

مقاله پژوهشی

بررسی تغییرات بیان miR-1193 در نمونه‌های بافت بیماران مبتلا به گلیوبلاستوما مولتی‌فرم

علی حسین یزدی^۱، الهام مسلمی^{۲*}، وجیهه زرین پور^۱، محمد مهدی فرقانی فرد^۱

۱- گروه زیست‌شناسی، واحد دامغان، دانشگاه آزاد اسلامی، دامغان، ایران

۲- گروه زیست‌شناسی، واحد تهران شرق، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

*مسئول مکاتبات: elham_moslemi60@gmail.com

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۸/۱۲

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۶/۱۰

چکیده

گلیوبلاستوما مولتی فرم یکی از بدخیم‌ترین سرطان‌ها می‌باشد که با توجه به دشوار بودن تشخیص زود متاسفانه اکثر بیماران طی یک سال بعد از تشخیص می‌میرند. RNAهای غیرکدکننده نوعی از RNAها هستند که هیچ پروتئینی را رمزگذاری نمی‌کنند و به عنوان تنظیم‌کننده‌های پس از رونویسی در بیان ژن عمل کرده و می‌توانند نقش مهمی را در تشخیص سرطان داشته باشند. هدف از این مطالعه بررسی تغییرات بیان miR-1193 و ارتباط آن با گرید، سن و جنسیت می‌باشد. در این مطالعه تغییرات بیان miR-1193 را در ۵۰ نمونه بافت مبتلا به گلیوبلاستوما مولتی فرم در مراحل مختلف بیماری و ۵۰ نمونه نرمال با تکنیک Real-Time PCR که برای آنالیز میزان بیان ژن‌های مورد مطالعه می‌باشد و از GraphPad Prism 8 برای آنالیز آماری استفاده شد همچنین با استفاده از منحنی Roc ارزش بیومارکی زیستی آن مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد سطح بیان miR-1193 افزایش بیان را در نمونه‌های بیماران مبتلا به گلیوبلاستوما مولتی فرم نسبت به نمونه‌های سالم نشان داد. همچنین بیان ژن mir11933-5p از لحاظ آماری با Grade و سن و جنسیت بیمار ارتباط معنی‌دار نداشت. با آنالیز منحنی و تعیین مقدار cut-off برای این بیومارکر، مشخص گردید که میزان cut-off برابر با ۵/۱۴۱ برای miR-1193 بود که بیماران را با اختصاصیت ۱ و حساسیت ۰/۷۸ می‌تواند تشخیص دهد. اما با توجه به میزان حساسیت به نسبت پایین آن باید بررسی بیشتری صورت بگیرد.

کلمات کلیدی: گلیوبلاستوما مولتی فرم، miR-1193، بیان ژن، سرطان.

مقدمه

بالینی به دو گروه (اولیه و ثانویه) طبقه‌بندی شده‌اند. GBMهای ثانویه به عنوان سرطان‌هایی تعریف شده‌اند که دارای شواهد بالینی، رادیولوژیکی یا هیستوپاتولوژیک نمی‌باشند و در این نوع از پیشرفت بدخیمی احتمال تشخیص زودهنگام تومور به سختی قابل پیش‌بینی می‌باشد، در حالی که GBMهای اولیه اینگونه نیستند و در تشخیص جزو سرطان‌های پیشرفته و قابل شناسایی محسوب می‌شوند (۱۷)

گلیوبلاستوما مولتی فرم (GBM) شایع‌ترین و بدخیم‌ترین تومور مغز در انسان است و تشخیص این بیماری بسیار دشوار می‌باشد و بیشتر بیماران در طی یک سال پس از تشخیص، می‌میرند (۱۶). استاندارد فعلی مراقبت از بیماران گلیوبلاستوما مولتی فرم با برداشتن تومور و جراحی و به دنبال آن پرتودرمانی کمکی و شیمی‌درمانی بقای متوسط این بیماران تنها ۱۵ ماه می‌باشد (۱۵). این بیماران بر اساس علائم

است همچنین مشخص گردید که miR-1193 به شدت در بافت‌های سرطانی و رده‌های سلولی نقش تنظیمی دارند. رابطه miR-1193 و فاکتور رشد انسولین ۲ (IGF2BP2) به عنوان یک گیرنده اصلی سیتوکین بالادست مسیر MEK/ERK و PI3K/Akt پیش‌بینی و تأیید شد و نتایج نشان داد که miR-1193 در بافت‌های سرطانی بیش از ۵۰ درصد کاهش یافته است (۱۱)

همچنین miR-1193 در بافت‌های سرطانی بیش از ۵۰ درصد کاهش یافته است (۱۱) و این miR-1193 در بافت‌های سرطانی بیش از ۵۰ درصد کاهش یافته است (۱۱) در گسترش سرطان پستان نقش دارد (۱۰) بنابراین تغییرات در سطح بیان می‌تواند منجر به آسیب‌هایی در ژنوم شود. هدف از انجام این مطالعه بررسی میزان بیان miR-1193 و بررسی سطح بیان ژن‌ها و تغییرات آنها در سرطان گلیوبلاستوما می‌باشد و مطرح کردن آن به عنوان یک بیومارکر احتمالی تشخیصی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

جمعیت مورد مطالعه: تجزیه و تحلیل میزان بیان ژن بر روی بافت نمونه‌ها در مقایسه با بافت‌های طبیعی حاشیه آنها، با تکنیک Quantitative relative real-time PCR بررسی شد. بیماران در این مطالعه شامل ۲۹ مرد و ۲۱ زن با محدوده سنی ۲۸ تا ۷۶ بودند. میانگین انحراف معیار سن $0/1487 \pm 0/3694$ در نمونه‌های بیمار برای miR-1193 می‌باشد. مشخصات بالینی بیماران در جدول ۱ ارائه شده است.

تهیه نمونه: ۵۰ نمونه بافت مبتلا به گلیوبلاستوما مولتی فرم در مراحل مختلف بیماری همراه ۵۰ نمونه افراد سالم از بیمارستان‌های امام خمینی و شهدا در سال ۱۳۹۷ در بازه سنی ۲۶ تا ۷۷ سال با تأیید کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان و رضایت

RNAهای غیررمزکننده انواعی از RNA می‌باشند که هیچ پروتئینی را رمزگذاری نمی‌کنند. تا کنون چندین نوع RNA غیر رمزگذار توسط توالی‌یابی RNA و تجزیه و تحلیل بیوانفورماتیک شناسایی شده است. یکی از انواع RNAهای غیررمزگذار، miRNAها می‌باشند عملکرد و نقش بیشتر miRNAها در بیماری‌های متعدد انسانی از جمله سرطان‌ها و بیماری‌های مرتبط با سرطان مانند اختلالات قلبی و عروقی مشخص شده است (۶).

MicroRNAs که به عنوان تنظیم‌کننده‌های پس از رونویسی در بیان ژن عمل می‌کنند و نقش مهمی در پاتوژنز GBM دارند (۳).

گلیوما یک پروفایل بی نظیر miRNA را به نمایش می‌گذارد که آن را از بافت سالم مغز متمایز می‌کند. علاوه بر این، میزان بیان‌های miRNAهای مختلف بین مراحل مختلف گلیوما متفاوت است (۹). miRNAها ژن‌های نشانگر را در مسیرهای MEK/ERK و PI3K/Akt را هدف قرار داده بنابراین ژن‌های بالادست آنها را می‌توان به عنوان اهداف درمانی بالقوه برای سایر سرطان‌ها در نظر گرفت (۱۱). افزایش بیان miRNA بطور منظم مکانیسم انکوژنز را نشان می‌دهد تعداد کمی از miRNAهای شناسایی شده، از طریق مهار و سرکوب ژن‌های مهارکننده تومور یا پروموتور (۱۹) عملکرد و مکانیسم بیولوژیکی miR-1193 موجب مهار تکثیر و مهاجرت سلول‌های CSCC می‌شود و SOX4 را در CSCC هدف قرار داده و مهار می‌کند (۲۳) اخیراً، نقش miR-1193 در چندین فرآیند پاتولوژیک نظیر فیروز ریوی، نارسایی حاد کبد و توسعه‌دهندگان سرطان پستان مشخص شد (۲۲) بیان miR-1193 را در بافت‌های اولیه سرطان پستان انسان و بافت‌های طبیعی مجاور و همچنین در رده‌های سلولی طبیعی پستان انسان و پنج رده سلولی سرطان پستان شناسایی شده

و هر سیکل دارای ۳ مرحله به صورت انجام پذیرفت. مرحله Activation در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه انجام شد سپس Denaturation در دمای ۹۵ به مدت ۵ ثانیه دو رشته از هم جدا شدند. مرحله نهایی Primer annealing و Extention در دمای ۵۸ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه انجام شد. برای انجام Real-Time PCR از Precision TM 2X (Amplicon Denmark) q PCR Master mix و استفاده شد. این تست برای هر دو ژن مورد نظر miR-1193 و ACTB (۱۸) مطابق پروتکل به دست آمده از تست Real-Time PCR بر روی نمونه‌های بیمار و نرمال انجام شد و نمودار خطی منحنی‌های تکثیر ژن‌ها برای نمونه‌ها توسط اندازه‌گیری تغییرات میزان فلورسانس به وسیله دستگاه رسم شد لازم به توضیح می‌باشد که در روش فوق از ژن ACTB به عنوان کنترل داخلی و نمونه‌های بافت نرمال به منظور کالیبراسیون استفاده شد که موجب کاهش بروز خطا در آنالیزی پژوهش شد و موارد منفی کاذب در آزمایش به علت وجود کنترل داخلی دیده نشد. در طی تکثیر به روش Real-Time PCR، داده‌های خام به صورت CT با استفاده از دستگاه Real-Time PCR System StepOne مارک ABI کشور سنگاپور بدست آمد. آنالیز CT نمونه‌ها با استفاده از روش $\Delta\Delta C_t$ انجام شد و بررسی تغییرات بیان با استفاده از کمیّت سنجی نسبی Relative Quantification (RQ) انجام شد.

تحلیل آماری: آنالیز بیان ژن‌های مورد مطالعه و تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از GraphPad Prism 8 انجام شد. برای تحلیل داده‌های پارامتری از oneway-ANOVA و t-test استفاده شد و برای داده‌هایی که از توزیع گاوسی پیروی نمی‌کردند، برای مقایسه دو گروه از داده‌ها از آزمون مان-ویتنی و آزمون‌های غیرپارامتری کولموگروف-اسمیرنف، شاپیرو-ویک استفاده شد. همچنین از آزمون

بیماران جمع‌آوری شد و نمونه‌ها تا زمان استفاده در دمای ۸۰- درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شدند.

استخراج RNA: برای این منظور از کیت (AZMA 1) RNrich tissue kit (ARE1101- با پروتکل مربوطه استفاده شد. جهت بررسی کیفیت RNA استخراج شده از ژل آگارز ۱/۵ درصد استفاده شد و برای اطمینان از کمیّت، غلظت، OD نمونه‌ها و با استفاده از NanoDrop مارک NanoDrop Nanodrop Technologies, Wilmington, DE, USA گرفته شد میزان خالص بودن و کیفیت RNA (نسبت بهینه OD260/280 بین ۲- ۱/۸) در نظر گرفته شد.

سنتز cDNA: از RNA تام استخراج شده به عنوان الگو برای ساخت cDNA استفاده شد. لازم به ذکر می‌باشد که cDNA با استفاده از کیت cDNA synthesis kit (AESS 1211-2) سنتز شد برای غیرفعال شدن آنزیم RT مخلوط واکنش در مرحله رونویسی معکوس، در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه و در دمای ۸۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ ثانیه قرار گرفتند در نهایت در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

مطالعه بیان ژن به روش Real-time PCR: توالی پرایمرها برای miR-1193 به صورت زیر طراحی شد:

miR-1193

Forward: GGGGATGGTAGACCGG

Reverse: GTGCAGGGTCCGAGGT

همچنین برای ژن ACTB به عنوان کنترل داخلی با توالی پرایمرهای زیر با طول قطعه ۷۰ bp طراحی گردید.

Forward: ATGTACGTTGCTATCCAGGC

Reverse: AGTCCATCACGATGCCAG

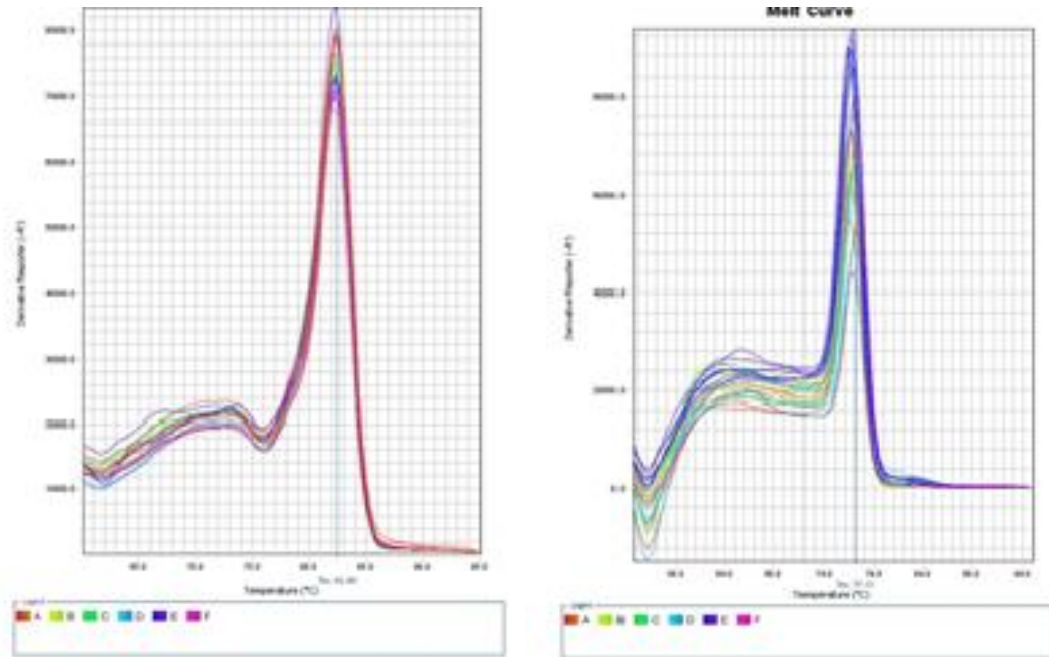
واکنش Real-Time PCR به روش SYBER Green و با استفاده از دستگاه Real-Time PCR System StepOne (Applied Biosystems, Singapore) انجام شد. واکنش Real-Time PCR نمونه‌ها طی ۴۰ چرخه

فلورسانس (SYBER Green) و اطمینان از تکثیر قطعات اختصاصی و عدم وجود قطعات غیر اختصاصی و دایمر پرایمر در محصول PCR، مورد بررسی نمودار منحنی ذوب برای ژن‌های miR-1193 و ACTB به صورت جداگانه رسم گردید. مطابق شکل ۱ و اتصال صحیح پرایمرها و اختصاصیت آنها به ژن‌ها مورد تأیید قرار گرفت در نتیجه محصول PCR بدست آمده برای ژن مورد نظر می‌باشد.

D³Agostino برای مقایسه بیش از دو گروه داده غیر پارامتری استفاده شد. سطح معناداری $p \leq 0/05$ در نظر گرفته شد و در گلیوبلاستوما مولتی فرم اندازه تغییرات بیان ژن‌های هدف با بیان ژن کنترل داخلی نرمالایز شده و به صورت کمی میزان بیان ژن‌ها در نمونه کنترل یا کالیبراتور مورد ارزیابی قرار گرفته شد. رسم نمودار منحنی ذوب: در مرحله بعد توسط دستگاه StepOne Real-Time PCR Systems- Applied Biosystems اختصاصیت پرایمرها و رنگ

جدول ۱- آنالیز آماری سن، بیان miR-1193، جنسیت و گرید

Mir-1193 mean RQ	جمع	نرمال	گلیوبلاستوما	سن
۲/۲۴۰	۱۰۰	۵۰	۵۰	تعداد افراد
۲/۱۸۴	۳۶	۲۰	۱۶	۵۰ < سال
۲/۲۷۲	۶۴	۳۰	۳۴	۵۰ > سال
<i>Mir-1193</i> بیان				
		۱/۴۸۷	۲/۹۹۴	<i>Mir- 1193</i> mean RQ
		۱/۹۹۰	۵/۶۷۸	Max <i>Mir-1193</i> RQ
		۱/۰۱۹	۰/۶۱۸	Min <i>Mir- 1193</i> RQ
جنسیت				
۲/۸۴۲	۵۹	۳۰	۲۹	مرد
۳/۰۲۴	۴۱	۲۰	۲۱	زن
	۱۰۰	۵۰		
گرید				
۰/۵۷۲	۱۵	-	۱۵	I
۱/۲۹۳	۱۱	-	۱۱	II
۰/۸۷۵	۱۳	-	۱۳	III
۰/۷۴۸	۱۱	-	۱۱	IV



شکل ۱- منحنی ذوب ۱- Mir1193-3 (A) و ژن *ACTB* (B) در نمونه‌های سالم و بیمار مبتلا به گلیوبلاستوما مولتی فرم

نتایج

نمونه شماره ۳۹ بیشترین افزایش بیان وجود دارد و در نمونه ۸ کمترین افزایش بیان وجود دارد که بیان آن نسبت به نمونه نرمال بسیار کم افزایش یافته است ($p < 0.0001$).

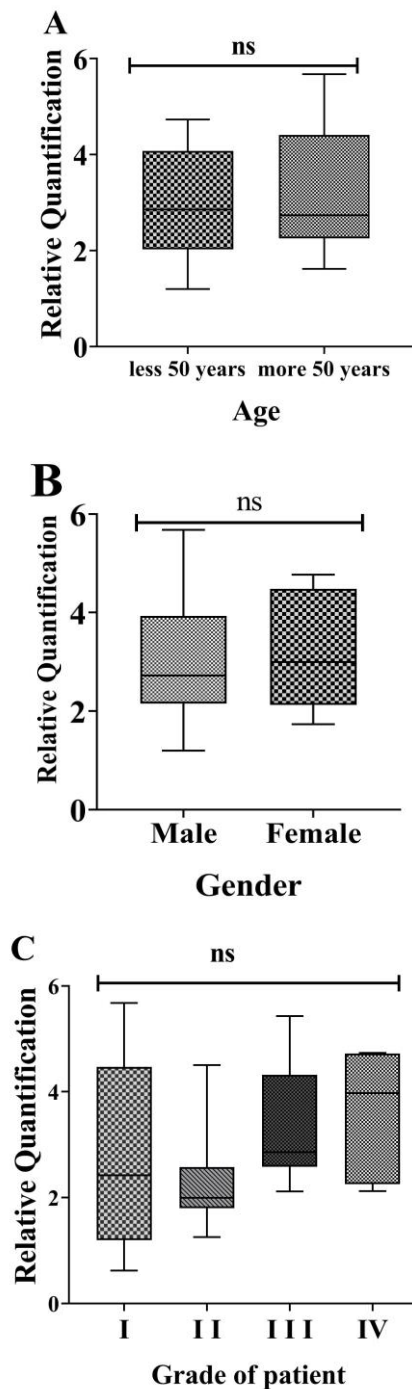
ارزیابی ارزش بیومارکری miR-1193 مورد مطالعه با استفاده از منحنی ROC انجام شد. ارزیابی همانطور که در شکل ۵ نشان داده شده است. تجزیه و تحلیل منحنی ROC از miRNA مورد مطالعه در ۵۰ بیمار مبتلا به گلیوبلاستوما مولتی فرم و ۵۰ کنترل نشان داده شده است و ناحیه زیر منحنی (AUC) نشانگر دقت در تمایز بیماران مبتلا به گلیوبلاستوما مولتی فرم از گروه کنترل از نظر حساسیت و ویژگی است. آنالیز منحنی (ROC Receiver operator characteristic) نشان داد که مقدار miR-1193 می‌تواند به خوبی بین بیماران و افراد کنترل افتراق قائل شود. سطح زیر منحنی برای miR-1193 برابر با ۰/۸۷ و ۰/۰۰۰۱ $Pvalue < 0.0001$ و $CI = 0.76$ می‌باشد. با آنالیز منحنی و تعیین مقدار cut-off برای این بیومارکر، مشخص

نتایج تجزیه و تحلیل بیان ژن نشان داد، که بین بیان miR-1193 با سن بیماران ($p = 0.689$) ارتباط معناداری وجود ندارند (شکل ۲A)

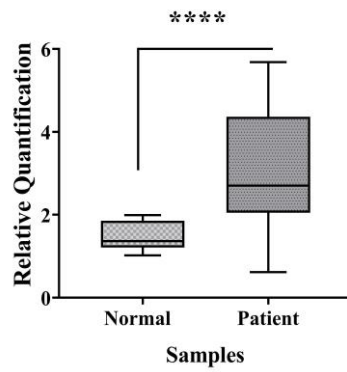
در شکل ۲، مقایسه میزان بیان mir-1193 با جنسیت (۲B) مقایسه میزان بیان mir-1193 با گرید نشان داده شده است (۲C). بیان ژن miR-1193 ($p = 0.487$) با جنس ارتباط معناداری دیده شد (شکل ۲B). با توجه به مقایسه میزان بیان miR-1193 با گرید ($p = 0.053$) ارتباط معناداری دیده نشد (شکل ۲C).

در این مطالعه بیان miR-1193 در نمونه‌های بافت گلیوبلاستوما مولتی فرم و سالم بررسی شد نتایج تجزیه و تحلیل بیان ژن نشان داد میزان کلی بیان miR-1193 در نمونه‌های بافت بیماران مبتلا به گلیوبلاستوما مولتی نسبت به نمونه‌های سالم افزایش داشت و از لحاظ آماری با $Pvalue < 0.0001$ اختلاف معناداری داشت (شکل ۳). این افزایش بیان طبق نمودار شکل ۴ که به وسیله برنامه موجود در دستگاه PCR time real(ABI) انجام شده است، نشان می‌دهد که در

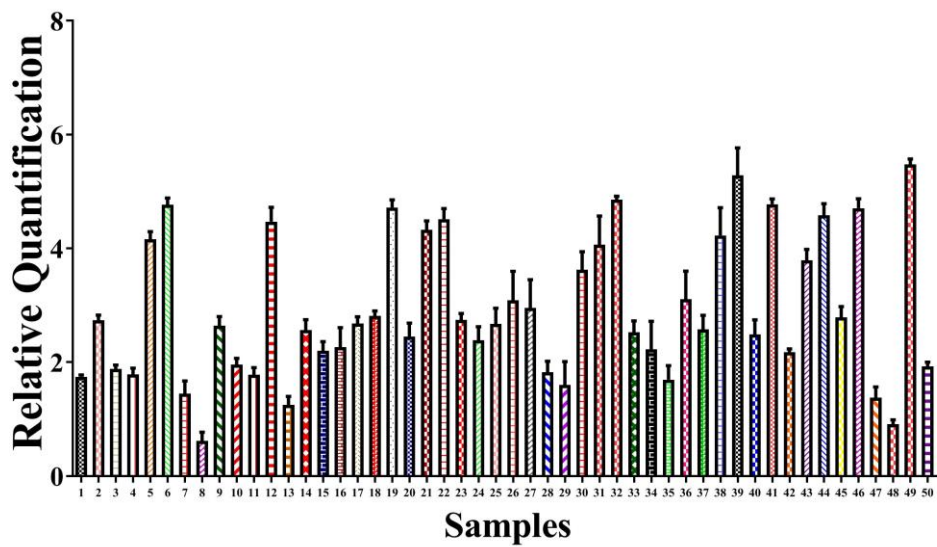
گردید که میزان cut-off برابر با ۵/۱۴۱ برای miR-1193 بود که بیماران را با اختصاصیت ۱ و حساسیت ۰/۷۸ می‌تواند تشخیص دهد. اما با توجه به میزان حساسیت به نسبت پایین آن باید بررسی بیشتری صورت بگیرد.



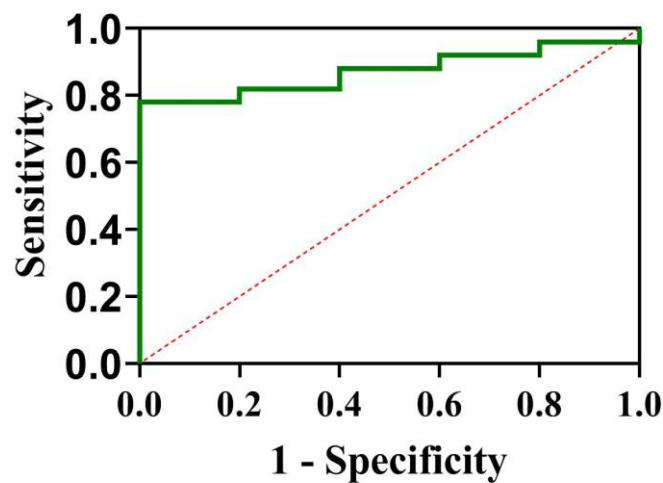
شکل ۲- نمودارهای بررسی بیان miR11-93 و بررسی بیان ژن‌ها، با سن، جنسیت و گرید در نمونه‌های بیماران مبتلا به گلیوبلاستوما مولتی فرم



شکل ۳- میزان کلی بیان miR-1193 در نمونه های بافت بیماران مبتلا به گلیوبلاستوما مولتی فرم نسبت به نمونه های سالم



شکل ۴- بررسی بیان miR-1193 در نمونه های بیمار مبتلا به گلیوبلاستوما مولتی فرم



شکل ۵- شکل ۳- آنالیز منحنی ROC برای Mir11933-3

بحث

اثر سرکوبگرانه در تکثیر و تهاجم سلول‌های سرطانی پستان دارند (۱۱)، و یا مطالعات دیگر که نشان دادند بیان بالا miR-1193 در سلول‌های U251 باعث مهار تکثیر، مهاجرت و تهاجم سلول‌های گلیوما می‌شود. پایین آمدن miR-1193 در سلول‌های گلیوما اثر مهاری بر تکثیر، مهاجرت و تهاجم سلول‌های U251 دارد (۱).

مطالعه‌ی دیگری نیز کاهش بیان miR-1193 در رده‌های سلولی CSCC مشاهده شد و مشخص شد منجر به از دست دادن عملکرد miR-1193 به عنوان مهار کننده تکثیر و مهاجرت در سلول‌های CSCC می‌شود. (۲۴). دیگر محققین نشان دادند که کاهش بیان miR-1193 می‌تواند باعث ایجاد سرطان رحم شود و نقش مهاری تومور در بدخیمی را با هدف قرار دادن مستقیم بر روی CLDN7 انجام می‌دهد (۲۵).

همچنین بیان ژن miR-1193 و نمونه‌های کنترل با $p = 0/0001$ ارتباط معناداری دیده شد.

در مطالعه حاضر در miR-1193 ارتباط معناداری با گرید و جنسیت و سن دیده نشد، این مطالعه نشان داد که در سرطان گلیوبلاستوما مانند مطالعاتی که بر روی بیشتر سرطان‌ها انجام شده بیان miR-1193 می‌تواند به علت تاثیر مهاری این ژن بر روی تومورها باشد. که احتمالاً بعنوان یکی از اولین اتفاقاتی می‌باشد که موجب تغییر سلول نرمال و تبدیل شدن به یک سلول سرطانی می‌باشد. برای اطمینان می‌توان مانند مطالعات جدیدی که بر روی همبستگی یک شاخص هیدرودینامیکی جدید با سایر شاخص‌های موثر در بیماران ناهنجاری Chiari I با روش مختلف صورت گرفته است (۴) و یا شبیه‌سازی FSI، تغییرات هیدرودینامیکی CSF در جمعیت زیادی از بیماران هیدروسفالی غیرارتباطی، در طی روند درمان با توجه

در میان انواع سرطان، تومورهای مغزی جزو کشنده‌ترین سرطان‌ها محسوب می‌شوند. توانایی درمان این تومورها تا حدودی به خصوصیات منحصر به فرد سلول‌های ذاتی و ریزمحیطی بافت‌های عصبی مربوط می‌شود. تومورهای مغز حاصل رشد غیرعادی سلول‌هاست که ممکن است خوش‌خیم یا بدخیم باشند. در این میان، گلیوبلاستوما مولتی فرم شایع‌ترین و در واقع کشنده‌ترین نوع تومور مغزی اولیه در بزرگسالان است. مدت زنده ماندن بعد از تشخیص اولیه ۱۲ تا ۱۵ ماه است این سرطان شیوع نسبتاً کمی دارد، ولی ۲/۵ درصد از مرگ‌های سرطانی را به خود اختصاص داده است. مطابق دستورالعمل انجمن ملی سرطان (NCI)، بیومارکرها مولکول‌های بیولوژیکی هستند که می‌توانند در خون یا بافت‌های بدن حضور داشته باشند (۲۱). بیومارکرها سرطانی نشانگرهایی هستند که حاصل ترشح سلول تومورال یا حاصل نکروز و آپوپتوز این سلول‌ها هستند. تغییرات اختصاصی مولکول‌های سلول‌های سرطانی قابل اندازه‌گیری است. بیومارکرها می‌توانند DNA، RNA، پروتئین و متابولیت باشند. سرطان بیماری پیچیده‌ای است که بیان ژن در آن به صورت نامتعادل انجام می‌پذیرد. بیومارکرها به عنوان هدف جدیدی برای درمان بسیار اهمیت دارد (۲۱).

در مطالعه حاضر، فرض گردید که بررسی میزان تغییرات بیان miR-1193 در نمونه‌های بافت گلیوبلاستوما و سالم می‌تواند فاکتوری مناسب جهت بررسی بدخیمی و تشخیص زودهنگام گلیوبلاستوما باشد. در این مطالعه و miR-1193 در نمونه‌های بافت گلیوبلاستوما و سالم بررسی شد نتایج تجزیه و تحلیل بیان ژن نشان داد میزان کلی بیان miR-1193 نسبت به نمونه‌های سالم افزایش داشت این در حالی است که در مطالعات دیگر بیان miR-1193 اثر مهاری دیده شده است. Li و همکارانش نشان دادند miR-1193

نتیجه‌گیری

در مطالعه حاضر هدف بررسی ارزش بیومارکری mir-1193 و در تشخیص گلیوبلاستوما و افتراق درجات کم و زیاد این سرطان بود. نتایج حاضر نشان داد بیان mir-1193 و ارتباط معنی داری با گرید بیماری ندارد و همینطور این مطالعه نشان داد mir-1193 می‌تواند به خوبی بین بیماران و افراد کنترل افتراق قائل شود و ارزش بیومارکری دارد و باید این ژن با روش‌های دیگری هم مورد بررسی قرار بگیرد.

منابع

1. Chen Z., Wu C., Li X., Zhang X., Huang L. 2018. MiR-1193 Inhibits Glioma Cells Proliferation, Migration, and Invasion via Targeting IGF2BP2. *Journal of Biomaterials and Tissue Engineering*, 8(11): 1558-1565
2. Geisler A., Schön C., Größl T., Pinkert S., Stein E.A., Kurreck J., Vetter R., Fechner H. 2013. Application of mutated miR-206 target sites enables skeletal muscle-specific silencing of transgene expression of cardiotropic AAV9 vectors. *Molecular Therapy*, 21(5): 924-933.
3. Gholampour S., Gholampour H. 2020. Correlation of a new hydrodynamic index with other effective indexes in Chiari I malformation patients with different associations. *Scientific Reports*, 10(1): 1-3.
4. Gholampour S. 2018. FSI simulation of CSF hydrodynamic changes in a large population of non-communicating hydrocephalus patients during treatment process with regard to their clinical symptoms. *Plos One*, 13(4): e0196216.
5. Hou X., Wen J., Ren Z., Zhang G. 2017. Non-coding RNAs: new biomarkers and therapeutic targets for esophageal cancer. *Oncotarget*, 8(26): 43571
6. Johnson S.M., Grosshans H., Shingara J., Byrom M., Jarvis R., Cheng A., Labourier E., Reinert K.L., Brown D., Slack F.J. 2005. RAS is regulated by the

به علائم بالینی آنها (۵) که در سایر بیماری‌های توموری صورت گرفته می‌توان از روش‌های دیگر تشخیصی و درمانی در کنار کار مولکولی استفاده کرد و این ژن‌ها با تاثیر بر روی مسیرهای سیگنالینگ Mitogen-activated protein kinase Jun NH2- و kinase kinase kinase 4 (MAP4K4) terminal kinase (JNK) و سایر مسیرها در let-7 miRNA و آبشار سیگنال Ras/Raf/ERK اثرات بدخیمی ناشی از تنظیم را در گلیوما ایجاد می‌کند. به نظر می‌رسد این ژن در این سرطان بر خلاف سایر سرطان‌ها افزایش بیان داشته که می‌تواند ناشی از تاثیر سایر ژن‌ها یا تاثیر در مسیرهای متفاوت باشد که می‌تواند این احتمال را رقم بزند که این ژن نقش مهمی را در ایجاد سرطان گلیوبلاستوما در افراد مستعد دارد و مطالعه در مورد دلایل این افزایش و کاهش بیان چشم انداز راه کارهای ارزنده‌ای خوبی را می‌تواند در کنار روش‌های غیرتهاجمی دیگری مانند کاری که بر روی سایر سرطان‌های دیگر مانند بررسی تاثیر میدان الکترومغناطیسی بر کاهش و افزایش سرعت رشد و تکثیر سلول فیروبلاست پوستی (۱۴) و یا استفاده از پرتو و تاثیرات مختلف آن و تاثیر هیدروژن پروکسید (۲۰) در کنار روش‌های مولکولی در پیشگیری و درمان ارائه دهد البته باید توجه شود که یافتن این مارکر مولکولی زمانی می‌تواند به تشخیص گلیوبلاستوما کمک کند که سایر اطلاعات پاتولوژی هم در اختیار باشد و نباید فراموش شود اثبات این فرضیه‌ها افزایش و کاهش بیان این ژن‌ها باید توسط یکی از روش‌های سنجش که میزان افزایش و کاهش بیان این ژن‌ها را مورد بررسی و میزان و سطح سایر RNA ژن‌های مورد نظر و میزان بیان پروتئین و ژن‌های دخیل در این مسیر ژنتیکی، مرتبط به این دو ژن بررسی شود که برای این کار با افزایش حجم نمونه‌ها در مطالعات بعدی می‌تواند مورد توجه قرار گیرد.

- population-based study. *Cancer research*, 64(19): 6892-6899.
- 14 Ohgaki H., Kleihues P. 2007. Genetic pathways to primary and secondary glioblastoma. *The American Journal of Pathology*, 170(5):1445-1453.
- 15 Parsons D.W., Jones S., Zhang X., Lin J.C., Leary R.J., Angenendt P., Mankoo P., Carter H., Siu I.M., Gallia G.L., Olivi A. 2008. An integrated genomic analysis of human glioblastoma multiforme. *Science*, 321(5897): 1807-1812.
- 16 Röhn G., Koch A., Krischek B., Stavrinou P., Goldbrunner R., Timmer M. 2018. ACTB and SDHA are suitable endogenous reference genes for gene expression studies in human astrocytomas using quantitative RT-PCR. *Technology in Cancer Research and Treatment*, 17:1533033818802318
- 17 Sanghvi V.R., Mavrakis K.J., Van der Meulen J., Boice M., Wolfe A.L., Carty M., Mohan P., Rondou P., Socci N.D., Benoit Y., Taghon T. 2014. Characterization of a set of tumor suppressor microRNAs in T cell acute lymphoblastic leukemia. *Science Signal*, 7(352): ra111-
- 18 Sedaghat Y., Gholampour S., Tabatabai Ghomshe F. 2019. Comparison of the effectiveness of manual cleaning, hydrogen peroxide vapour and ultraviolet-c in disinfection of hospital equipment. *Infektološki Glasnik*, 39(3):66-84.
- 19 Shabani M., Mohammad-Ganji S., Salahshourifar I. 2020. Investigation of Long Non-coding RNA HOX A11-AS Expression in Iranian Patients with Glioblastoma: A Quantitative Study. *Journal of Qom University of Medical Sciences*, 14(5): 22
- 20 Vemuganti R., Silva V.R., Mehta S.L., Hazell AS. 2014. Acute liver failure-induced hepatic encephalopathy is associated with changes in microRNA expression profiles in cerebral cortex of the rat. *Metabolic brain disease*. 29(4): 891-899.
- let-7 microRNA family. *Cell*, 120(5): 635-647.
- 7 Kuçi S., Rettinger E., Voß B., Weber G., Stais M., Kreyenberg H., Willasch A., Kuçi Z., Koscielniak E., Klöss S., von Laer D. 2010. Efficient lysis of rhabdomyosarcoma cells by cytokine-induced killer cells: implications for adoptive immunotherapy after allogeneic stem cell transplantation. *Haematologica*, 95(9): 1579-1586.
- 8 Li W., Qi Z., Wei Z., Liu S., Wang P., Chen Y., Zhao Y. 2015. Paeoniflorin inhibits proliferation and induces apoptosis of human glioma cells via microRNA-16 upregulation and matrix metalloproteinase-9 downregulation. *Molecular Medicine Reports*, 12(2): 2735-2740.
- 9 Li X., Li Y., Lu H. 2017. MiR-1193 suppresses proliferation and invasion of 12targeting IGF2BP2. *Oncology Research Featuring Preclinical and Clinical Cancer Therapeutics*, 25(4): 579-585.
- 10 Liu L.Z., Li C., Chen Q., Jing Y., Carpenter R., Jiang Y., Kung H.F., Lai L., Jiang B.H. 2011. MiR-21 induced angiogenesis through AKT and ERK activation and HIF-1 α expression. *PLoS One*, 6(4): e19139.
- 11 Mortazavi D., Sharifi M. 2018. Antiproliferative effect of upregulation of hsa-let-7c-5p in human acute erythroleukemia cells. *Cytotechnology*, 70(6): 1509-1518.
- 12 Naghibzadeh M., Gholampour S., Naghibzadeh M., Sadeghian-Nodoushan F., Nikukar H. 2020. The effect of electromagnetic field on decreasing and increasing of the growth and proliferation rate of dermal fibroblast cell. *Dermatologic Therapy*, 11:e13803.
- 13 Ohgaki H., Dessen P., Jourde B., Horstmann S., Nishikawa T., Di Patre P.L., Burkhard C., Schüler D., Probst-Hensch N.M., Maiorka P.C., Baeza N. 2004. Genetic pathways to glioblastoma: a

23 Zhang B., Lin Y., Bao Q., Zheng Y., Lan L. 2020. MiR-1193 Inhibits the Malignancy of Cervical Cancer Cells by Targeting Claudin 7 (CLDN7). *Oncotargets and Therapy*, 13: 4349-4358.

24 Zhou B., Chu M., Xu S., Chen X., Liu Y., Wang Z., Zhang F., Han S., Yin J., Peng B., He X. 2017. Hsa-let-7c-5p augments enterovirus 71 replication through viral subversion of cell signaling in rhabdomyosarcoma cells. *Cell and Bioscience*, 7(1): 7.

21 Wang J., Li C., Xu L., Yang C., Zhang X. 2019. MiR-1193 was sponged by LINC00963 and inhibited cutaneous squamous cell carcinoma progression by targeting SOX4. *Pathology-Research and Practice*, 16: 152600

22 Wang J., Li C., Xu L., Yang C., Zhang X. 2019. MiR-1193 was sponged by LINC00963 and inhibited cutaneous squamous cell carcinoma progression by targeting SOX4. *Pathology-Research and Practice*, 215(10): 152600.

