

## مقاله پژوهشی

بررسی تغییرات بیان ژن *SMC4* در بافت بیماران مبتلا به گلیوبلاستوما مولتی‌فرمعطیه توکلی<sup>۱</sup>، حمیدرضا خیری<sup>۲\*</sup>، وجیهه زرین پور<sup>۱</sup>، محمد مهدی فرقانی فرد<sup>۱</sup>

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

۲- گروه فناوری نانو دارویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی زنجان، زنجان، ایران

\*مسئول مکاتبات: h.kheiri@zums.ac.ir

DOI: 10.22034/ascij.2021.687823

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۱/۰۵

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۰/۱۲

## چکیده

گلیوبلاستوما مولتی‌فرم (که به آن گلیوبلاستوما، GBM یا آستروسیتومای درجه چهار نیز گفته می‌شود) یک سرطان غیرمعمول است و بیش از نیمی از تومورهای بدخیم مغزی اولیه تشخیص داده شده را تشکیل می‌دهد. بررسی بیان ژن‌های دخیل در گلیوبلاستوما می‌تواند در تشخیص زودهنگام موثر باشد، از این رو به اهمیت بالینی و نقش بیولوژیکی رونوشت ژن *SMC4* در سرطان گلیوبلاستوما که ناشناخته است پرداختیم. در مطالعه حاضر، ۵۰ نمونه بافت سالم حاشیه تومور گلیوبلاستوما عنوان گروه کنترل استفاده شد و ۵۰ نمونه بافت گلیوبلاستوما به عنوان گروه بیمار، قبل از درمان به دست آمد. استخراج RNA و سنتز cDNA انجام شد. سطح بیان *SMC4* توسط qRT-PCR ارزیابی شد. *ACTB* به عنوان کنترل داخلی استفاده شد. تجزیه و تحلیل آماری توسط GraphPad Prism v.8.0.1 انجام شد. منحنی ROC رسم شد. بیان بیش از حد *SMC4* ( $P < 0.0001$ ) در نمونه‌های بافت گلیوبلاستوما در مقایسه با بافت سالم حاشیه تومور قابل توجه است. در حالی که در سن ( $P < 0.007$ ) و جنس ( $P < 0.027$ ) بیان معنی‌داری مشاهده نشد. افزایش بیان ژن *SMC4* می‌تواند نقش مهمی در سرطان گلیوبلاستوما داشته باشد. کار ما دیدگاه جدیدی در رونوشت ژن *SMC4* با توجه به آنالیز منحنی ROC به عنوان یک مارکر زیستی فراهم می‌کند، اما نیاز به مطالعه بیشتری دارد.

کلمات کلیدی: گلیوبلاستوما مولتی‌فرم، *SMC4*، qRT-PCR، بیان

## مقدمه

از زیرمجموعه‌های سلول‌های بنیادی سرطانی (CSC) تشکیل شده است که قادر به رشد و پیشرفت تومور می‌باشد. سلول‌های توموری و سلول‌های پارانشیمی غیر نئوپلاستیک هستند و شامل سلول‌های عروقی، میکروگلیا و سلول‌های ایمنی محیطی که در سراسر توده تومور در هم آمیخته هستند می‌باشند (۳، ۲۱، ۲۵). از نظر بافت‌شناسی، طبقه‌بندی تومورهای سیستم عصبی مرکزی از جهت سازمان بهداشت

گلیوما شایعترین تومور بدخیم اولیه سیستم عصبی مرکزی (CNS) است که حدود ۲۷ درصد از کل تومورهای اولیه مغز و ۸۰ درصد تومورهای بدخیم اولیه مغز را تشکیل می‌دهد (۱۴). تهاجمی‌ترین تومور با منشا گلیال، گلیوبلاستوما (GBM) است با بقای متوسط ۱۴ ماه و این یک بار اقتصادی و اجتماعی را رقم می‌زند (۱۱، ۱۹). مطالعه GBM در سطح سلولی و مولکولی هنوز ناشناخته است. GBM

سیگنالینگ سرطان گلیوبلاستوما و ژن *SMC4* صورت گرفته است. در این مطالعات نقش ژن *SMC4* در مسیرهای سیگنالینگ JAK2/Stat3 (۲۳)، TGFβ/Smad و چرخه سلولی (۶) در سرطان‌های مختلف مورد بررسی قرار گرفته است. با توجه به اطلاعات به دست آمده در آزمایشات نه چندان زیاد و بررسی‌های انجام گرفته، این ژن کاندید مناسبی برای بررسی عملکرد بر روی گلیوبلاستوما است. در مطالعه حاضر هدف بررسی بیان ژن *SMC4* در سرطان گلیوبلاستوما با استفاده از روش qRT-PCR در جمعیت ایران انجام شد.

#### مواد و روش‌ها

**تهیه نمونه:** در این مطالعه موردی، ۵۰ نمونه از بافت GBM قبل از درمان و ۵۰ نمونه از بافت سالم حاشیه تومور بیماران مبتلا به GBM پس از تأیید توسط پاتولوژیست از بیمارستان‌های امام خمینی و شهدا تهران در سال‌های ۱۳۹۶ و ۱۳۹۷ جمع‌آوری شد و فرم رضایت‌نامه از بیماران و تأیید کد اخلاق (IR.IAU.DAMGHAN.REC.1399.017) توسط کمیته اخلاق زیست پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان به دست آمد. نمونه‌های جمع‌آوری شده در بازه سنی ۴۶ تا ۷۷ سال بودند. بافت‌های تهیه شده به صورت بلوک‌های پارافینه بود. مشخصات کلینیکوپاتولوژیک نمونه‌ها در جدول ۱ ارائه شده است.

**پارافین‌زدایی:** در زمان شروع انجام آزمایش جهت پارافین‌زدایی بافت نمونه، به وسیله میکروتوم ۸ تا ۱۰ برش بسیار نازک از بافت زده و در یک میکروتیوپ استریل ۱/۵ ml ریخته شد. سپس جهت دپارافینه کردن نمونه‌ها از FFPE Paraffin Removal Solution (biotechrabbit, Germany) استفاده شد. به هر نمونه ۳۲۰ μl از این بافر افزوده و سپس به مدت ۱۰ ثانیه

جهانی (WHO) آستروسیتوماها، الیگودندر و گلیوم‌ها و اپاندیموما است و با توجه به درجه بدخیمی، WHO درجه I-IV را تعیین می‌کند (۲۰). میانگین میزان بقای یک ساله بیماران مبتلا به گلیوما ۳۰ درصد است و متوسط زندگی در بیماران مبتلا به GBM درجه IV فقط ۱۵ ماه است (۵، ۱۵). مهمترین عامل این زمان کوتاه بقا، توانایی تکثیر سلول‌های گلیومای بدخیم، حمله و مهاجرت به بافت مغز مجاور است که منجر به باقی ماندن تومور بعد از عمل و میزان عود زیاد می‌شود (۲، ۱۷، ۱۸). با وجود پیشرفت‌های موجود در روش‌های درمانی، باز هم پیش‌آگهی زودهنگام در تومورهای درجه بالا مشکل موجود جهت درمان است. امروزه پیشرفت در علوم زیست‌شناسی مولکولی فرصتی جهت درمان تومورها با استفاده از مارکرهای خاص مولکولی و مسیرهای سیگنالینگ درگیر در انکوژن می‌باشد (۹). یکی از ژن‌هایی که در تومورهای متعددی بسیار بیان می‌شود، *SMC4* یکی از اعضای خانواده *SMC* می‌باشد که نشان‌دهنده نقش سرطان‌زا در پاتوژنز و پیشرفت سرطان است (۴، ۷، ۲۲، ۲۳، ۲۴). این ژن در سرطان‌های مختلفی چون کارسینوم سلول‌های کبدی با افتراق تومور، مراحل پیشرفته و تهاجم عروق (۲۳)، بیان بالا در سرطان روده بزرگ و رشد سلول‌های توموری، مهاجرت و حمله (۴، ۷) سرطان پروستات (۲۲) سرطان پستان (۱۱) در ارتباط است.

کاهش بیان ژن *SMC4* باعث از بین رفتن سلول‌های سرطانی (۲۳، ۲۴) کاهش انتقال و تهاجم (۸) به سایر سلول‌ها و در نهایت شاهد بیمارانی با گریدهای پایین (I و II)، در نتیجه بهبود بقای کلی (۴، ۷) هستیم، به همین علت *SMC4* ممکن است به عنوان یک فاکتور مهم پیش‌آگهی و یک هدف درمانی بالقوه باشد. با این حال، بیان و نقش بالقوه آن در گلیوم ناشناخته مانده است. مطالعات متعددی بر روی مسیرهای

نظر طی ۴۰ چرخه و هر سیکل دارای ۳ مرحله به صورت زیر انجام پذیرفت: مرحله Activation در دمای ۹۵ درجه سانتیگراد به مدت ۱۰ دقیقه و سپس دو رشته در مرحله Denaturation و دمای ۹۵ درجه سانتیگراد به مدت ۱۵ ثانیه از هم جدا شدند و در پایان مرحله Primer annealing و Extention در دمای ۶۰ درجه سانتیگراد به مدت ۶۰ ثانیه انجام شد (۱۰). توالی پرایمر مورد استفاده *SMC4* توسط نرم-افزار Gene Runner Version 6.5.52 Beta طراحی و با استفاده از ابزار Blast و پایگاه داده RT Primer Data base از یکتا بودن محل اتصال جفت پرایمرها و ساختار فضایی آنها اطمینان حاصل شد. ساخت و تولید پرایمرها توسط شرکت سازنده Metabion international AG کشور آلمان صورت گرفت. در جدول ۲ توالی پرایمرها ارائه شده است. هر آزمایش سه بار تکرار گردید. این تست برای دو ژن *SMC4* و *ACTB* (۱۲) مطابق پروتکل به دست آمده از تست qPCR بر روی نمونه‌های بافت بیماران GBM و نمونه‌های بافت سالم حاشیه تومور GBM انجام شد و نمودار خطی منحنی‌های تکثیر ژن‌ها برای نمونه‌ها توسط اندازه‌گیری تغییرات میزان فلورسانس به وسیله دستگاه رسم گردید.

**آنالیز آماری:** در مطالعه حاضر برای آنالیز میزان بیان ژن مورد مطالعه از Real-Time PCR System Step One و جهت آنالیز آماری از GraphPad Prism V.8.0.1 (Graph Pad Software Inc, CA, USA) استفاده شد و  $p \leq 0/05$  معنادار در نظر گرفته شده است و با \* نشان داده شده است، \*\* نشان دهنده ۰/۰۱  $p < 0/001$  نشان دهنده ۰/۰۰۱  $p < 0/0001$  نشانگر \*\*\*\* نشانگر  $p < 0/0001$  است. هم چنین میزان تغییرات بیان ژن مورد مطالعه نسبت به بافت سالم با متد  $\Delta\Delta CT$  با فرض برابری راندمان Efficiency بین ژن مورد نظر و مرجع مورد بررسی قرار گرفته است. میزان تغییرات

ورتنکس انجام شد و به مدت ۳ دقیقه در دمای ۵۶ درجه‌ی سانتیگراد قرار گرفت. میکرتیوپ را به مدت ۵ دقیقه در ۱۰۰۰ rpm سانتریفیوژ و مایع رویی دکانته گردید، این مراحل جهت پارافین‌زدایی کامل ۳ بار تکرار گردید.

**استخراج RNA:** RNA از بافت‌های گلیوبلاستوما و نرمال طبق دستورالعمل کیت High Pure RNA Paraffin kit (Roche, Germany) استخراج شد. برای بررسی کیفیت RNA استخراج شده از ژل آگارز ۱ درصد و برای تعیین کمیت، غلظت و OD نمونه‌ها توسط طیف‌سنجی نوری با استفاده از Biophotometer Pluse (Eppendorf, Germany) در طول موج ۲۶۰ نانومتر و ۲۸۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. بنابراین برای تعیین کیفیت میزان خالص بودن RNA نسبت بهینه OD ۲۸۰/۲۶۰ بین ۲- ۱/۸ می‌باشد و نسبت‌های دیگر نشان دهنده آلودگی RNA یا DNA و یا پروتئین می‌باشد.

**سنتز cDNA:** cDNAها با استفاده از کیت AccuPower®RT/PCR PerMix (BioNEER, USA) سنتز شد، که برای هر واکنش یک میکروگرم از RNA تام استخراج شده به عنوان الگو برای ساخت cDNA استفاده گردید. جهت غیر فعال کردن آنزیم RT مخلوط واکنش در مرحله رونویسی معکوس، در دمای ۴۲ درجه سانتی گراد به مدت ۱ ساعت و در دمای ۸۰ درجه سانتی گراد به مدت ۵ دقیقه قرار گرفتند و در نهایت در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شدند.

**تکنیک Real-Time PCR:** در این بررسی، روش Real-time PCR همراه با نرمالیزاسیون و با استفاده از RT<sup>2</sup> SYBR Green qPCR Mastermix (QIAGEN, StepOnePlus™ Real-Time PCR System (Applied Biosystems, USA) انجام گرفته است. از ژن *ACTB* به عنوان کنترل داخلی (۱۶) استفاده گردید. واکنش نمونه‌های مورد

تا اختلافات آماری معنی دار را نشان دهد ( $p \leq 0/05$ ). برای ارزیابی حساسیت و ویژگی ژن *SMC4* در نمونه های دارای گلیوبلاستوما و ارزش طبیعی و نشانگر زیستی این ژن، از تحلیل منحنی ROC استفاده شد. از آزمون پیرسون برای بررسی همبستگی بین نمونه های بافت بیمار GBM و نمونه بافت سالم حاشیه تومور GBM استفاده شد.

بیان ژن هدف در گلیوبلاستوما با بیان ژن کنترل داخلی نرمالایز شده و با میزان بیان ژن در نمونه کنترل یا کالیبراتور به صورت کمی بررسی شده است. داده‌ها به صورت میانگین  $\pm$  SEM بیان می‌شوند. تجزیه و تحلیل آماری برای تشخیص تفاوت بین گروه‌ها با استفاده از آزمون t و تحلیل واریانس یک طرفه (ANOVA) انجام شد. از آزمون Man-Whitney برای متغیرهایی که توزیع طبیعی نداشتند استفاده شد

جدول ۱- مشخصات کلینیکوپاتولوژیک

ویژگی های نمونه	تعداد نمونه ها	
	بافت توموری GBM (۵۰ نمونه)	بافت سالم حاشیه تومور GBM (۵۰ نمونه)
سن		
کمتر از ۵۰ سال	۱۶ (درصد ۳۲)	۲۰ (درصد ۴۰)
بیشتر از ۵۰ سال	۳۴ (درصد ۶۸)	۳۰ (درصد ۶۰)
جنسیت		
مرد	۲۹ (درصد ۵۸)	۳۰ (درصد ۶۰)
زن	۲۱ (درصد ۴۲)	۲۰ (درصد ۴۰)

جدول ۲- توالی پرایمر اختصاصی طراحی شده ژن *SMC4* و *ACTB*

ژن	توالی پرایمرها ( $5' > 3'$ )	شماره ثبت ژن در بانک جهانی	دمای اتصال (درجه سانتی گراد)	طول قطعه (جفت باز)
<i>SMC4</i> F	ATCTTGAAGCGATCAAGAATCC	NC_000003.12	۵۶/۵۸	۱۵۲ bp
<i>SMC4</i> R	TTTGTCCAATTCTGCTACCC	NM_005496.3	۵۵/۶۳	
<i>ACTB</i> F	ATGTACGTTGCTATCCAGGC	NC_000007.14	۵۷/۷۶	۷۰ bp
<i>ACTB</i> R	AGTCCATCACGATGCCAG	NM_001101.3	۵۶/۷۳	

## نتایج

با توجه به این نکته که از رنگ فلورسانت سایبرگرین استفاده شده است، در این تحقیق برای بررسی اختصاصیت پرایمرها و رنگ فلورسانس سایبرگرین و اطمینان از تکثیر قطعه‌های اختصاصی و بررسی نبود قطعه‌های غیر اختصاصی در محصول PCR، نمودار منحنی ذوب برای ژن *SMC4* و *ACTB* (شکل ۱) رسم شد که این امر تأییدی بر اتصال صحیح پرایمرها به ژن *SMC4* و محصول PCR دقیقاً برای ژن مورد نظر است. پس از انجام واکنش تکثیر، ct نمونه‌ها با دستگاه محاسبه و به RQ یا میزان بیان تبدیل شد و

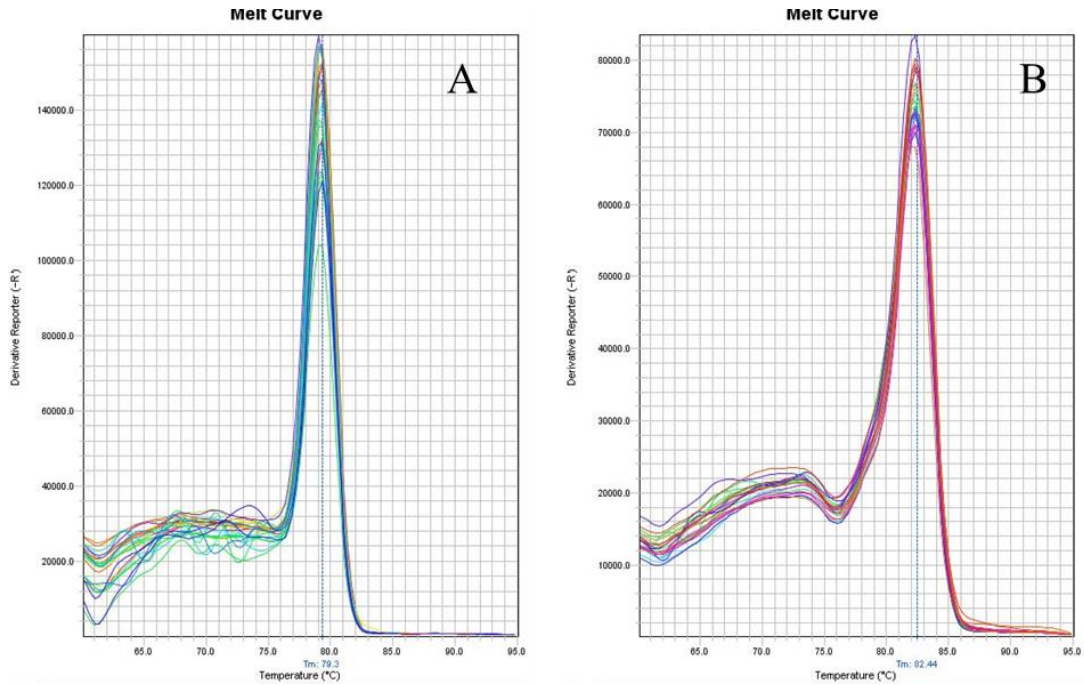
نتایج حاصل از این آزمایش‌ها نشان داد که پرایمرها به‌طور اختصاصی به ژن *SMC4* و *ACTB* متصل می‌شوند و هیچ‌گونه اتصال غیر اختصاصی مشاهده نشد. همچنین نتایج حاصل از آنالیز آماری نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین میزان بیان ژن *SMC4* در بافت تومور و بافت سالم حاشیه تومور وجود ندارد.

مرد ارتباط معناداری مشاهده نشد و افزایش بیان معناداری در ژن *SMC4* در بافت بیماران نشان داده نشد ( $p < 0/2270$ ) میانگین افزایش بیان ژن *SMC4* در زنان  $0/208$  و انحراف معیار  $3/444 \pm$  و در مردان میانگین برابر  $6/602$  و انحراف معیار  $4/318 \pm$  است (شکل ۵).

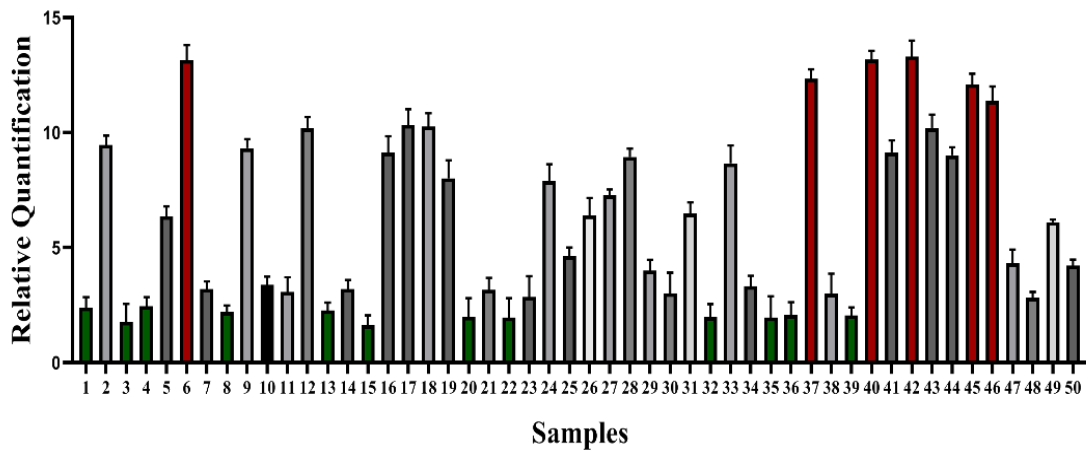
ارزیابی بیومارکری رونوشت ژن *SMC4* مورد مطالعه با استفاده از منحنی ROC انجام شد (شکل ۷). سطح زیر منحنی برای *SMC4* (AUC) که نشانگر دقت در تمایز بافت بیماران مبتلا به GBM نسبت به نمونه بافت سالم حاشیه GBM است برابر با  $0/88$  و  $p < 0/0001$  و  $CI=0/7381$  و حساسیت و اختصاصیت محاسبه شده به ترتیب برابر  $0/86$  و  $0/78$  می باشد. با آنالیز منحنی و تعیین مقدار cut-off برای این بیومارکر، مشخص گردید که مقدار *SMC4* می تواند تا حدودی بین بافت بیماران GBM و بافت سالم حاشیه تومور GBM تفاوت قائل شود. با توجه به میزان حساسیت آن، میتواند این ژن پتانسیل بیومارکری داشته باشد اما باید بررسی بیشتری صورت بگیرد. با توجه به بررسی انجام شده در آزمون پیرسون، همبستگی مثبت بین بافت نمونه های بیمار و بافت سالم حاشیه تومور وجود داشت (Pearson Correlation  $r = 0/229$ ) اما از نظر آماری ارتباط معنی داری وجود نداشت ( $p < 0/11$ ).

اندازه‌گیری میزان بیان ژن با روش  $\Delta\Delta Ct$  انجام شد. میزان بیان نمونه‌های بافت بیمار مبتلا به GBM به صورت مقایسه‌ای با نمونه‌های بافت سالم حاشیه تومور GBM انجام شد. نمونه‌ها از دستگاه برداشته شد و نتایج به دست آمده با نرم افزار Graph Pad Prism V.8.0.1 رسم شد (شکل ۲).

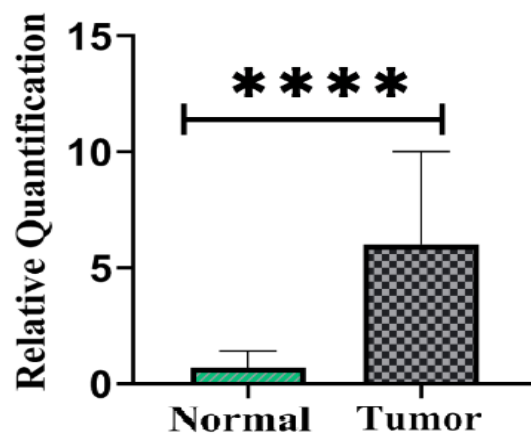
بررسی نتایج ژن *SMC4* در نمونه‌های بافت سالم حاشیه تومور GBM و نمونه‌های بافت بیمار GBM به وسیله Real-Time PCR همان طور که نتایج نشان می دهد میزان بیان ژن *SMC4* در نمونه های بیمار نسبت به نمونه های سالم افزایش بیان داشته (شکل ۳) ( $p < 0/0001$ ) و این افزایش بیان طبق نمودار شکل ۲ که به وسیله برنامه آنالیز کننده دستگاه PCR time real (ABI) انجام شده است، نشان می دهد که نمونه شماره ۴۲ بیشترین افزایش بیان وجود دارد و به طور تقریبی ۱۲ برابر نمونه بافت نرمال افزایش بیان پیدا کرده است. در نمونه ۳ کمترین افزایش بیان وجود دارد که بیان آن نسبت به نمونه نرمال بسیار کم افزایش یافته است. در بررسی سن و با تفکیک افراد به دو گروه بیشتر از ۵۰ سال و کمتر از ۵۰ سال مشخص شد که ارتباط معناداری بین این دو گروه وجود ندارد ( $p < 0/7507$ ) میانگین افزایش بیان ژن *SMC4* در افراد کمتر از ۵۰ سال برابر با  $6/282076$  و انحراف معیار  $4/369 \pm$  در افراد بیشتر از ۵۰ سال میانگین برابر با  $5/891261$  و انحراف معیار  $3/872 \pm$  است (شکل ۴). در بررسی نتایج بین دو گروه زن و



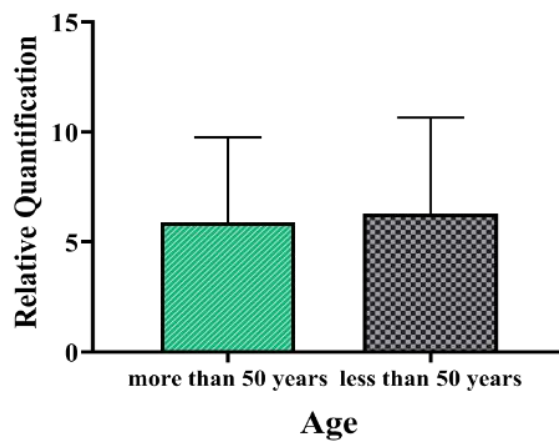
شکل ۱. نمودار منحنی ذوب ژن‌های *ACTB* و *SMC4*: (A) منحنی ذوب ژن *SMC4*، (B) منحنی ذوب ژن *ACTB*



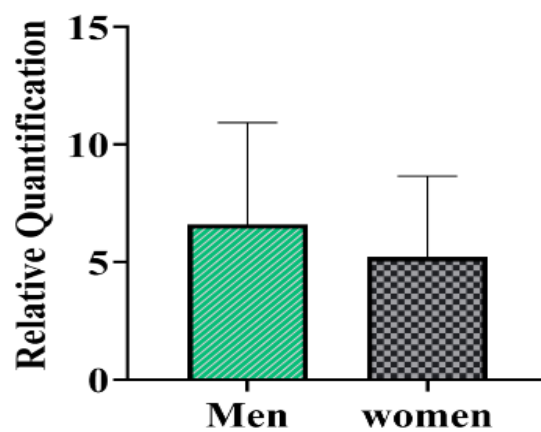
شکل ۲- بررسی بیان ژن *SMC4* در نمونه‌های بیمار، RQ میزان بیان ژن *SMC4* را نسبت به نمونه نرمال نشان می‌دهد. اعداد نشان دهنده شماره نمونه است.



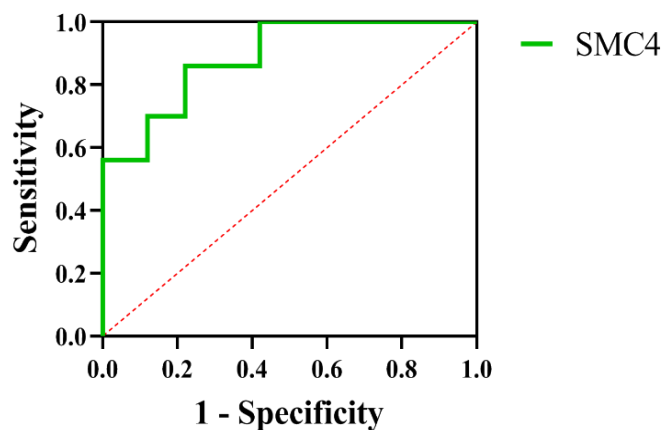
شکل ۳- افزایش بیان ژن *SMC4* در گروه بیماران نسبت به گروه نرمال ( $p < 0.0001$ )



شکل ۴- بررسی بیان ژن *SMC4* در بافت بیماران GBM بر اساس سن ( $p < 0.7507$ )



شکل ۵- بررسی بیان ژن *SMC4* در بافت بیماران GBM بر اساس جنسیت ( $p < 0.2270$ )



شکل ۷- آنالیز منحنی ROC ژن *SMC4* در بافت بیماران GBM و بافت سالم حاشیه بیماران GBM

### بحث

بیماران مبتلا به سرطان GBM با استفاده از Real-Time PCR پرداختیم. تاکنون هیچ مطالعه‌ای جهت بررسی بیان این ژن در ایران انجام نشده است، هم چنین اطلاعات کاملی در مورد عملکرد بیولوژیکی *SMC4* به دست نیامده است. در این مطالعه ما دریافتیم که بیان این ژن در بافت تومور GBM نسبت به بافت سالم مجاور تومور GBM افزایش یافته است و از نظر آماری دارای ارتباط معنی دار است ( $p < 0.0001$ ). از این رو می‌تواند فاکتوری مناسب جهت بررسی بدخیمی و تشخیص زودهنگام GBM باشد. تحقیق در مورد بیان این ژن در سرطان‌های مختلف از جمله GBM توسط دانشمندان دیگر نیز انجام گرفته است که همسو با نتیجه به دست آمده در این مطالعه می‌باشد. L Jiang و همکارانش به نقش *SMC4* در سرطان GBM پرداخته و به یافته‌های کلیدی دست یافتند. آنها مشاهده کردند که ژن *SMC4* در بیماران مبتلا به GBM افزایش بیان داشته است و این افزایش بیان با پیشرفت تومور و بقای کلی ضعیف در بیماران مبتلا به GBM همراه است. هم چنین به ارتقا و تکثیر سلول‌های گلیوما، مهاجرت/حمله و تومورزایی کمک می‌کند و افزایش بیان

تومور مغزی در ایران و دیگر کشورهای غربی از نظر اپیدمیولوژی دارای تفاوت و نسبت به کشورهای جنوب غرب آسیا دارای شباهت‌هایی است (۱). در ایران بر اساس توزیع فراوانی تومورهای مغزی از جهت سن، جنس و بافت‌شناسی بررسی‌هایی انجام شده است و در آن از نظر جنسیت تعداد مبتلایان مردان نسبت به زنان بیشتر بوده است (۱۲).

گلیوبلاستوما مولتی فرم (GBM) تهاجمی‌ترین شکل تومور مغزی است. بیماران مبتلا به GBM با عود مکرر علی‌رغم استاندارد مراقبت فعلی که ترکیبی از جراحی، رادیوتراپی و شیمی‌درمانی است، روبرو هستند و از این رو امید به زندگی آنها بسیار کوتاه است. بنابراین، معرفی روش‌های جدید و درمان‌های مولکولی بالقوه برای آزمایشات بالینی توجیه‌بالاتری برای GBM دارد (۱۳). یکی از مهم‌ترین مشکلات در درمان سرطان بحث تشخیص به موقع و زودهنگام آن است و در این بین بررسی ژن‌های دخیل در سرطان می‌تواند راه‌گشای درمان زودهنگام باشد.

همان‌طور که عنوان شد بررسی بیان ژن‌های دخیل در GBM می‌تواند در تشخیص زودهنگام موثر باشد از این رو ما به بررسی بیان ژن *SMC4* در بافت



پروتئین *SMC4* احتمالاً به دلیل تکثیر ژن *SMC4* در سطح رونویسی بوده است. *SMC4* نقش مشخصی در تراکم و میتوز کروموزوم دارد و برای پیشرفت طبیعی فاز S مورد نیاز است، که نشان‌دهنده نقش قبلاً شناخته نشده *SMC4* در پیشرفت همزمان از G1 به فاز S است (۲۳).  
Feng XD و همکارانش طی تحقیقاتی به اثر ژن *SMC4* بر سرطان روده بزرگ پرداختند، آنها متوجه شدند که بیان *SMC4* در بافت‌های سرطان روده بزرگ در مقایسه با بافت‌های طبیعی مجاور آن به طور قابل توجهی افزایش می‌یابد و خاموش کردن ژن *SMC4* باعث سرطان‌زایی، مهاجرت و حمله می‌شود. هم‌چنین افزایش بیان *SMC4* در هر دو سطح رونویسی و پس از رونویسی بوده است (۴). Zhao SG و همکارانش با خاموش کردن ژن *SMC4* به طور قابل توجهی با کاهش مهاجرت و/یا حمله در سرطان پروستات مواجه شدند (۲۲). Ma RM و همکارانش نشان دادند که بیان رونوشت از ژن *SMC4* در سلول‌های سرطانی می‌تواند باعث افزایش حساسیت به تراکم کروماتین در ابتدای میتوز شده و باعث افزایش میزان مهاجم، تکثیر و تمایز سلول‌های سرطانی در پستان شود. هم‌چنین آنها گزارش داده‌اند که بیان بیش از حد *SMC4* مسیر JAK2/Stat3 و TGFβ/Smad را فعال کرده و باعث تحریک سلول‌های سرطانی می‌شود (۱۱).

پروتئین *SMC4* احتمالاً به دلیل تکثیر ژن *SMC4* در سطح رونویسی بوده است. *SMC4* نقش مشخصی در تراکم و میتوز کروموزوم دارد و برای پیشرفت طبیعی فاز S مورد نیاز است، که نشان‌دهنده نقش قبلاً شناخته نشده *SMC4* در پیشرفت همزمان از G1 به فاز S است (۲۳).

Feng XD و همکارانش طی تحقیقاتی به اثر ژن *SMC4* بر سرطان روده بزرگ پرداختند، آنها متوجه شدند که بیان *SMC4* در بافت‌های سرطان روده بزرگ در مقایسه با بافت‌های طبیعی مجاور آن به طور قابل توجهی افزایش می‌یابد و خاموش کردن ژن *SMC4* باعث سرطان‌زایی، مهاجرت و حمله می‌شود. هم‌چنین افزایش بیان *SMC4* در هر دو سطح رونویسی و پس از رونویسی بوده است (۴). Zhao SG و همکارانش با خاموش کردن ژن *SMC4* به طور قابل توجهی با کاهش مهاجرت و/یا حمله در سرطان پروستات مواجه شدند (۲۲). Ma RM و همکارانش نشان دادند که بیان رونوشت از ژن *SMC4* در سلول‌های سرطانی می‌تواند باعث افزایش حساسیت به تراکم کروماتین در ابتدای میتوز شده و باعث افزایش میزان مهاجم، تکثیر و تمایز سلول‌های سرطانی در پستان شود. هم‌چنین آنها گزارش داده‌اند که بیان بیش از حد *SMC4* مسیر JAK2/Stat3 و TGFβ/Smad را فعال کرده و باعث تحریک سلول‌های سرطانی می‌شود (۱۱).

در مطالعه حال حاضر از نظر آماری ما به بررسی ارتباط بین بیان ژن *SMC4* در بافت بیماران GBM با فاکتورهای سن و جنس نیز پرداخته‌ایم. از نظر جنسیت شاهد بیان بیشتر ژن *SMC4* در مردان نسبت به زنان بوده‌ایم و از نظر سن تفاوت زیادی در بین نمونه‌های بالای ۵۰ سال و کمتر از ۵۰ سال مشاهده نکرده‌ایم. از این جهت ارتباط معناداری بین بیان ژن *SMC4* و سن ( $p < 0/2270$ ) و هم‌چنین جنسیت

#### نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج می‌توان بیان کرد که ژن *SMC4* می‌تواند بررسی بیشتری شود تا شاید بتواند به عنوان یک بیومارکر پیشنهادی برای تشخیص سرطان GBM استفاده شود. بنابراین می‌توان ارزیابی میزان بیان این ژن را برای تشخیص ابتلا به سرطان GBM مورد استفاده قرار داد. به هر حال مطالعه‌های بیشتری نسبت به روش‌های کاربردی در تشخیص سرطان که دارای خطاهای زیادی نسبت به تکنیکی که در این مطالعه استفاده شده، الزام است تا بتوان دقت و صحت این بیومارکر را به عنوان یکی از فاکتورهای موثر در تشخیص سرطان، برای پیش‌بینی سرطان GBM استفاده کرد.

prognosis in colorectal cancer via targeting of SMC 4. *Cancer Medicine*, 3(6): 1544-1552.

8. Kanehisa M., Goto S. 2000. KEGG: kyoto encyclopedia of genes and genomes. *Nucleic Acids Research*, 28(1): 27-30.

9. Kavsan V., Shostak K., Dmitrenko V., Zozulya Y., Rozumenko V., Demotes-Mainard J. 2005. Characterization of genes with increased expression in human glioblastomas. *Tsitologiya i Genetika*, 39(6): 37-49.

10. Kheiri Manjili H., Ma'mani L., Tavaddod S., Mashhadikhan M., Shafiee A., Naderi-Manesh H. 2016. L-sulforaphane loaded Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@ gold core shell nanoparticles: a potential sulforaphane delivery system. *PLoS one*, 11(3): e0151344.

11. Ma R.M., Yang F., Huang D.P., Zheng M., Wang Y.L. 2019. The prognostic value of the expression of SMC4 mRNA in breast cancer. *Disease Markers*, 2019:2183057

12. Mehrazin M., Rahmat H., Yavari P. 2006. Epidemiology of primary intracranial tumors in Iran, 1978-2003. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 7(2): 283.

13. Monfared H., Jahangard Y., Nikkhah M., Mirnajafi-Zadeh J., Mowla S.J. 2019. Potential therapeutic effects of exosomes packed with a miR-21-sponge construct in a rat model of glioblastoma. *Frontiers in Oncology*, 9: 782.

14. Ostrom Q.T., Gittleman H., Fulop J., Liu M., Blanda R., Kromer C., Wolinsky Y., Kruchko C., Barnholtz-Sloan J.S. 2015. CBTRUS statistical report: primary brain and central nervous system tumors diagnosed in the United States in 2008-2012. *Neuro-oncology*, 17(suppl-4): iv1-62.

15. Roesler R., Brunetto A.T., Abujamra A.L., de Farias C.B., Brunetto A.L., Schwartzmann G. 2010. Current and emerging molecular targets in glioma. *Expert Review of Anticancer Therapy*, 10(11): 1735-1751.

## تشکر و قدردانی

بدینوسیله از دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان و دانشگاه علوم پزشکی زنجان و تمامی بیمارانی که نمونه خود را در اختیار این مطالعه قرار داده اند کمال تشکر را داریم.

## منابع

1. Alimohamadi S.M., Ghodsi S.M., Ketabchi S.E. 2008. Epidemiologic patterns of primary brain tumors in Iran. *Asian Pac Journal of Cancer Preview*, 9(2): 361-372.

2. Butowski N.A., Sneed P.K., Chang S.M. 2006. Diagnosis and treatment of recurrent high-grade astrocytoma. *Journal of clinical oncology*. 24(8): 1273-1280.

3. Calabrese C., Poppleton H., Kocak Fuller C., Hamner B., Oh EY., Gaber MW., Finklestein D., Allen M., Frank A. 2007. A perivascular niche for brain tumor stem cells. *Cancer cell*. 11(1): 69-82.

4. Feng X.D., Song Q., Li C.W., Chen J., Tang H.M., Peg Z.H., Wang X.C. 2014. Structural maintenance of chromosomes 4 is a predictor of survival and a novel therapeutic target in colorectal cancer. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 15(21): 9459-9465.

5. Gabayan AJ., Green SB., Sanan A., Jenrette J., Schultz C., Papagikos M., Tatter SP., Patel A., Amin P., Lustig R., Bastin KT. 2006. GliSite brachytherapy for treatment of recurrent malignant gliomas: a retrospective multi-institutional analysis. *Neurosurgery*, 58(4): 701-709.

6. Jiang L., Zhou J., Zhong D., Zhou Y., Zhang W., Wu W., Zhao Z., Wang W., Xu W., He L., Ma Y. 2017. Overexpression of SMC4 activates TGF $\beta$ /Smad signaling and promotes aggressive phenotype in glioma cells. *Oncogenesis*, 6(3): e301-.

7. Jinushi T., Shibayama Y., Kinoshita I., Oizumi S., Jinushi M., Aota T., Takahashi T., Horita S., Dosaka-Akita H., Iseki K. 2014. Low expression levels of micro RNA-124-5p correlated with poor

- cells induce immunosuppressive macrophages/microglia. *Neuro-oncology*, 12(11): 1113-1125.
22. Zhao S.G., Evans J.R., Kothari V., Sun G., Larm A., Mondine V., Schaeffer E.M., Ross A.E., Klein E.A., Den R.B., Dicker A.P. 2016. The landscape of prognostic outlier genes in high-risk prostate cancer. *Clinical Cancer Research*, 22(7):1777-1786.
23. Zhou B., Chen H., Wei D., Kuang Y., Zhao X., Li G., Xie J., Chen P. 2014. A novel miR-219-SMC4-JAK2/Stat3 regulatory pathway in human hepatocellular carcinoma. *Journal of Experimental and Clinical Cancer*, 33(1): 55.
24. Zhou B., Yuan T., Liu M., Liu H., Xie J., Shen Y., Chen P. 2012. Overexpression of the structural maintenance of chromosome 4 protein is associated with tumor de-differentiation, advanced stage and vascular invasion of primary liver cancer. *Oncology Reports*, 28(4): 1263-1268.
25. Zhu T.S., Costello M.A., Talsma C.E., Flack C.G., Crowley J.G., Hamm L.L., He X., Hervey-Jumper S.L., Heth J.A., Muraszko K.M., DiMeco F. 2011. Endothelial cells create a stem cell niche in glioblastoma by providing NOTCH ligands that nurture self-renewal of cancer stem-like cells. *Cancer Research*, 71(18): 6061-6072.
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. Sciumè G., Santoni A., Bernardini G. 2010. Chemokines and glioma: invasion and more. *Journal of Neuroimmunology*, 224(1-2): 8-12.
18. See S.J., Gilbert M.R. 2004. Anaplastic astrocytoma: diagnosis, prognosis, and management. *In Seminars in Oncology*, 31(5): 618-634
19. Stupp R., Mason W.P., Van Den Bent M.J., Weller M., Fisher B., Taphoorn M.J., Belanger K., Brandes A.A., Marosi C., Bogdahn U., Curschmann J. 2005. Radiotherapy plus concomitant and adjuvant temozolomide for glioblastoma. *New England journal of Medicine*, 352(10): 987-996.
20. Waghmare I., Roebke A., Minata M., Kango-Singh M., Nakano I. 2014. Intercellular cooperation and competition in brain cancers: lessons from *Drosophila* and human studies. *Stem Cells Translational Medicine*. 3(11): 1262-1268.
21. Wu A., Wei J., Kong L.Y., Wang Y., Priebe W., Qiao W., Sawaya R., Heimberger A.B. 2010. Glioma cancer stem

