آماری ویلکاکسون نشان داد که سطح IgE سرمی و همچنین

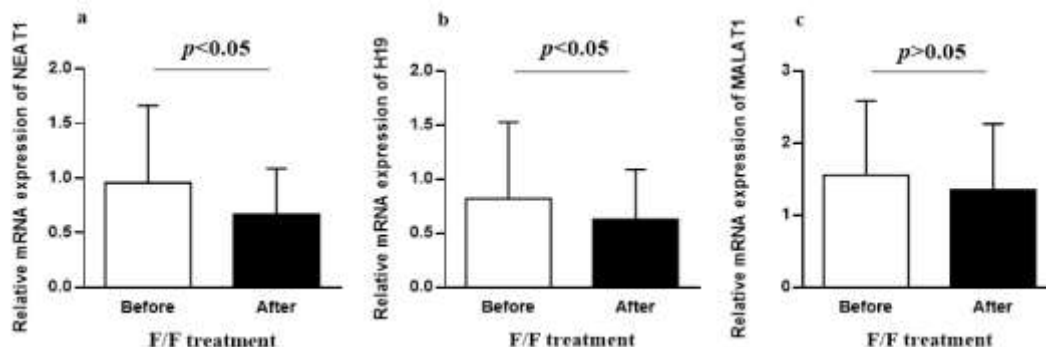
درصد سلول های ائوزینوفیل ها یک ماه بعد از درمان با بودسوناید و فکسوفنادین به طور معناداری کاهش یافت (به ترتیب $p = 0/019$ ، $p = 0/0001$) (نمودار ۳).

همچنین یافته های ما نشان داد که سطح IgE سرمی یک ماه بعد از درمان با فلوتیکازون پروپیونات و فکسوفنادین به طور معناداری افزایش یافت ($p = 0/003$) در حالی که درصد سلول های ائوزینوفیل ها بعد از درمان در مقایسه با قبل از درمان به طور قابل ملاحظه ای کاهش یافت ($p = 0/006$) (نمودار ۴).

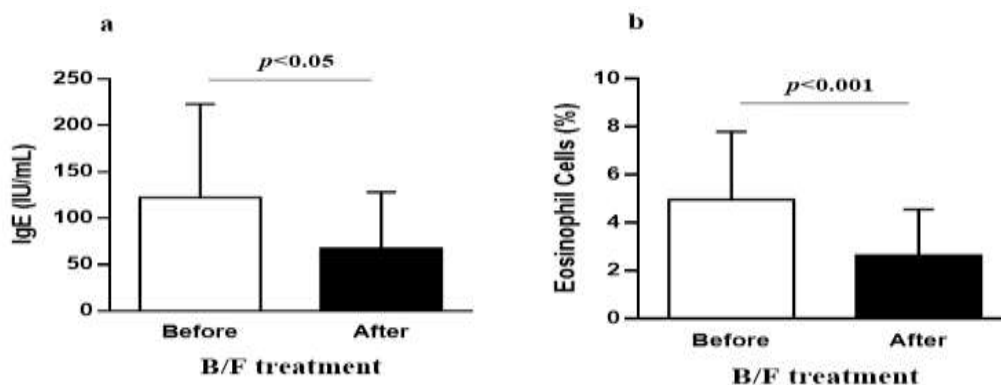
در جدول ۳ مقایسه ی میانگین نمره ی علایم بالینی مختلف قبل و بعد از درمان آورده شده است. همان طور که مشاهده می شود میانگین علایم بالینی عطسه، آبریزش بینی، گرفتگی بینی، خارش بینی، خارش چشم، آبریزش چشم بعد از درمان در هر دو گروه تحت درمان با ترکیب دارویی بودسوناید و فکسوفنادین و ترکیب دارویی فلوتیکازون پروپیونات و فکسوفنادین به طور معناداری کاهش یافته است ($p < 0/001$).



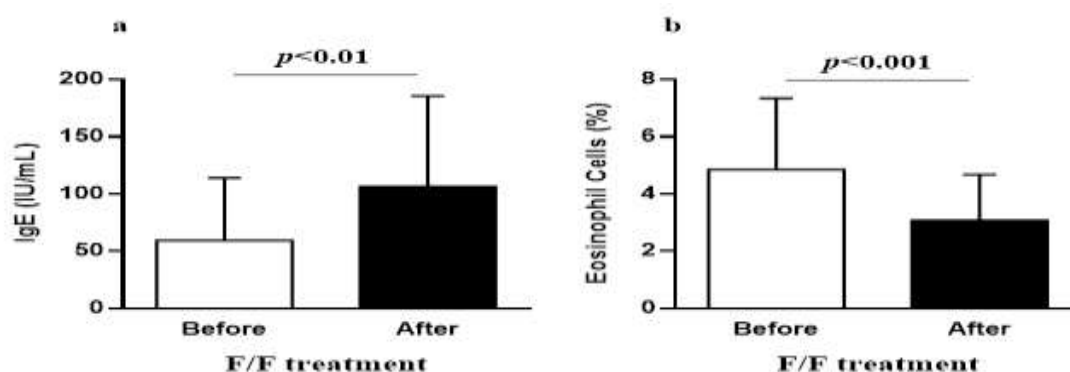
نمودار ۱. مقایسه سطح بیان RNA های غیر کدکننده طویل NEAT1، H19 و MALAT1 در بیماران مبتلا به رینیت آلرژیک قبل و بعد از درمان با بودسوناید و فکسوفنادین. a. سطح بیان ژن NEAT1 بعد از درمان در مقایسه با قبل از درمان تفاوت معناداری نداشت ($p > 0.05$). b, c. سطح بیان ژن های H19 و MALAT1 بعد از درمان در مقایسه با قبل از درمان افزایش معناداری داشت ($p < 0.01$).



نمودار ۲. مقایسه سطح بیان RNA های غیر کد کننده NEAT1، H19 و MALAT1 در بیماران مبتلا به رینیت آلرژیک قبل و بعد از درمان با فلوئیکازون پروپیونات و فکسوفنادین. a. سطح بیان ژن های NEAT1 و H19 بعد از درمان در مقایسه با قبل از درمان کاهش معناداری داشت ($p < 0.05$). c. سطح بیان ژن MALAT1 بعد از درمان در مقایسه با قبل از درمان تفاوت معناداری نداشت ($p > 0.05$).



نمودار ۳. مقایسه سطح IgE توتال سرمی و درصد ائوزینوفیل ها در بیماران مبتلا به رینیت آلرژیک قبل و بعد از درمان با بودسوناید و فکسوفنادین. a. سطح IgE توتال سرمی بعد از درمان در مقایسه با قبل از درمان کاهش معناداری داشت ($p < 0.05$). b. درصد ائوزینوفیل ها بعد از درمان در مقایسه با قبل از درمان کاهش معناداری داشت ($p < 0.001$).



نمودار ۴. مقایسه سطح IgE توتال سرمی و درصد ائوزینوفیل ها در بیماران مبتلا به رینیت آلرژیک قبل و بعد از درمان با فلوئیکازون پروپیونات و فکسوفنادین. a. سطح IgE توتال سرمی بعد از درمان در مقایسه با قبل از درمان افزایش معناداری داشت ($p < 0.01$). b. درصد ائوزینوفیل ها بعد از درمان در مقایسه با قبل از درمان کاهش معناداری داشت ($p < 0.001$).

جدول ۳. علائم بالینی بیماران (برحسب score) قبل و بعد از درمان

علائم بالینی	عطسه	آبریزش بینی	گرفتگی بینی	خارش بینی	خارش چشم	آبریزش چشم
قبل از درمان با ف/ف	۴/۰۳±۰/۳۰	۳/۹۶±۰/۳۴	۳/۶۲±۰/۲۶	۳/۲۸±۰/۴۲	۱/۹۶±۰/۲۷	۱/۹۳±۰/۳۱
بعد از درمان با ف/ف	۰/۷۲±۰/۱۸	۰/۶۹±۰/۱۷	۰/۶۲±۰/۲۴	۰/۵۵±۰/۲۰	۰/۴۱±۰/۱۸	۰/۳۸±۰/۱۲
p value	p < ۰/۰۰۱	p < ۰/۰۰۱	p < ۰/۰۰۱	p < ۰/۰۰۱	p < ۰/۰۰۱	p < ۰/۰۰۱
قبل از درمان با ف/ف	۵/۲±۰/۲۸	۵/۳۲±۰/۲۶	۴/۱۶±۰/۴۰	۳/۲۸±۰/۴۶	۲/۸۴±۰/۴۹	۲/۹۶±۰/۴۳
بعد از درمان با ف/ف	۱±۰/۲۶	۰/۸۸±۰/۳۳	۰/۴۸±۰/۱۹	۰/۵۶±۰/۱۷	۰/۶۴±۰/۲۶	۰/۳۶±۰/۲۲
p value	p < ۰/۰۰۱	p < ۰/۰۰۱	p < ۰/۰۰۱	p < ۰/۰۰۱	p < ۰/۰۰۱	p < ۰/۰۰۱

ب/ف: بودسوناید و فکسوفنادین؛ ف/ف: فلو تیکازون پروپونات و فکسوفنادین

بحث

با استفاده از فن آوری ژنومیکس، هزاران RNA غیرکدکننده شامل lncRNA ها و miRNA ها کشف شده اند و نقش آنها در تنظیم بیان ژن های کد کننده مختلف مورد بررسی قرار گرفته است (۲۲). lncRNA ها، نه تنها توضیحاتی در مورد فرآیندهای فیزیولوژیکی و آسیب شناختی موجودات زنده ارائه می دهند، بلکه چشم اندازهای جدیدی را برای تشخیص، پیشگیری و درمان برخی از بیماری ها در اختیار ما می گذارند (۲۳). گیرنده گلوکوکورتیکوئید (GR) چندین برهمکنش پیچیده با مکانیسم های اپی ژنتیکی دارد و عملکرد آن با آنزیم های اصلاح کننده هیستون و DNA تغییر می کند و همچنین به وسیله RNA های غیرکدکننده تضعیف می شود (۲۴). مطالعات اخیر RNA های غیرکدکننده را به التهاب، سیگنالینگ گلوکوکورتیکوئید و شرایط پاتولوژیک مرتبط کرده است (۲۵، ۲۶). با این حال، درگیری خاص RNA های غیرکدکننده ها و به ویژه lncRNA ها، در مکانیسم های رونویسی گیرنده گلوکوکورتیکوئید (GR) هنوز به طور کامل بررسی نشده است. در اصل، این lncRNA ها ممکن است بر قطبیت رونویسی گیرنده گلوکوکورتیکوئیدها (GR) تأثیر بگذارند، یا به عنوان تنظیم کننده های رونویسی عمل کنند (۲۷). مطالعات متعددی نقش نوظهور ncRNA ها در سیگنالینگ گیرنده گلوکوکورتیکوئید (GR) را بررسی کرده اند (۲۴). به

عنوان مثال مطالعات نشان داده اند که lncRNA GAS5 عملکرد GR را تنظیم می کند، به این صورت که Gas5 به GR متصل شده و از اتصال رسپتور به عنصر پاسخ دهنده به گلوکورتیکوئید (GRE) جلوگیری می کند و در نتیجه از بیان ژن هدف جلوگیری می کند (۲۸، ۲۹). با این حال، مکانیسم های تنظیم ژنتیکی و اپی ژنتیکی بیان ژن توسط گلوکوکورتیکوئیدها در طی شرایط فیزیولوژیکی و پاتوفیزیولوژیک هنوز به خوبی شناخته نشده اند و نیاز به تحقیقات بیشتر در این زمینه وجود دارد.

در مطالعه ای، wang و همکارانش نشان دادند که سطح بیان NEAT1 در مخاط بینی بیماران مبتلا به رینیت آلرژیک در مقایسه با گروه کنترل سالم افزایش معناداری داشت در حالی که بیان تارگت های آن شامل miR-125a و 121، miR-124 کاهش معناداری داشت. از طرفی نتایج آنها نشان داد که بیان NEAT1 دارای ارتباط منفی با miR-121 و miR-125a و ارتباط مثبتی با شدت بیماری و التهاب بود در حالی که تارگت های آن (miR-125a، miR-121) ارتباط منفی با شدت بیماری و التهاب رینیت آلرژیک داشتند (۳۰). مطالعه ی دیگری در ارتباط با نقش H₁₉ در فیروز ریوی نشان داد که بیان H₁₉ به صورت معنی داری در بافت های فیروتیک بیمار مبتلا به فیروز ریوی ایدیوپاتیک افزایش پیدا می کند، در حالیکه بیان تارگت آن (miR-140) در این بافت ها کاهش پیدا می کند. آن ها همچنین نشان دادند H₁₉

بوده است. به طور مثال افزایش بیان MALAT1 در بیماران مبتلا به آسم با هدف قرار دادن miR155 باعث افزایش تمایز سلول های Th2 در این بیماران می شود (۳۲) همچنین Knockdown MALAT1 فعال سازی ماکروفاژهای M1 القا شده با LPS را تضعیف می کند. در مقابل، تمایز ماکروفاژهای M2 فعال شده با اینترلوکین-۴ را افزایش می دهد. در نتیجه، MALAT1 می تواند از طریق افزایش فنوتیپ ماکروفاژهای M2 پروفیبروتیک در پاتوژن بیماری های ریوی دخیل باشد (۷). همچنین MALAT1 از طریق محور miR155/DC-SIGN/IL10 باعث القای سلول های دندریتیک تولروژنیک و سلول های Treg می شود (۹). همچنین، MALAT1 مشتق شده از سلولهای اپیتلیال می تواند تعدیل کننده سیستم ایمنی برای ریز محیط های التهابی باشد. مهار MALAT1 در سلول های اپی تلایل راه های هوایی (AEC) می تواند باعث ترشح سایتوکاین های پیش التهابی فاکتور نکروز دهنده ی تومور آلفا، اینترلوکین -۶، اینترفرون گاما و ترشح کموکاین های CXCR2 و CXCR4 می شود و باعث مهار ترشح سایتوکاین اینترلوکین -۴ در DC های کشت داده شده با AEC شود (۳۳). نتایج مطالعه ما، افزایش معنی داری از بیان ژن MALAT1 را در گروه بیماران مبتلا به رینیت آلرژیک بعد از درمان با بودسوناید و فکسوفنادین در مقایسه با قبل از درمان نشان داد ($p < 0.01$). در حالی که تفاوت معنی داری در بیان ژن MALAT1 در گروه بیماران تحت درمان با فلویتیکازون پروپیونات و فکسوفنادین مشاهده نشد ($p > 0.05$). با توجه به مطالعات ذکر شده به نظر می رسد MALAT1 نقش ضد التهابی و تنظیمی خود را در بیماران مبتلا به رینیت آلرژیک دریافت کننده ی داروهای فکسوفنادین و بودسوناید نشان داده است. هرچند برای دسترسی به نتایج قطعی نیاز به آزمایشات جامعتری میباشد.

در ادامه نتایج مطالعه حاضر، کاهش معنی دار سطح سرمی IgE در گروه بیماران دریافت کننده ی فکسوفنادین و بودسوناید و افزایش معنی دار سطح IgE پس از درمان با

Knockdown، فیروز ریوی را از طریق شبکه تنظیمی مسیر سیگنالینگ H19-miR-140-TGF- β /smad 3 کاهش می دهد و H19 و miR-140 را به عنوان اهداف درمانی بالقوه برای تشخیص اولیه و بیومارکر های پیش آگهی بیماری فیروز ریوی پیشنهاد دادند (۳۱). همسو با نتایج مطالعات ذکر شده و نقش NEAT1 و H19 در بیماریهای آلرژیک، نتایج مطالعه ما نشان داد که ترکیب دارویی فلویتیکازون پروپیونات و فکسوفنادین از طریق کاهش قابل ملاحظه ی سطح بیان NEAT1 و H19 در بهبود علائم بالینی بیماران مبتلا به رینیت آلرژیک موثر بوده است.

با توجه به اینکه علائم در هردو گروه از بیماران تخفیف یافت و با در نظر گرفتن اینکه H19 یکی از تنظیم کنندگان مثبت فاکتور رونویسی NF- κ B است می توان علت این تناقض را در اثرگذاری متفاوت ترکیب های دارویی استفاده شده بر بیان این فاکتور رونویسی مهم در مسیر تولید واسطه های التهابی اشاره شده جستجو کرد. مطالعات نشان داده اند که فکسوفنادین و بودسوناید هر دو قادر به کاهش بیان NF- κ B هستند اما اثرات مهاری بودسوناید نسبت به فکسوفنادین بیشتر است. بنابراین میتوان افزایش بین H19 در گروه تحت درمان با بودسوناید را به راه افتادن یک مکانیسم تنظیمی جبرانی در جریان خون برای افزایش بیان NF- κ B که در بالادست آن RNA غیرکدکننده H19 است دانست. قطعاً برای آزمودن درست این فرضیه نیاز به استفاده از نمونه های مخاطی و سنجش همزمان بیان NF- κ B در مطالعات آینده است. علاوه بر این درست است که در بازه ی مورد بررسی در مطالعه ی ما تفاوت محسوسی در وضعیت بیماران نسبت به یکدیگر دیده نشد، اما شاید Follow-up بیماران در بازه ی طولانی تر میتواند نتایج دیگری به همراه داشته باشد که یکی از ضعف های مطالعه حال حاضر بوده و حتماً در مطالعات آتی مورد توجه قرار خواهد گرفت.

مطالعات مختلفی در خصوص اثر MALAT1 در بیماریهای آلرژیک انجام شده که همراه با نتایج متناقضی

فلوتیکازون پروپیونات و فکسوفنادین در مقایسه با قبل از درمان مشاهده شد. براساس مطالعات گذشته، کورتیکواستروئیدها مانع سنتز IgE توسط لنفوسیت های B نمی شوند و از طرف دیگر در بیماران آسم نشان داده شده است که استفاده از گلوکوکورتیکوئید غلظت IgE سرم را افزایش می دهد. بر همین اساس، افزایش سطح سرمی IgE ممکن است به دلیل استفاده از کورتیکواستروئید استنشاقی (فلوتیکازون پروپیونات) در بیماران درمان شده با فلوتیکازون پروپیونات و فکسوفنادین باشد. (۳۴). از طرف دیگر، برخلاف تاثیر گلوکوکورتیکوئید در غلظت IgE سرم، مطالعات نشان داده اند که فکسوفنادین می تواند باعث کاهش سطح سرمی IgE شود و یا اثری روی آن نداشته باشد (۱۷, ۳۵).

نتیجه گیری

نتایج مطالعه ی ما نشان می دهد که ترکیب دارویی بودسوناید و فکسوفنادین با افزایش سطح بیان MALAT1 و ترکیب دارویی فلوتیکازون پروپیونات و فکسوفنادین با کاهش سطح بیان NEAT1 و H19 در کاهش علائم بالینی بیماران مبتلا به رینیت آلرژیک موثر می باشند. با توجه به اینکه هر دو روش درمانی تأثیر تقریباً یکسانی در کاهش علائم بالینی رینیت آلرژیک داشته اند بنابراین می توان نتیجه گرفت که احتمالاً داروهای مذکور از طریق تاثیر بر ژن های هدف متفاوت و درگیر کردن مسیر های سیگنالینگ مختلف در کاهش علائم بالینی بیماران رینیت آلرژیک موثر بوده اند. در مطالعه ی حاضر چندین

منابع

محدودیت وجود دارد از جمله اینکه در این مطالعه اهداف lncRNA ها شامل miR ها و ارتباط آنها با یکدیگر و مسیر های سیگنالینگ مرتبط به آنها و همچنین ارتباط سطح سایتوکاین ها و کموکاین های پیش التهابی با lncRNA مورد بررسی قرار نگرفته است. از طرفی تعداد محدود نمونه ها ممکن است قدرت آماری مطالعه ما را کاهش داده باشد. همچنین عدم بررسی بیان lncRNA در نمونه های مخاط بینی و عدم وجود گروه های کنترل تک دارویی به جهت مقایسه اثرات درمانی از جمله محدودیت های دیگر مطالعه به شمار می روند. بنابراین به مطالعات بیشتری نیاز است تا با بررسی های بیشتر این lncRNA ها و نقش آن ها در پاتوژنز رینیت آلرژیک و مشخص کردن ژنهای هدف آنها، بتوان نقش دقیق آنها را در پاتوژنز بیماری رینیت آلرژیک و همچنین ارتباط بیان آنها با گیرنده گلوکوکورتیکوئید در این بیماران بعد از تجویز این دارو ها را تعیین کرد.

تشکر و قدردانی

این پژوهش در قالب طرح تحقیقاتی و با مساعدت های مالی دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه در دانشکده پزشکی با کد اخلاق (IR.KUMS.REC.1400.478) و شماره طرح ۴۰۰۵۳۸ انجام شده است که بدین وسیله از آن ها قدردانی می شود. هیچ کدام از نویسندگان این مطالعه، افراد و یا دستگاه ها تعارض منافی برای انتشار این مقاله ندارند.

- 1.Small P, Frenkiel S, Becker A, Boisvert P, Bouchard J, Carr S, et al. Rhinitis: A Practical and Comprehensive Approach to Assessment and Therapy. J Otolaryngol. 2007;36.
- 2.Brożek JL, Bousquet J, Agache I, Agarwal A, Bachert C, Bosnic-Anticevich S, et al. Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma (ARIA) guidelines—2016 revision. J Allergy Clin Immunol. 2017;140(4):950-8.
- 3.Esteller M. Non-coding RNAs in human disease. Nat Rev Genet. 2011;12(12):861-74.
- 4.Liu Y, Zhang R, Ying K. Long non-coding RNAs: Novel links in respiratory diseases. Mol Med Rep. 2015;11(6):4025-31.

5. Ji P, Diederichs S, Wang W, Böing S, Metzger R, Schneider PM, et al. MALAT-1, a novel noncoding RNA, and thymosin β 4 predict metastasis and survival in early-stage non-small cell lung cancer. *Oncogene*. 2003;22(39):8031-41.
6. Faith A, Corrigan C, Hawrylowicz CM. Dendritic cells, macrophages and monocytes in allergic disease. *Allergy Frontiers: Classification and Pathomechanisms*: Springer; 2009. p. 195-207.
7. Cui H, Banerjee S, Guo S, Xie N, Ge J, Jiang D, et al. Long noncoding RNA Malat1 regulates differential activation of macrophages and response to lung injury. *JCI Insight*. 2019;4(4).
8. Gutschner T, Hämmerle M, Eißmann M, Hsu J, Kim Y, Hung G, et al. The noncoding RNAMALAT1 is a critical regulator of the metastasis phenotype of lung cancer cells. *Cancer Res*. 2013;73(3):1180-9.
9. Wu J, Zhang H, Zheng Y, Jin X, Liu M, Li S, et al. The long noncoding rna malat1 induces tolerogenic dendritic cells and regulatory t cells via mir/۱۵۵ dendritic cell-specific intercellular adhesion molecule-3 grabbing nonintegrin/il10 axis. *Front Immunol*. 2018;9:1847.
10. Sun W, Wei JW, Li H, Wei FQ, Li J, Wen WP, editors. Adoptive cell therapy of tolerogenic dendritic cells as inducer of regulatory T cells in allergic rhinitis. *Int Forum Allergy Rhinol*; 2018: Wiley Online Library.
11. Huang S, Dong D, Zhang Y, Chen Z, Geng J, Zhao Y. NEAT1 regulates Th2 cell development by targeting STAT6 for degradation. *Cell Cycle*. ۹-۳۱۲:(۳)۱۸;۲۰۱۹
12. Li X, Ye S, Lu Y. Long non-coding RNA NEAT1 overexpression associates with increased exacerbation risk, severity, and inflammation, as well as decreased lung function through the interaction with microRNA-124 in asthma. *J Clin Lab Anal*. 2020;34(1):e23023.
13. Alipoor B, Parvar SN, Sabati Z, Ghaedi H, Ghasemi H. An updated review of the H19 lncRNA in human cancer: molecular mechanism and diagnostic and therapeutic importance. *Mol Biol Rep*. 2020:1-18.
14. Wang B, Suen CW, Ma H, Wang Y, Kong L, Qin D, et al. The Roles of H19 in Regulating Inflammation and Aging. *Front Immunol*. 2020;11:2769.
۱۵. Mu X, Wang H, Li H. Silencing of long noncoding RNA H19 alleviates pulmonary injury, inflammation and fibrosis in acute respiratory distress syndrome rats through regulating MicroRNA-423- 5p/FOXA1 axis. 2021;47(4):183-97
16. Lu Q, Guo Z, Xie W, Jin W, Zhu D, Chen S, et al. The lncRNA H19 mediates pulmonary fibrosis by regulating the miR-196a/COL1A1 axis. *Inflamm*. 2018;41(3):896-903.
17. Paolieri F, Battifora M, Riccio AM, Bertolini C, Ciprandi G, Canonica G, et al. Terfenadine and fexofenadine reduce in vitro ICAM-1 expression on human continuous cell lines. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 1998;81(6):601-7.
18. Van Cauwenberge P, Bachert C, Passalacqua G, Bousquet J, Canonica G, Durham S, et al. Consensus statement* on the treatment of allergic rhinitis. *ALGY*. 2000;55(2):116-34 .
19. Ciprandi G, Canonica W, Grosclaude M, Ostinelli J, Brazzola G, Bousquet J. Effects of budesonide and fluticasone propionate in a placebo-controlled study on symptoms and quality of life in seasonal allergic rhinitis. *ALGY*. 2002;57(7):586-91.
20. Day J, Carrillo T. Comparison of the efficacy of budesonide and fluticasone propionate aqueous nasal spray for once daily treatment of perennial allergic rhinitis. *J Allergy Clin Immunol*. 1998;102(6):902-8.
21. Wang X, Du K, She W, Ouyang Y, Sima Y, Liu C, et al. Recent advances in the diagnosis of allergic rhinitis. *Expert Rev Clin*. 2018;14(11):957-64.

22. Ma Z, Teng Y, Liu X, Li J, Mo J, Sha M, et al. Identification and functional profiling of differentially expressed long non-coding RNAs in nasal mucosa with allergic rhinitis. *Tohoku J Exp Med*. 2017;242(2):143-50.
23. Zhang X, Hong R, Chen W, Xu M, Wang L. The role of long noncoding RNA in major human disease. *Bioorg Chem*. 2019;92:1.۰۳۲۱۴
24. Bartlett AA, Lapp HE, Hunter RG. Epigenetic mechanisms of the glucocorticoid receptor. *Trends Endocrinol Metab*. 2019;30(11):807-18.
25. Dykes IM, Emanuelli C. Transcriptional and post-transcriptional gene regulation by long non-coding RNA. *Genom Proteom Bioinform*. 2017;15(3):177-86.
26. Chen J, Ao L, Yang J. Long non-coding RNAs in diseases related to inflammation and immunity. *Ann Transl Med*. 2019;7(18):494.
27. Syed AP, Greulich F, Ansari SA, Uhlenhaut NH. Anti-inflammatory glucocorticoid action: genomic insights and emerging concepts. *Curr Opin Pharmacol*. 2020;53:35-44.
28. 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 Signal*. 2010;3(107):ra8.
29. Rao NA, McCalman MT, Moulos P, Francoijs K-J, Chatziioannou A, Kolisis FN, et al. Coactivation of GR and NFkB alters the repertoire of their binding sites and target genes. *Genome Res*. 2011;21(9):1404-16.
30. Wang R, Xue S, Liu Y, Peng M, Guo B. The correlation of long non-coding RNA NEAT1 and its targets microRNA (miR)-21, miR-124, and miR-125a with disease risk, severity, and inflammation of allergic rhinitis. *Medicine*. 2021;100(4).
31. Wang X, Cheng Z, Dai L, Jiang T, Jia L, Jing X, et al. Knockdown of lncRNA H19 represses the progress of pulmonary fibrosis through the TGF- β /Smad3 pathway by regulating miR-140. *Mol Cell Biol*. 2019;39(12):e00143-19.
32. Liang Z, Tang F. The potency of lncRNA MALAT1/miR-155/CTLA4 axis in altering Th1/Th2 balance of asthma .*Biosci Rep*. 2020;40(2): BSR20190397..
33. Li Z, Zhang Q, Wu Y, Hu F, Gu L, Chen T, et al. lncRNA Malat1 modulates the maturation process, cytokine secretion and apoptosis in airway epithelial cell-conditioned dendritic cells. *Exp Ther Med*. 2018;16(5):3951-8.
34. Cain DW, Cidlowski JA. Immune regulation by glucocorticoids. *Nat Rev Immunol*. 2017;17(4):233-47.
35. Arunjyothi, Rupa, Prudhwi, editors. To Compare the Therapeutic Efficacy and Safety of Fexofenadine With Chlorpheniramine and Betamethasone (Oral) in the Treatment of Allergic Rhinitis. *INDIAN JOURNAL OF PHARMACOLOGY*; 2013: MEDKNOW PUBLICATIONS & MEDIA PVT LTD B-9, KANARA BUSINESS CENTRE, OFF LINK