NCMBJ
Research article

New Cell Mol Biotech
j.12/46 , 2022

Scan online to view this article

Evaluation of *YKL39* target gene expression and its miR in the tissues of glioblastoma multiforme patients

Atiyeh Tavakoli[1], Hamidreza Kheiri[2], Vajiheh Zarrinpour[1*], Mohammadmahdi Forghanifard[1]

1. Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Islamic Azad University Damghan Branch, Damghan, Iran
2. Department of Pharmaceutical Nanotechnology, School of Pharmacy, Zanjan Universityof Medical Sciences, Zanjan, Iran

Abstract

Aim and Background: One of the most malignant and common brain tumors is glioblastoma multiforme (GBM). Patient survival is relatively poor, and due to the difficulty of early diagnosis, most patients die within one year of diagnosis. The aim of this study was to investigate the expression of *YKL39* as a possible biomarker in glioblastoma multiforme and to evaluate the miR of this gene.

Materials and Methods: In this study, 25 tissue samples with glioblastoma multiforme before treatment and 25 samples of healthy tissue with glioblastoma multiforme tumor were collected as a control sample. RNA extraction and cDNA synthesis were performed. *YKL39* gene expression was assessed using real-time PCR and ACTB gene was used as internal control. Statistical analysis of data was performed using GraphPad Prism software version 8. The Roc curve was used to evaluate the biomarker value of *YKL39* gene.

Results: High expression of *YKL39* (P **** <0.0001) was observed in glioblastoma tissue samples. Expression showed that *YKL39* gene was not statistically significant with the age of patients with P value = 0.2971 and gender with P value = 0.888.

Conclusion: The increase in *YKL39* gene expression in glioblastoma tissue samples is significant compared to healthy tumor margin tissue. The Roc curve showed that the *YKL39* gene could not have biomarker value.

Key words: *YKL39*, Glioblastoma multiforme, Real-Time PCR, Biomarker, Iau Science.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1401.12.46.2.7]

Corresponding author:
Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Islamic Azad University Damghan Branch, Damghan, Iran
Email: zarrinpour @damghaniau.ac.ir

مجله تازه های بیوتکنولوژی سلولی مولکولی
دوره ۱۲ - شماره۴۶ - بهار ۱۴۰۱
NCMBJ
مقاله پژوهشی

برای مشاهده این مقاله به صورت آنلاین اسکن کنید

بررسی بیان ژن *YKL39* هدف و miR آن در بافت بیماران گلیوبلاستومامولتی فرم

عطیه توکلی[1]، حمیدرضا خیری [2]، وجیهه زرین پور[1*]، محمد مهدی فرقانی فرد[1]

۱. گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد دامغان، دانشگاه آزاد اسلامی، دامغان، ایران
۲. گروه زیست فناوری دارویی، دانشگاه علوم پزشکی، زنجان، ایران

چکیده

سابقه و هدف: یکی از بدخیم‌ترین و رایج‌ترین تومورهای مغزی گلیوبلاستومامولتی‌فرم (GBM) است. بقای بیمار به‌نسبت ضعیف است و با توجه‌به دشوار بودن تشخیص زود هنگام اکثر بیماران طی یک سال بعد از تشخیص می‌میرند. هدف از این مطالعه بررسی بیان *YKL39* به‌عنوان بیومارکر احتمالی در گلیوبلاستومامولتی فرم و بررسی miR این ژن است.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه ۲۵ نمونه بافت مبتلا به گلیوبلاستومامولتی فرم قبل از درمان و ۲۵ نمونه بافت سالم حاشیه تومور گلیوبلاستومامولتی فرم به‌عنوان نمونه کنترل جمع‌آوری شد. استخراج RNA و سنتز cDNA صورت گرفت. بیان ژن *YKL39* با استفاده از روش Real-time PCR بررسی شد و از ژن *ACTB* به‌عنوان کنترل داخلی استفاده شد. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار GraphPad Prism نسخه ۸ انجام شد. برای بررسی ارزش بیومارکری ژن *YKL39* از منحنی Roc استفاده شد.

یافته‌ها: بیان بالای *YKL39* (****P> ۰/۰۰۰۱) در نمونه‌های بافت گلیوبلاستوما مشاهده شد. بیان نشان داد ژن *YKL39* با سن بیماران با P_{value}=۰/۲۹۷۱ و جنسیت با P_{value}=۰/۸۹۸۸ از لحاظ آماری معنادار نیست.

نتیجه‌گیری: افزایش بیان ژن *YKL39* در نمونه‌های بافت گلیوبلاستوما در مقایسه با بافت سالم حاشیه تومور قابل توجه است. منحنی Roc نشان داد که ژن *YKL39* نمی‌تواند دارای ارزش بیومارکری باشد.

واژه‌های کلیدی: *YKL39*، گلیوبلاستوما مولتی فرم، Real-Time PCR، بیومارکر، Iau Science.

مقدمه

هشتاد و پنج تا نود درصد از تومورهای اصلی سیستم عصبی مرکزی را تومورهای مغز تشکیل می‌دهند. از کشنده‌ترین و شایع‌ترین تومور مغزی اولیه در سیستم عصبی مرکزی را می‌توان گلیوما نام برد. هر چند میزان بروز این نوع سرطان پایین است اما با توجه‌به میزان کشندگی آن، شناسایی عوامل خطر مرتبط با بروز، از اهمیت به‌سزایی برخوردار است. بیش از ۵۰ درصد از تومورهای بدخیم سیستم اعصاب مرکزی و در حدود ۸۰ درصد تومورهای بدخیم مغز را گلیوما تشکیل می‌دهد (۱،۲). از جهت بافت‌شناسی، تومورهای سیستم عصبی مرکزی توسط سازمان بهداشت جهانی (WHO)، به چهار درجه تقسیم می‌شود؛ که تهاجمی‌ترین مورد، درجه ۴ یا گلیوبلاستومامولتی فرم یا GBM است و این مورد در انسان شایع است (۳). میزان مرگ و میر به‌دلیل این عارضه در ایران ۲/۱۲ به ازای صد هزار نفر در مردان و ۲/۴۶ به ازای صد هزار نفر در زنان است

نویسنده مسئول:
گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد دامغان، دانشگاه آزاد اسلامی، دامغان، ایران
پست الکترونیکی: a. zarrinpour @damghaniau.ac.ir_
تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۸/۲۲
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۹/۲۲

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2024-10-12]
[DOR: 20.1001.1.22285458.1401.12.46.2.7]

(۴). درمان گلیوبلاستومامولتی فرم بسیار سخت است زیرا سرطانی با تهاجم بالا و رشد سریع است و معالجه آن به مکان تومور و توانایی بیمار به تحمل جراحی بستگی دارد (۹). با وجود پیشرفت در روش‌های درمانی، تا حد زیادی غیر قابل درمان است (۶). با وجود تحقیقات زیاد و مهمی که در چند دهه اخیر صورت گرفته است، اما بروز میزان بقای بیماران در این مدت تغییری نکرده است (۵،۸). بیماران گلیوبلاستومامولتی فرم به‌طور معمول بیش از دو سال پس از تشخیص زنده نمی‌مانند (۵). تشخیص به‌موقع با مارکرهای زیستی روشی ثابت در تشخیص و درمان بسیاری از انواع سرطان‌ها است. داشتن مجموعه‌ای از مارکرها برای تشخیص به‌موقع هنوز یک هدف اصلی برای بهبود تشخیص و درمان گلیومای انسانی است (۷). از اهداف مهم برای درمان، استفاده از بیومارکرها بسیار اهمیت دارد (۹).

جهت یافتن بیومارکر مناسب، بررسی بیان ژن‌ها و miRهایی که در گلیوبلاستومامولتی فرم بیان می‌شوند از اهمیت بالایی برخوردار است، یکی از این ژن‌ها *YKL39* است که با نام مطرح دیگر *CHI3L2* نیز شناخته شده است. یک پروتئین کدکننده و شبه کیتینازی است که فعالیت کیتینازی ندارد زیرا هپارین در آن موجود نیست. وزن مولکولی *YKL39* ۳۹ کیلودالتون و عضوی از ۱۸ خانواده گلیکوزیل هیدرولاز است (۱۰،۱۱). دارای سه خانواده: ۱۰۱ ارتولوگ، ۶ پارالوگ و یک عضو از مجموعه خانواده پروتئین‌ها است. در موقعیت 1p13.2 قرار دارد (۱۲).

از RNAهای کوچک غیر کد کننده Micro RNAها هستند با حدود طول بیست و دو نوکلئوتید، که اساس طبقه‌بندی آن‌ها، عملکردهای نظارتی بر سرکوب کننده تومور یا آنکوژن است. از کارهای miR، اعمال بیان ژن در سطح پس از رونویسی است که به‌طور عمده تنظیم آن با اتصال به منطقه ۳' ترجمه نشده (UTR) و تخریب mRNA ژن‌های هدف برای کنترل فرآیندهای بیولوژیکی اتفاق می‌افتد (۱۳،۱۴).

تنظیم بیان ژن‌های انسانی توسط Micro RNAها حدود ۶۰ درصد است (۱۵) که تغییرهای غیرطبیعی در بیان آن‌ها با وقوع و پیشرفت بیماری‌های انسانی از جمله گلیوبلاستومامولتی فرم در ارتباط است (۱۶). از مطالعه‌های متعددی که بر روی مسیرهای سیگنالینگ سرطان گلیوبلاستوما، ژن *YKL39* و تنظیمات بیولوژیکی miRها انجام شده است می‌توان چرخه سلولی، ERK1/2، تکثیر، متابولیسم، پاسخ ایمنی، خونسازی و تمایز نام برد (۲۰-۱۷،۷).

یافتن مارکر زیستی مناسب برای گلیوبلاستومامولتی فرم، حیاتی است. هدف از این مطالعه بررسی سطح بیان *YKL39* در نمونه‌های بافت توموری گلیوبلاستومامولتی فرم در مقایسه با نمونه‌های بافت سالم از حاشیه گلیوبلاستومامولتی فرم با استفاده از تکنیک Real-Time PCR (polymerase chain reaction) است همچنین miR آن با استفاده از نرم‌افزارهای بیوانفورماتیکی شناسایی و مسیرهای مرتبط و ژن‌های دخیل در مسیر مورد بررسی قرار خواهد گرفت.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه ۵۰ نمونه شامل ۲۵ نمونه بافت مبتلا به گلیوبلاستومامولتی فرم قبل از درمان و همچنین ۲۵ نمونه بافت سالم حاشیه تومور گلیوبلاستومامولتی فرم به‌عنوان نمونه کنترل از بیمارستان‌های امام خمینی و شهدا در سال ۱۳۹۷-۱۳۹۶ جمع‌آوری شد. نمونه‌های جمع‌آوری شده در بازه سنی ۷۷-۴۶ سال بودند. بافت‌های تهیه شده به‌صورت بلوک‌های پارافینه بود. نمونه‌گیری زیر نظر کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان با شناسه اخلاق IR.IAU.DAMGHAN.REC.1399.017 و تحت معیارهای سازمان بهداشت جهانی (WHO) و رضایت بیماران صورت گرفت. در این مطالعه مشخصات کلینیکوپاتولوژی بیماران مبتلا به گلیوبلاستومامولتی فرم (سن، جنس) مورد بررسی قرار گرفت که در جدول ۱ نشان داده شده است.

در زمان انجام آزمایش تعدادی برش نازک از بلوک با میکروتوم به‌دست آمده و در میکروتیوب ۱/۵ ml استریل ریخته شد. جهت دپارافینه کردن نمونه‌ها از FFPE Paraffin Removal Solution (biotechrabbit, Germany) طبق پروتوکل شرکت سازنده استفاده شد.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1401.12.46.2.7]

در مرحله بعد، RNA از نمونه بافت گلیوبلاستوما طبق دستورالعمل کیت High Pure RNA Paraffin Kit (Roche, Germany) استخراج گردید. با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتری Biophotometer Pluse (Eppendorf, Germany) دانسیته نوری (OD) ۲۸۰ و۲۶۰ محاسبه شد و از نمونه RNAهایی که OD آن‌ها بین ۲- ۱/۸ بود، جهت سنتز cDNA استفاده شد. RNA استخراج شده به‌عنوان الگو برای سنتز cDNA استفاده و با استفاده از کیت cDNA AccuPower® RT/PCR PreMix (BioNEER, Oakland, USA) سنتز cDNA انجام شد. از ژن *ACTB* (Actin Beta) به‌عنوان کنترل داخلی استفاده گردید (۲۱). پرایمرهای مورد نیاز برای ژن‌های *YKL39* و *ACTB* با استفاده از نرم‌افزار Gene Runner Version 6.5.52 Beta طراحی شدند و برای اطمینان از صحت آنان از Blast Primer استفاده شد. توالی پرایمرهای استفاده شده برای *YKL39* forward: 5'- TGCTGATTCATGAGTTAGCAG -3' و revers: 5'- TGAAATCCAGATCTTTTGCCAG -3' با طول ۱۵۰ جفت باز، و سکانس پرایمر *ACTB*، forward: 5'- TAAGTCCTGCCCTCATTT -3' و revers: 5' - GTACAGGTCTTTGCGGATGT -3' با طول ۱۰۷ جفت باز است. جهت انجام Real-time PCR از RT² SYBR Green qPCR Mastermix (QIAGEN, Germany) استفاده شد.

سطح mRNA ژن *YKL39* و *ACTB* پس از بهینه سازی بر روی نمونه‌های بیمار و سالم به‌صورت کمی در دستگاه StepOnePlus™ Real-Time PCR System (Applied Biosystems, USA) انجام شد و منحنی های تکثیر و ذوب به‌وسیله دستگاه رسم شد. واکنش-های Real-time PCR با ۳ دفعه تکرار انجام گردید. واکنش نمونه‌های موردنظر طی ۳ مرحله به‌صورت زیر انجام پذیرفت: مرحله اول (Predenaturation) در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱۰ دقیقه و مرحله دوم (Amplification) به‌طور متناوب در طول ۴۵ سیکل جهت دناتوراسیون در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱۵ ثانیه و اتصال و گسترش در دمای ۵۹ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۳۰ ثانیه و ۷۲ درجه سانتی‌گراد به-مدت ۳۰ ثانیه انجام شد، و مرحله سوم (Melting) در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱۵ ثانیه و دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۴۵ ثانیه و سپس در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۳۰ ثانیه انجام شد. پس از انجام واکنش تکثیر به‌روش Real time pcr، Ct(Cycle threshold) نمونه‌ها توسط دستگاه به‌دست آمد و تجزیه و تحلیل CT نمونه‌ها با استفاده از روش ΔΔCt انجام شد. بررسی تغییرهای بیان با استفاده از کمیت سنجی نسبی (RQ) Relative Quantification انجام شد. اساس این روش بر پایه تعیین نسبت بیان ژن مورد نظر به ژن مرجع است. در این روش بایستیPCR efficiency هر دو ژن *YKL39* و *ACTB* به‌طور تقریبی برابر باشد.

از آزمون T-test و تحلیل واریانس یک طرفه (ANOVA) جهت تجزیه و تحلیل آماری برای تشخیص تفاوت بین گروه‌ها انجام گردید هم‌چنین از آزمون Man-Whitney برای متغیرهایی که توزیع طبیعی نداشتند به‌جای آزمون T-test، استفاده شد. در این مطالعه داده‌ها به‌صورت mean ± SD بیان می-شوند. جهت بررسی ویژگی ژن *YKL39* به‌عنوان بیومارکر زیستی در نمونه‌های گلیوبلاستومامولتی فرم و سالم از منحنی Roc استفاده شد.

تمام آنالیزهای آماری توسط GraphPad PrismV.8.0.1 (GraphPad Software, La Jolla, CA, USA) انجام شد. اطلاعات ثبت شده درباره ژن *YKL39* و miR آن از دیتابیس‌های مختلف از جمله NCBI، UniPort، miRWalk2.0، Signor و ESTHER استفاده شد. در این مطالعه از پایگاه داده‌هایی مانند NCBI، miRWalk2.0 (HTTPS://zmf.umm.uni-heidelberg.de/apps/zmf/mirwalk2) برای شناسایی miR ژن *YKL39* مورد استفاده قرار گرفت. از پایگاه داده آنلاین (HTTPS: //david.ncifcrf.gov/) DAVID نسخه ۶,۸ (۲۳) برای تفسیر سیستماتیک این ژن با استفاده از miR منتخب در سطح عملکردی استفاده شد. KEGG مجموعه‌ای جامع از ژنوم‌ها و عملکردهای آنزیمی و هم‌چنین مسیرهای سیگنالینگ است (۲۲). از پایه‌های DAVID و KEGG برای

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1401.12.46.2.7]

شناسایی مسیر سیگنالینگ ژن *YKL39* استفاده شد (جدول ۲).

جدول۱. بررسی ویژگی‌های کلینیکوپاتولوژی بیماران مبتلا و بافت سالم حاشیه تومور GBM

ویژگی	گلیوبلاستومامولتی فرم	**نرمال**	*میانگین* RQ *YKL39*
سن			
تعداد افراد	۲۵	۲۵	
سال ۵۰>	(۲۸ درصد) ۷	(۳۰ درصد) ۱۲	۶/۰۳۷۳۳۱۳
سال ۵۰<	(۷۲ درصد) ۱۸	(۷۰ درصد) ۱۳	۳/۴۶۵۶۸۶
جنسیت			
مرد	(۵۶ درصد) ۱۴	(۷۰ درصد) ۱۳	۴/۱۱۰۱۹۶
زن	(۴۴ درصد) ۱۱	(۳۰ درصد) ۱۲	۴/۲۸۱۸۹۱

یافته‌ها

نتایج بیان ژن *YKL39* در نمونه‌های مبتلا به گلیوبلاستومامولتی فرم با سن و جنسیت با استفاده از آزمون T-test در نرم‌افزار GraphPad Prism 8 مورد بررسی قرار گرفت. طی بررسی بیان ژن *YKL39* در بیماران مرد و زن با P_{value} =۰/۸۹۸۸ (شکل ۱-ب) و بیان ژن *YKL39* با سن بیماران، افراد بالای ۵۰ سال و زیر ۵۰ سال با P_{value}=۰/۲۹۷۱ از لحاظ آماری ارتباط معناداری دیده نشد (شکل ۱-پ). آنالیز نتایج به‌دست آمده از آزمایش کمّی میزان بیان ژن *YKL39* در بافت-های گلیوبلاستومامولتی فرم و بافت سالم حاشیه تومور گلیوبلاستومامولتی فرم نشان داد که در بافت گلیوبلاستومامولتی فرم نسبت‌به بافت نرمال افزایش بیان داشت و از نظر آماری اختلاف معناداری وجود دارد (P_{value}<۰/۰۰۰۱) (شکل ۱-د). تجزیه و تحلیل منحنی Receiver operating characteristic (Roc) جهت ارزیابی ارزش بیومارکری *YKL39* در نمونه‌های بافت توموری گلیوبلاستومامولتی فرم و سالم انجام شد (شکل ۲). سطح زیر منحنی (AUC) که نشانگر دقت در تمایز بافت بیماران و بافت کنترل است برابر با ۰/۶۸۰۰±۰/۰۸۴۳ و (P=۰/۰۲۹۰) و (CI=۰/۷۳۳۳) و حساسیت و اختصاصیت محاسبه شده به‌ترتیب برابر ۰/۵۶ و ۱ است.

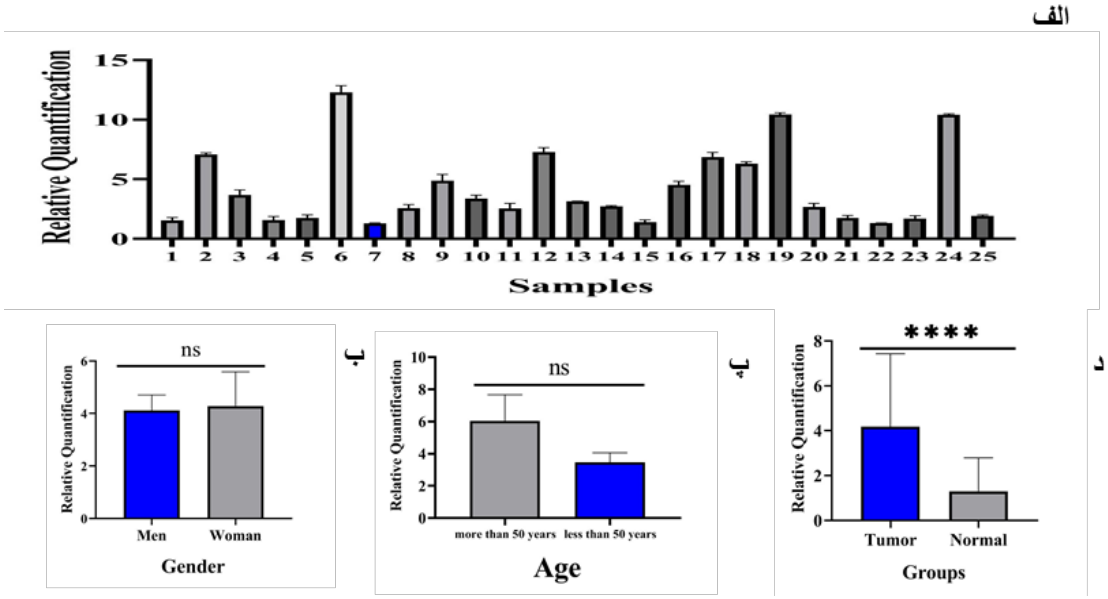
مجموعه ژن‌های درگیر در سرطان و مسیرهای سیگنالینگ glioma، MAPK، Calcium، mTOR بودند (شکل ۳).

جدول ۳. آنالیز مسیر KEGG برای miR-1343-3p در ارتباط با GBM

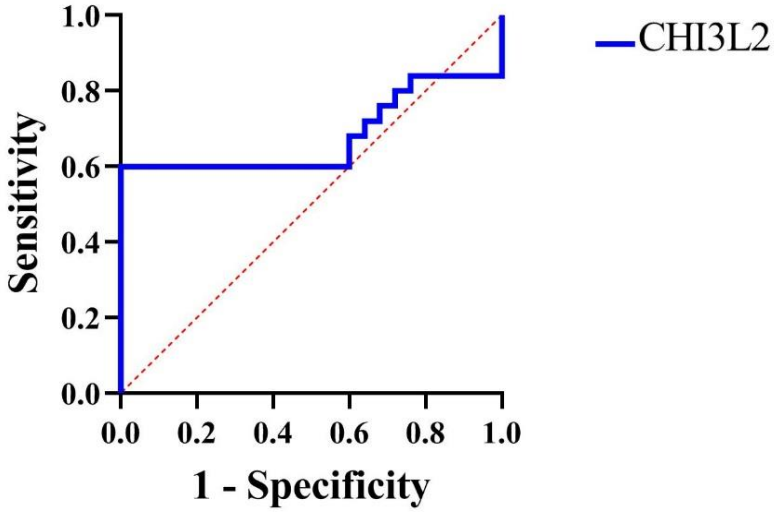
مسیر	تعداد ژن‌های درگیر	P-value
MAPK signaling	۳۵	۹/۷E-۳
Glioma	۱۴	۴/۳E-۳
Calcium signaling	۳۱	۵/۰E-۴
mTOR signaling	۱۰	۷/۰E-۲

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2024-10-12]

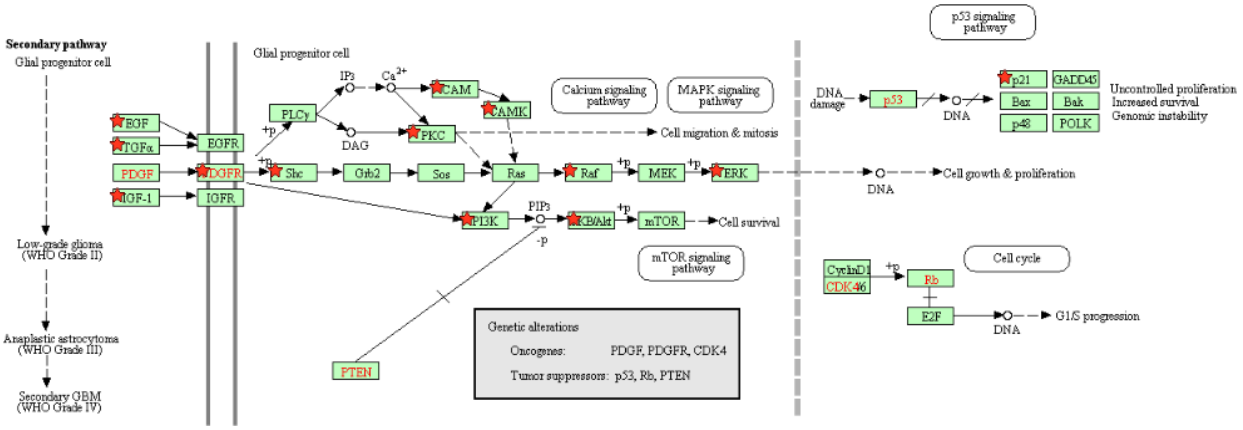
[DOR: 20.1001.1.22285458.1401.12.46.2.7]



شکل ۱. (الف) بررسی میزان بیان ژن *YKL39* در ۲۵ نمونه بافت بیماران مبتلا به GBM. (ب) بررسی بیان ژن *YKL39* در بیماران مبتلا به GBM براساس جنسیت. P_{value} =۰/۸۹۸۸. (پ) بررسی بیان ژن *YKL39* در بیماران مبتلا به GBM بر اساس سن. P_{value} =۰/۲۹۷۱. (د) نمودار مقایسه بیان ژن *YKL39* در نمونه‌های بافت بیماران مبتلا به GBM و نمونه‌های سالم از حاشیه تومور GBM. P_{value} < ۰/۰۰۰۱.



شکل ۲. تجزیه و تحلیل منحنی Roc ژن *YKL39* در نمونه‌های بافت بیماران مبتلا به GBM و نمونه‌های بافت سالم از حاشیه تومور GBM



شکل ۳. ژن‌های درگیر در مسیر سیگنالینگ miR-1343-3p. ژن‌های درگیر در مسیر سیگنالینگ با ستاره قرمز نشان داده شده است.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1401.12.46.2.7]

بحث

تومورهای مغزی عامل عمده مرگ و میر ناشی از سرطان در کودکان، دومین سرطان کشنده در افراد بالغ جوان و همچنین مسئول درصد قابل توجهی از مرگ به علت سرطان در افراد مسن است.

طبق آخرین مطالعه در ایران تومورهای مغزی و سایر تومورهای سیستم عصبی مرکزی حدود ۲٪ کل سرطان را در کشور تشکیل داده و درصد مرگ ناشی از این سرطان حدود ۲/۸ از هر صد هزار نفر تخمین زده شده است که از این لحاظ جز سرطان‌هایی با مرگ و میر بالا است (۲۴).

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 به‌نسبت کمی دارد، ولی ۲/۵ درصد از مرگ‌های سرطانی را به خود اختصاص داده است (۲۶).

GBM سالانه میزان ٪۵,۲۶ در هزار نفر را شامل می‌شود. حدود ۱۷ هزار مورد جدید در هر سال تشخیص داده می‌شود (۲۵).

مطابق دستورالعمل انجمن ملی سرطان (NCI: National Cancer Institute)، بیومارکرها مولکول-های بیولوژیکی هستند که در خون یا بافت‌های بدن حضور دارند (۲۶).

بیومارکرهای سرطان نشانگرهایی هستند که حاصل ترشح سلول تومورال یا حاصل نکروز و آپوپتوز این سلول‌ها هستند .تغییرهای اختصاصی مولکول‌های سلول‌های سرطانی قابل اندازه‌گیری است. بیومارکرها می‌توانند RNA، DNA، پروتئین و متابولیت باشند. سرطان بیماری پیچیده‌ای است که بیان ژن در آن به-صورت نامتعادل انجام می‌پذیرد. بیومارکرها به‌عنوان هدف جدیدی برای درمان بسیار اهمیت دارد (۲۷). در مطالعه حاضر، فرض گردید که بررسی میزان تغییرهای بیان *YKL39* در نمونه‌های بافت گلیوبلاستوما و سالم می‌تواند فاکتوری مناسب جهت بررسی بدخیمی و تشخیص زود هنگام گلیوبلاستوما باشد. در این مطالعه بیان *YKL39* در نمونه‌های بافت گلیوبلاستوما مولتی فرم بررسی شد، نتایج نشان داد که بیان ژن *YKL39* در بافت توموری، بیش‌تر از بافت سالم اطراف تومور است. تحقیقی در مورد بیان این ژن در گلیوبلاستوما مولتی فرم در ایران تا به امروز انجام نشده و نقش *YKL39* در سرطان هنوز مشخص نیست. در این مطالعه miR در گیر در ژن *YKL39* مورد بررسی قرار گرفت و تجزیه و تحلیل KEEG انجام شد که آن، miR-1343-3P بود. بیش‌ترین ژن‌های درگیر به‌ترتیب در مسیرهای سیگنالینگ MAPK، سیگنالینگ Calcium، گلیوما، سیگنالینگ mTOR بودند. مطالعه‌های بسیاری ثابت کرده‌اند که اختلال در miRNAها نقش مهمی در رشد تومور، مانند تکثیر سلولی، آپوپتوز، اتوفاژی و متاستاز دارند (۲۸). miR-1343-3P نیز به‌عنوان یک سرکوب کننده تومور در بسیاری از سرطان‌ها شناسایی شده است به‌عنوان مثال سرطان معده (۲۹)، سرطان‌های روده بزرگ، پروستات و پانکراس (۳۰)، سرطان ریه (۳۱).

هم‌چنین مسیرهای مختلف سیگنالینگ miR-1343-3P توسط محققین شناسایی شده است که می‌توان به فعال‌سازی سیگنالینگ ERK (۳۲)، کاهش سیگنالینگ TGF-β (۳۳) اشاره نمود. در گلیوبلاستوما Vadym Kavsan و همکارانش با استفاده از تجزیه و تحلیل بیان ژن *YKL39* در یک لیست ۴۴ ژنی، بیان بیش از ۵ برابر افزایش ($P \leq ۰/۰۵$) گزارش دادند (۱۰). طبق نتایج SAEG این ژن در مغز بزرگسالان نرمال بیان ندارد اما بیان آن در تومورهای گلیال درجه II-IV بدخیمی افزایش می‌یابد (۳۴). Stanislav Avdieiev و همکارانش افزایش بیان ژن *YKL39* در گلیوبلاستوما با استفاده از (SAGE)، نورترن بلات و PCR را ثبت کردند (۳۷). در مطالعه‌های دانشمندان دیگر حضور ژن *YKL39* در ایجاد بیماری‌ها و هم‌چنین اثرات بیان این ژن در سرطان‌های دیگر نیز بررسی شده است، به‌عنوان مثال کاهش *YKL39* در ایجاد بیماری آرتروزیا بیماری مفصلی روماتوئید (۳۵)، سرطان پستان و سلول‌های توموری RCC افزایش بیان اتفاق می‌افتد (۳۶،۳۸).

در این مطالعه بیان ژن *YKL39* همانند دو تحقیق بر روی GBM، با افزایش بیان همراه بود و این افزایش بیان بین بافت بیماران مبتلا به GBM و بافت حاشیه

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1401.12.46.2.7]

تومور GBM معنادار بود (P_{value}< ۰/۰۰۰۱) این در حالی است که ما ارتباط معناداری در جنس (P_{value} =۰/۸۹۸۸) و سن (P_{value} =۰/۲۹۷۱) مشاهده نکردیم. با بررسی منحنی ROC ژن مورد مطالعه و با توجه‌به نتایج AUC و Cut-off ژن *YKL39* مشخص گردید که میزان بیان این ژن به‌خوبی در نمونه‌های بافت سالم و بیمار قابل تشخیص نیست و *YKL39* نمی‌تواند دارای ارزش بیومارکری باشد.

نتیجه‌گیری

نوع بیان ژن *YKL39* در سرطان GBM در نتیجه مطالعه صورت گرفته این احتمال را به‌وجود می‌آورد که این ژن یکی از ابتدایی‌ترین رویدادهای تشکیل GBM در افراد مستعد باشد و شاید مطالعه در مورد دلایل این افزایش بیان راه کارهای ارزنده‌ای در مورد روش‌های مولکولی پیشگیری ارائه دهد. به منظور انجام بررسی‌های دقیق‌تر بالا بردن حجم نمونه و بررسی بیان ژن مذکور با یکی از روش‌های سنجش میزان پروتئین هم‌چون ایمونوهیستوشیمی و وسترن بلات نیز توصیه می‌گردد.

سپاسگزاری

نویسندگان از دانشگاه آزاد اسلامی واحد پرند و دانشگاه علوم پزشکی زنجان (زنجان، ایران) و کلیه بیمارانی که در این مطالعه شرکت کرده اند تشکر می‌کنند.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1401.12.46.2.7]

منابع

1. Hassani L, Asaadi Tehrani G, Mirza Ahmadi S. Relationship between LncRNA THRIL expression controlling TNF-alpha pathway in glioblastoma cell line under temozolomide treatment. Tehran University Medical Journal TUMS Publications. 2018 Oct 10;76(7):469-76.

2. Macdonald DR. Low-grade gliomas, mixed gliomas, and oligodendrogliomas. InSeminars in oncology 1994 (Vol. 21, No. 2, pp. 236-248).

3. Waghmare I, Roebke A, Minata M, Kango-Singh M, Nakano I. Intercellular cooperation and competition in brain cancers: lessons from Drosophila and human studies. Stem cells translational medicine. 2014 Nov;3(11):1262-8.

4. Alimohamadi SM, Ghodsi SM, Ketabchi SE. Epidemiologic patterns of primary brain tumors in Iran. Asian Pac J Cancer Prev. 2008 Apr 1;9(2):361-2.

5. Dashti S, Ashouri S, Kheirollahi M. Expression of TERRA in Different Grades of Astrocytoma. J Isfahan Med Sch. 2015: 2333-2342.

6. Hanif F, Muzaffar K, Perveen K, Malhi SM, Simjee SU. Glioblastoma multiforme: a review of its epidemiology and pathogenesis through clinical presentation and treatment. Asian Pacific journal of cancer prevention: APJCP. 2017;18(1):3.

7. Regazzo G, Terrenato I, Spagnuolo M, Carosi M, Cognetti G, Cicchillitti L, Sperati F, Villani V, Carapella C, Piaggio G, Pelosi A. A restricted signature of serum miRNAs distinguishes glioblastoma from lower grade gliomas. Journal of Experimental & Clinical Cancer Research. 2016 Dec;35(1):1-1.

8. Sánchez-Valle J, Tejero H, Ibáñez K, Portero JL, Krallinger M, Al-Shahrour F, Tabarés-Seisdedos R, Baudot A, Valencia A. A molecular hypothesis to explain direct and inverse co-morbidities between Alzheimer's Disease, Glioblastoma and Lung cancer. Scientific reports. 2017 Jun 30;7(1):1-2.

9. Shabani M, Ganji SM, Far IS. Investigation of Long Non-coding RNA HOX A11-AS Expression in Iranian Patients with Glioblastoma: A Quantitative Study. Qom University of Medical Sciences Journal. 2020 Jul 10;14(5):22-9.

10. Kavsan V, Dmitrenko V, Boyko O, Filonenko V, Avdeev S, Areshkov P, Marusyk A, Malisheva T, Rozumenko V, Zozulya Y. Overexpression of YKL-39 gene in glial brain tumors. Scholarly Research Exchange. 2008 Oct 23;2008.

11. Schimpl M, Rush CL, Betou M, Eggleston IM, Recklies AD, Van Aalten DM. Human YKL-39 is a pseudo-chitinase with retained chitooligosaccharide-binding properties. Biochemical Journal. 2012 Aug 15;446(1):149-57.

12. Hu B, Trinh K, Figueira WF, Price PA. Isolation and sequence of a novel human chondrocyte protein related to mammalian members of the chitinase protein family. Journal of Biological Chemistry. 1996 Aug 9;271(32):19415-20.

13. Ha M. J., and V.,. N. Kim. 2014. Regulation of microRNA biogenesis. Nat. Rev. Mol. Cell Biol.;15:509-24.

14. Bushati N, Cohen SM. microRNA functions. Annual review of cell and developmental biology. 2007;23:175-205

15. Huang Q, Li H, Dai X, Zhao D, Guan B, Xia W. miR-497 inhibits the proliferation and migration of A549 non-small-cell lung cancer cells by targeting FGFR1. Molecular medicine reports. 2019 Oct 1;20(4):3959-67.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1401.12.46.2.7]

16. Shen L, Lin Y, Sun Z, Yuan X, Chen L, Shen B. Knowledge-guided bioinformatics model for identifying autism spectrum disorder diagnostic MicroRNA biomarkers. Scientific reports. 2016 Dec 21;6(1):1-9.

17. Jonas S, Izaurralde E. Towards a molecular understanding of microRNA-mediated gene silencing. Nature reviews genetics. 2015 Jul;16(7):421-33.

18. Tian F, Zhan Y, Zhu W, Li J, Tang M, Chen X, Jiang J. MicroRNA-497 inhibits multiple myeloma growth and increases susceptibility to bortezomib by targeting Bcl-2 Corrigendum in/10.3892/ijmm. 2019.4297. International journal of molecular medicine. 2019 Feb 1;43(2):1058-66.

19. Zhu W, Zhu D, Lu S, Wang T, Wang J, Jiang B, Shu Y, Liu P. miR-497 modulates multidrug resistance of human cancer cell lines by targeting BCL2. Medical oncology. 2012 Mar;29(1):384-91.

20. Areshkov PO, Avdieiev SS, Balynska OV, LeRoith D, Kavsan VM. Two closely related human members of chitinase-like family, CHI3L1 and CHI3L2, activate ERK1/2 in 293 and U373 cells but have the different influence on cell proliferation. International journal of biological sciences. 2012;8(1):39.

21. Röhn G, Koch A, Krischek B, Stavrinou P, Goldbrunner R, Timmer M. ACTB and SDHA are suitable endogenous reference genes for gene expression studies in human astrocytomas using quantitative RT-PCR. Technology in cancer research & treatment. 2018 Sep 25;17:1533033818802318.

22. Ogata H, Goto S, Sato K, Fujibuchi W, Bono H, Kanehisa M. KEGG: Kyoto encyclopedia of genes and genomes. Nucleic acids research. 1999 Jan 1;27(1):29-34.

23. Huang DW, Sherman BT, Lempicki RA. Systematic and integrative analysis of large gene lists using DAVID bioinformatics resources. Nature protocols. 2009 Jan;4(1):44-57.

24. Mousavi SM, Gouya MM, Ramazani R, Davanlou M, Hajsadeghi N, Seddighi Z. Cancer incidence and mortality in Iran. Annals of oncology. 2009 Mar 1;20(3):556-63.

25. Soomro SH, Ting LR, Qing YY, Ren M. Molecular biology of glioblastoma: Classification and mutational locations. J. Pak. Med. Assoc. 2017 Sep 1;67:1410-4.

26. DeAngelis LM. Brain tumors. New England journal of medicine. 2001 Jan 11;344(2):114-23.

27. Cairncross JG, Macdonald DR. Successful chemotherapy for recurrent malignant oligodendroglioma. Annals of neurology. 1988 Apr;23(4):360-4.

28. Calin GA, Croce CM. MicroRNA signatures in human cancers. Nat Rev Cancer. 2006; 6:857–66.

29. Zhou Y, Huang T, Zhang J, Wong CC, Zhang B, Dong Y, Wu F, Tong JH, Wu WK, Cheng AS, Yu J, Kang W, To KF. TEAD1/4 exerts oncogenic role and is negatively regulated by miR-4269 in gastric tumorigenesis. Oncogene. 2017; 36:6518–30.

30. Kojima M, Sudo H, Kawauchi J, Takizawa S, Kondou S, Nobumasa H, Ochiai A. MicroRNA markers for the diagnosis of pancreatic and biliary-tract cancers. PLoS One. 2015; 10:e0118220.

31. Kim H, Yang JM, Jin Y, Jheon S, Kim K, Lee CT, Chung JH, Paik JH. MicroRNA expression profiles and clinicopathological implications in lung adenocarcinoma according to EGFR, KRAS, and ALK status. Oncotarget. 2017; 8:8484–98.

32. Chen X, Wang J, Xie F, Mou T, Zhong P, Hua H, Liu P, Yang Q. Long noncoding RNA LINC01559 promotes pancreatic cancer progression by acting as a competing endogenous RNA of miR-1343-3p to upregulate RAF1 expression. Aging (Albany NY). 2020 Jul 31;12(14):14452.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1401.12.46.2.7]

33. Stolzenburg LR, Wachtel S, Dang H, Harris A. miR-1343 attenuates pathways of fibrosis by targeting the TGF-β receptors. Biochemical Journal. 2016 Feb 1;473(3):245-56.

34. V. Kavsan, K. Shostak, V. Dmitrenko, Y. Zozulya, V. Rozumenko, and J. Demotes-Mainard, "Characterization of genes with increased expression in human glioblastomas," Tsitology and Genetics, vol. 39, no. 6, pp. 37–49, 2005.

35. T Knorr, F Obermayr, E Bartnik, A Zien, T Aigner. YKL-39 (chitinase 3-like protein 2), but not YKL-40 (chitinase 3-like protein 1), is up regulated in osteoarthritic chondrocytes. Ann Rheum Dis 2003;62:995–998.

36. Pusztai C, Yusenko MV, Banyai D, Szanto A, Kovacs G. M2 macrophage marker chitinase 3-like 2 (CHI3L2) associates with progression of conventional renal cell carcinoma. Anticancer research. 2019 Dec 1;39(12):6939-43.

37. Stanislav Avdieiev, Liliia Savinska, Valeriy Filonenko, Vadym Kavsan. Chitinase 3-like 2 protein monoclonal antibodies. Hybridoma (Larchmt). 2012 Feb;31(1):32-9.

38. Tengfei Liu , Irina Larionova , Nikolay Litviakov, et al. Tumor-associated macrophages in human breast cancer produce new monocyte attracting and pro-angiogenic factor YKL-39 indicative for increased metastasis after neoadjuvant chemotherapy. Oncoimmunology. 2018; 7(6): e1436922.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1401.12.46.2.7]

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1401.12.46.2.7]