

Research Paper

Analysis of Thiosemi Carbazon Complexes Effects on UCA1 IncRNA and AKT Target, Gene Expression Alternations, Regulating PI3K / AKT Signaling Pathway in Jurkat E6.1 Acute Lympholastic Leukemia Cell Line



Faranak Daneshi¹, Fatemeh Ghorbani¹, *Golnaz Asaadi Tehrani¹, Azadeh Mirzaahmadi²

1. Department of Genetics, Faculty of Basic Sciences, Islamic Azad University, Zanjan Branch, Zanjan, Iran.
2. Department of Inorganic Chemistry, Faculty of Chemistry, University of Tabriz, Tabriz, Iran.



Citation Daneshi F, Ghorbani F, Asaadi Tehrani G, Mirzaahmadi A. [Analysis of Thiosemi Carbazon Complexes Effects on UCA1 IncRNA and AKT Target, Gene Expression Alternations, Regulating PI3K / AKT Signaling Pathway in Jurkat E6.1 Acute Lympholastic Leukemia Cell Line (Persian)]. Jundishapur Scientific Medical Journal. 2021; 20(5):424-435. <https://doi.org/10.32598/JSMJ.20.5.2194>

doi <https://doi.org/10.32598/JSMJ.20.5.2194>



Received: 25 Mar 2021
Accepted: 02 Jun 2021
Available Online: 01 Dec 2021

ABSTRACT

Background and Objectives Leukemia usually begins in the bone marrow and leads to the production of a large number of abnormal white blood cells. The goal of this study was to investigate changes on UCA1 IncRNA and AKT target, gene expression alternations, regulating PI3K / AKT signaling pathway in Jurkat E6.1 Acute Lympholastic Leukemia cell line under treatment with thiosemicarbazone complexes (nickel). **Subjects and Methods** First, thiosemicarbazones complex Ni and 6MP was provided in different concentrations (0.5, 1, 2, 5 μ M) and (1, 5, 10, 25 μ M) and the Jurkat E.6.1 Cancer cells were treated with mentioned doses at (24-48-72 hours) after cell passage. Next RNA extraction and cDNA synthesis were performed and the expression of UCA1 and AKT gene were appraised by Real Time PCR. Finally, the results were analyzed by Rest Software.

Results UCA1 showed a significant decrease during 24 hours of treatment with 6mp at concentrations (1, 5, 10 and 25 μ M) ($P < 0.001$). In nickel, a significant decrease at 72 hours was observed at concentrations (2 and 5 μ M). In the AKT in treatment with 6mp at 24 hours at concentrations (5, 10 and 25 μ M) and all concentrations (1, 5, 10 and 25 μ M) at 72 hours showed a significant decrease ($P < 0.001$). In nickel at concentrations (0.5, 1, 2 and 5 μ M) at 24 hours decreased expression was observed. This decrease is not statistically significant at a concentration of 0.5 μ M. At concentrations (2 and 5 μ M) significant reductions at 48 and 72 hours were observed ($P < 0.001$).

Conclusion UCA1 and AKT expression changes after treatment with 6mp and nickel depend on drug timing and concentration. UCA1 in 6MP treatment at 25 μ M and 24 hours, in treatment with nickel at 5 μ M and 72 hours, AKT in 6mp treatment at 25 μ M and 72 hours, in treatment with nickel at 5 μ M and 24 hours, it had the highest effect on the cell due to gene expression.

Keywords:
UCA1, AKT, Leukemia, Thiosemi Carbazon (Nickel), 6MP

* **Corresponding Author:**

Golnaz Asaadi Tehrani

Address: Department of Genetics, Faculty of Basic Sciences, Islamic Azad University, Zanjan Branch, Zanjan, Iran.

Tel: +98 (912) 5706719

E-Mail: golnaz_asaadi@yahoo.com

مقاله پژوهشی

بررسی تغییرات بیان lncRNA UCA1 و ژن هدف AKT تنظیم کننده مسیر سیگنالی PI3K / AKT در رده سلولی لوسمی حاد لنفوبلاستیک Jurkat E6.1 تحت تیمار با کمپلکس های تیوسمی کاربازون

فرانک دانشی^۱، فاطمه قربانی^۱، گلناز اسعدی تهرانی^۱، آزاده میرزا احمدی^۲

۱. گروه ژنتیک، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد زنجان، زنجان، ایران.

۲. گروه شیمی معدنی، دانشکده شیمی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران.

چکیده

تاریخ دریافت: ۰۵ فروردین ۱۴۰۰

تاریخ پذیرش: ۱۲ خرداد ۱۴۰۰

تاریخ انتشار: ۱۰ آذر ۱۴۰۰

زمینه و هدف: لوسمی معمولاً از مغز استخوان شروع شده و به تولید تعداد زیادی سلول های سفید غیر طبیعی خون منجر می شود. هدف از این مطالعه بررسی تغییرات بیان UCA1 و ژن هدف AKT تنظیم کننده مسیر سیگنالی PI3K / AKT در رده سلولی لوسمی حاد لنفوبلاستیک Jurkat E6.1 تحت تیمار با کمپلکس های تیوسمی کاربازون (نیکل) است.

روش بررسی: داروی نیکل و GMP در غلظت های متفاوت ۵-۱۰-۲۰-۵۰-۱۰۰-۲۵۰ میکرومولار و ۱-۵-۱۰-۲۵ میکرومولار تهیه شد. سلول های سرطانی Jurkat E6.1 پس از پاساژ سلولی در زمان های مختلف (۲۴-۴۸-۷۲ ساعت) تحت تیمار با دارو قرار گرفتند. در ادامه، استخراج RNA و سنتز cDNA انجام شد و بیان UCA1 و ژن AKT توسط Real Time PCR ارزیابی شد. نتایج به دست آمده توسط نرم افزار بررسی بیان نسبی REST آنالیز آماری شدند.

یافته ها: UCA1 در زمان ۲۴ ساعت تیمار با 6mp در غلظت های ۱ و ۵ و ۱۰ و ۲۵ میکرومولار کاهش بیان معناداری ($P < 0.001$) نشان داد. در نیکل در غلظت های (۲ و ۵) میکرومولار زمان ۷۲ ساعت کاهش بیان معنادار مشاهده شد و در ژن AKT در تیمار با 6mp در ۲۴ ساعت در غلظت های ۵ و ۱۰ و ۲۵ میکرومولار و تمام غلظت های ۱ و ۵ و ۱۰ و ۲۵ میکرومولار زمان ۷۲ ساعت ($P < 0.001$) کاهش معنادار مشاهده شد. در نیکل نیز در غلظت های ۱/۵ و ۱ و ۲ و ۵ میکرومولار زمان ۲۴ ساعت کاهش بیان مشاهده شد که این کاهش در غلظت ۱/۵ میکرومولار از نظر آماری معنادار نیست. در غلظت های ۲ و ۵ میکرومولار زمان های ۴۸ و ۷۲ ساعت کاهش بیان معنادار ($P < 0.001$) مشاهده شد.

نتیجه گیری: تغییرات بیان UCA1 و AKT پس از تیمار با 6mp و نیکل به زمان و غلظت دارو وابسته است. UCA1 در تیمار با 6mp در غلظت ۲۵ میکرومولار زمان ۲۴ ساعت و در تیمار با نیکل در غلظت ۱/۵ میکرومولار زمان ۷۲ ساعت و AKT در تیمار با 6mp در غلظت ۲۵ میکرومولار زمان ۷۲ ساعت و در تیمار با نیکل در غلظت ۵ میکرومولار زمان ۲۴ ساعت بالاترین تأثیر بر سلول با توجه به بیان ژن داشته است.

کلیدواژه ها:

لوسمی حاد لنفوبلاستیک، کمپلکس های تیوسمی کاربازون، ۶ مریکاپتوپورین

مقدمه

لوسمی در کودکان از نوع لنفوبلاستی حاد است. در لوسمی مغز استخوان به صورت غیر عادی، مقدار بسیار زیادی سلول خونی تولید می کند که این سلول ها با دیگر سلول های بدن متفاوت بوده و درست عمل نمی کنند [۱، ۲].

این بیماری معمولاً میان سنین دو تا پنج سالگی بروز می کند [۳، ۴]. T-ALL بیماری ناشی از ناهنجاری های مولکولی است و بر سلول های بنیادی تولید کننده لنفوئید تأثیر دارد و در انکوژن زایی کلیدی و مسیرهای رشدی اختلال ایجاد می کند [۵-۷]. لوسمی پنجمین سرطان شایع در بین هر دو جنس است. طبق گزارش

بررسی تغییرات بیان lncRNA UCA1 و ژن هدف AKT تنظیم کننده مسیر سیگنالی PI3K/AKT در رده سلولی لوسمی حاد لنفوبلاستیک Jurkat E6.1 تحت تیمار با کمپلکس های تیوسمی کاربازون. لوسمی لنفوبلاستی حاد بیماری بدخیم مغز استخوان است که در آن پیش سازهای اولیه لنفوئید تکثیر و جایگزین سلول های طبیعی خون ساز مغز می شوند.

لوسمی، شایع ترین نوع سرطان کودکان است و سه چهارم موارد

* نویسنده مسئول:

گلناز اسعدی تهرانی

نشانی: زنجان، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد زنجان، دانشکده علوم پایه، گروه ژنتیک.

تلفن: ۰۶۷۱۹۰۵۷ (۹۱۲) ۹۸+

رایانامه: golnaz_asaadi@yahoo.com

سلولی داشته و نهایتاً به مهار آپوپتوز و افزایش تکثیر منجر می‌شود [۲۲].

داروهای مورد استفاده در درمان سرطان یا با خود DNA ترکیب می‌شوند و عمل آتی آن را برای تولید مثل مختل می‌کنند یا از سنتز پورین و پرمیدین که برای ساخته شدن DNA لازم است، جلوگیری می‌کنند، از جمله داروهای مورد استفاده در سرطان خون می‌توان به مرکاپتوپورین (6mp) و تیوسمی کاربازون اشاره کرد. مرکاپتوپورین (6mp) یک داروی شیمیایی است که به تنهایی یا همراه با سایر داروهای شیمی درمانی برای درمان لوسمی لنفوسیتی حاد (ALL) استفاده می‌شود. مرکاپتوپورین (6mp) در کلاس داروهای موسوم به آنتاگونیست‌های پورین قرار دارد و یک آنالوگ سمی از آدنین است که مانع از فعالیت RNA و سنتز پروتئین می‌شود و در توقف رشد سلول‌های سرطانی کاربرد دارد [۲۹].

تیوسمی کاربازون از عوامل ضدسرطان مؤثر هستند و از طریق مهار ریبونوکلوئید ردوکتاز به عنوان مهارکننده‌های قوی در سنتز DNA عمل می‌کنند [۳۰]. هدف از انجام این پروژه بررسی تغییرات بیان lncRNA UCA1 و ژن هدف AKT تنظیم‌کننده مسیر سیگنالی PI3K / AKT در رده سلولی لوسمی حاد لنفوبلاستیک 1-Jurkat E6 تحت تیمار با غلظت‌های متفاوت و غلظت‌های ۱، ۵، ۱۰، ۲۵ و ۵۰ ماکرومولار از کمپلکس تیوسمی کاربازون (نیکل) و غلظت‌های ۱، ۵، ۱۰، ۲۵ و ۵۰ ماکرومولار از داروی 6mp در زمان‌های متفاوت ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت و مقایسه آن‌ها نسبت به زمان، غلظت و نسبت به سلول‌های لنفوبلاستومای تیمارنشده با داروهای 6mp و Ni است.

روش بررسی

پژوهش کنونی از نوع مطالعه آزمایشگاهی (in vitro) از فروردین تا شهریور سال ۱۳۹۷ در مرکز علوم تحقیقات دانشگاه آزاد اسلامی زنجان انجام شده است. سلول‌های لوسمی لنفوبلاستیک حاد رده 1-Jurkat E6 انسانی از انستیتو پاستور ایران در پاساژ یک و تراکم $2 \times 10^5 \text{ cell/cm}^2$ 80 درصد خریداری شدند.

کشت و پاساژ سلول، شمارش سلول و تهیه غلظت‌های متفاوت از دارو: ابتدا سلول‌های لوسمی لنفوبلاستیک حاد رده 1-Jurkat E6 در محیط کشت Dulbecco's Modified Eagle's Me-90% (RPMI) که دارای FBS ۱۰ درصد بوده کشت داده شد و در آنکوباتور در دمای ۳۷°C حاوی دی‌اکسیدکربن ۵ درصد به مدت شش روز قرار داده شد و سه پاساژ، دو روز یکبار بر سلول‌ها اعمال شد و در هر پاساژ سلول‌ها وارد فلاسک با محیط کشت جدید شدند.

سپس سلول‌های پاساژ چهارم برای مراحل بعدی انتخاب شد،

سازمان بهداشت جهانی، لوسمی در سراسر جهان و ایران در حال افزایش بوده و طبق آمار سیستم ثبت سرطان در ایران لوسمی بین چهار سرطان کشنده در این کشور قرار دارد [۸].

رده سلولی Jurkat E6-1 توسط اشنايدر و همکارانش از خون محیطی پسری چهارده ساله گرفته شد. سلول‌های E6-1 پس از تحریک با استرهای فوربول یا لکتین یا آنتی‌بادی مونوکلونال علیه آنتی‌ژن T۳ مقادیر زیادی ۲-۱۱ تولید می‌کنند. هر دو نوع محرک برای القای تولید ۲-۱۱ لازم است [۹].

مسیرهای سیگنالی مختلفی در رشد و تکثیر سلول نقش دارند. [۱۰، ۱۱] مسیر سیگنالی PI3K / AKT در رشد و تکثیر سلول و کنترل متابولیسم در سلول‌های سالم و سرطانی دخالت دارد. اجزای این مسیر در بسیاری از انواع سرطان‌ها با افزایش عملکرد همراه بوده و این امر مهم‌ترین دلیل افزایش بقا و کاهش مرگ سلول‌های سرطانی است. از این رو، فعال شدن بیش از حد این مسیر در بدخیمی‌های انسان و پیشرفت سرطان نقش دارد. برخی از جهش‌های فعال‌کننده در PI3K / AKT نیز در تومورهای انسانی شایع هستند؛ بنابراین ممکن است رشد تومور را تقویت کنند. [۱۲-۱۶]

lncRNAها به عنوان RNAهای غیرکدکننده طولانی در طیف گسترده‌ای از فرایندهای مهم بیولوژیکی، از جمله رونویسی، ترجمه و آپوپتوز نقش مهمی دارند. [۱۷-۲۰] شاید آن‌ها پیشرفت سرطان و پیشرفت بسیاری از بیماری‌های انسانی را تنظیم کنند [۲۱]. lncRNA UCA1 دارای موقعیت 19p13.12 و دارای ۳ اگزون است. این ژن به نام‌های UCA1، LINC00178، UCAT1، CUDR، onco-lncRNA-36 و NCRNA00178 شناخته می‌شود [۲۲].

این ژن یک RNA بدون کدگذاری طولانی است که در سرطان نقش مهمی در تکثیر و تمایز سلولی دارد [۲۳]. lncRNA UCA1 عمدتاً در سیتوپلاسم واقع شده و با RNAهای بالغ یا پروتئین‌ها در تعامل است و آن‌ها را تنظیم می‌کند [۲۴]. UCA1 به‌طور گسترده در بافت‌های جنینی بیان شده و در بیشتر بافت‌های طبیعی بزرگسالان (به جز قلب و طحال) بیان نمی‌شود [۲۵]. در مسیر سیگنالی UCA1، PI3K / AKT، بیان p-PI3K و p-AKT۳ را افزایش داده و مسیر PI3K / AKT را به‌طور غیرطبیعی فعال می‌کند تا اثر آنکوژنیکی خود را اعمال کند [۲۶، ۲۷]. خاموش کردن UCA1 سطح بیان p-Akt را کاهش می‌دهد که می‌تواند حساسیت شیمیایی را افزایش دهد.

این یافته‌ها نشان داد که UCA1 ممکن است نقش اساسی در پیشرفت سرطان‌های مختلف داشته باشد [۲۸]. ژن AKT در جایگاه ۱۴q۳۲/۳۳ قرار داشته و ۱۴ اگزون دارد. این ژن به نام‌های AKT; PKB; RAC; CWS6; PRKBA; PKB-ALPHA; RAC-ALPHA خوانده می‌شود. AKT نقش کلیدی در فرایندهای سلولی مختلف، از جمله بقای سلولی، رشد، متابولیسم و مهاجرت

در شرکت ژن فن آواران در یک جهت مستقیم، تعیین توالی شده و مورد تأیید قرار گرفت. پس از واکنش تفاوت Ct ژن هدف به ژن رفرنس به صورت برای هر نمونه محاسبه شد. سپس برای هر نمونه به دست آمد (در جداول شماره ۲ و ۳ آورده شده است). برای بررسی بیان ژن‌های UCA1 و AKT، توسط روش Real time PCR روش لیواک (Livak Method) [۳۱] و برنامه Rest (۲۰۰۹) استفاده شد. $P < 0.05$ به عنوان سطح معنادار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

با توجه به مقایسه ژن مرجع در گروه‌های تیمار و مشاهده محاسبه ضریب همبستگی و انحراف معیار که یکسان بودن اعداد $ct2-$ و Ratio را نشان داد، حاکی از عدم تأثیرپذیری ژن مرجع از دارو بود.

تغییرات بیان ژن UCA1 در زمان‌های متفاوت تیمار داروی 6mp

در بررسی تغییرات بیان ژن UCA1 در تیمار با داروی 6mp زمان ۲۴ ساعت یافته‌ها نشان دادند که پس از تیمار با دارو در غلظت‌های ۱، ۵ و ۱۰ و ۲۵ ماکرومولار زمان ۲۴ ساعت، کاهش بیان داشتیم که این کاهش به صورت معنادار (۰/۰۱) $P < 0$ مشاهده شد و این کاهش در غلظت‌های ۱ (۰/۸۸۲)، ۵ (۰/۴۹۹)، ۱۰ (۰/۲۴۷) و ۲۵ ماکرومولار (۰/۱۶۴) است. در زمان ۴۸ ساعت در همه غلظت‌های (۱، ۵، ۱۰، ۲۵ ماکرومولار) از داروی 6MP در سلول‌های Jurkat E6-1 تغییرات بیان به صورت افزایش معنادار مشاهده شد و در مدت زمان ۷۲ ساعت طی آنالیزهای آماری بیان ژن UCA1 در سلول‌های این گروه نسبت به سلول‌های گروه کنترل پس از تیمار با داروی 6MP در تمام غلظت‌های ۱، ۵، ۱۰، ۲۵ ماکرومولار افزایش بیان ژن مشاهده شد که از نظر آماری معنادار بود (تصویر شماره ۱).

تغییرات بیان ژن UCA1 در غلظت‌های متفاوت تیمار داروی 6mp

بیان ژن UCA1 نسبت به ژن کنترل در غلظت ۱ ماکرومولار زمان ۲۴ ساعت کاهش بیان داشته که به صورت معنادار بوده و در زمان‌های ۴۸ و ۷۲ ساعت میزان بیان ژن نسبت به ژن کنترل به صورت معنادار افزایش یافته است. بیان ژن نسبت به ژن کنترل در غلظت ۵ ماکرومولار زمان ۲۴ ساعت به صورت کاهش معنادار مشاهده شد و در زمان‌های ۴۸ و ۷۲ ساعت میزان بیان ژن نسبت به کنترل افزایش بیان داشته که این افزایش به صورت معنادار بوده است. بیان ژن نسبت به ژن کنترل در غلظت ۱۰ ماکرومولار در ۲۴ ساعت کاهش یافته و از لحاظ آماری معنادار نیز بوده است و در زمان‌های ۴۸ و ۷۲ ساعت میزان بیان ژن نسبت به ژن کنترل افزایش بیان داشته که از نظر آماری به صورت معنادار

سلول‌ها تحت شمارش سلولی و رنگ‌آمیزی با تریپان بلو قرار گرفتند و تعداد سلول‌ها برابر با 3×10^4 cell/cm² تعیین شد. سلول‌ها به دو گروه کنترل و آزمایش تقسیم شدند. یک عدد قرص 6mp که معادل ۵۰ گرم بود را در ۱۰ سی‌سی آب مقطر حل کرده، برای Ni نیز ۰/۰۰۱ گرم از Ni را در ۱ سی‌سی آب حل کردیم. سپس بررسی دز مؤثر داروهای مورد استفاده (6mp) و تیوسمی کاربازون) توسط آزمون MTT تجزیه و تحلیل شد و گروه تیمار با غلظت‌های ۱، ۵، ۱۰، ۲۵ ماکرومولار از داروی 6mp تهیه شده در حلال H₂O و غلظت‌های ۱، ۲، ۵، ۰/۵ ماکرومولار از داروی Ni (تیوسمی کاربازون) تهیه شده در حلال H₂O در سه گروه زمانی ۲۴، ۴۸، ۷۲ ساعت استفاده شدند. سلول‌های کنترل نیز سلول‌هایی فاقد دارو بودند.

استخراج RNA، سنتز cDNA و Real Time PCR: سلول‌ها پس از گذراندن زمان‌های ذکر شده برای بررسی میزان بیان ژن، ابتدا استخراج RNA توسط High pure viral Nucleic Acid Kit Roche Diagnostics GmbH, Manheim, Germany (Cat#11858874001) و مطابق با دستور کار کیت انجام شد. با استفاده از کیت (Takara Bio, Otsu, Japan, Cat#RR037Q) و مطابق با دستور کار کیت گفته شده از روی RNA حاصله، cDNA ساخته شد. ترکیبات لازم جهت سنتز با حجم نهایی 20 μ l شامل: Primer script Buffer(1X) 10 μ l, RT enzyme 2 μ l, template RNA 5 μ g, DEPC-treated water ۲۰ ماکرولیتر است. محتویات به مدت ۱۰ دقیقه در ۲۵ درجه، ۶۰ دقیقه در ۴۷ درجه و سپس ۵ دقیقه در ۸۵ درجه قرار گرفتند.

با استفاده از دستگاه Rotor-Gene Q real-time PCR (cycler(Qiagen, Hilden, Germany) و به‌کارگیری دستور کار کیت Syber green (Takara Bio, Otsu, Japan, Cat # RR820Q)، ژن‌های UCA1 و AKT و GAPDH به عنوان ژن مرجع برای هر دو ژن در دستگاه قرار داده و تکثیر شد.

توالی پرایمرهای 3-5 استفاده شده برای تکثیر ژن‌های UCA1 و AKT، در جدول شماره ۱ آورده شده:

واکنش‌ها برای حجم ۲۵ μ l تنظیم شدند. ۱۲/۵ μ l مستر میکس سایبرگرین، ۱ μ l از هر یک از پرایمرهای رفت و برگشت، ۲ μ l از cDNA و ۸/۵ μ l از آب دوبار تقطیر را مخلوط کرده و در برنامه زمانی دناتوراسیون اولیه، در دمای ۹۵°C به مدت ده دقیقه و قطعات DNA در چهل سیکل (دناتوراسیون ۹۵°C پنج ثانیه، اتصال ۸/۸ سی ثانیه برای UCA1 و AKT، بسط و گسترش ۳۰°C، CY۲ تکثیر یافتند). (مراحل کار برای هر ژن سه مرتبه تکرار شد).

بررسی تأیید حضور ژن و آنالیز آماری: جهت تأیید حضور ژن از روش محصول PCR با الکتروفوروز روی ژل آگارز 2 درصد استفاده شده و طول قطعات برابر با 300pb مشاهده شد. سپس

kat E6، تغییرات بیان به صورت افزایش معنادار مشاهده شد و در مدت زمان ۷۲ ساعت در غلظت‌های ۰/۵ و ۱ ماکرومولار از داروی تیوسمی کاربازون، تغییرات بیان به صورت افزایش معنادار و در غلظت‌های ۲ (۰/۳۸۸) و ۵ ماکرومولار (۰/۱۸۰) کاهش بیان مشاهده شد که از نظر آماری معنادار (P<۰/۰۰۱) بود (تصویر شماره ۲).

تغییرات بیان ژن UCA1 در غلظت‌های متفاوت تیمار کمپلکس تیوسمی کاربازون نیکل: بیان ژن نسبت به ژن کنترل در غلظت ۰/۵ ماکرومولار زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت به صورت افزایش معنادار مشاهده شد. در غلظت ۱ ماکرومولار زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت نیز میزان بیان ژن نسبت به ژن کنترل افزایش معنادار داشته و بیان ژن در غلظت ۲ ماکرومولار در ۲۴ و ۴۸ ساعت افزایش یافته و در ۷۲ ساعت به صورت کاهش معنادار بوده است. بیان ژن نسبت به ژن کنترل، در غلظت ۵ ماکرومولار زمان‌های ۲۴ و ۴۸ ساعت افزایش معنادار داشته و در زمان ۷۲ ساعت میزان بیان ژن به صورت معنادار کاهش یافته است (تصویر شماره ۲).

تغییرات بیان ژن AKT در زمان‌های متفاوت تیمار با کمپلکس تیوسمی کاربازون نیکل: در مدت زمان ۲۴ ساعت و در غلظت‌های ۰/۵ ماکرومولار (۰/۷۳۳)، ۱ ماکرومولار (۰/۷۲۲)، ۲ ماکرومولار (۰/۴۰۷) و ۵ ماکرومولار (۰/۲۷۰) طی آنالیزهای آماری بیان ژن AKT، در سلول‌های این گروه نسبت به سلول‌های گروه کنترل پس از تیمار با داروی Ni به صورت معنادار کاهش یافته است. در مدت زمان ۴۸ ساعت در غلظت‌های ۰/۵ و ۱ ماکرومولار از داروی تیوسمی کاربازون تغییرات بیان به صورت افزایش معنادار و در غلظت‌های ۲ ماکرومولار (۰/۵۸۶) و ۵ ماکرومولار (۰/۳۷۰) بیان ژن به صورت معنادار کاهش یافته است.

تغییرات بیان ژن AKT در مدت زمان ۷۲ ساعت در غلظت‌های ۰/۵ و ۱ ماکرومولار بیان ژن به صورت افزایش معنادار و در غلظت‌های ۲ ماکرومولار (۰/۷۱۱) و ۵ ماکرومولار (۰/۴۵۰) طی آنالیزهای آماری بیان ژن AKT، در سلول‌های این گروه نسبت به سلول‌های گروه کنترل پس از تیمار با داروی Ni به صورت معنادار (P<۰/۰۰۱) کاهش یافته است (تصویر شماره ۲).

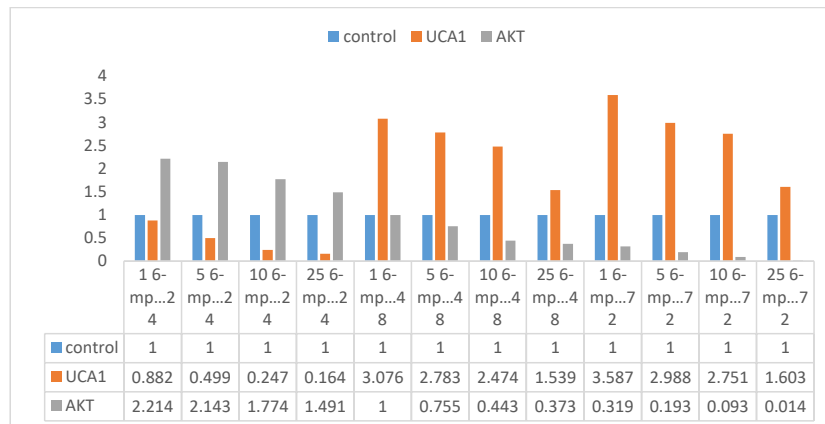
تغییرات بیان ژن AKT در غلظت‌های متفاوت تیمار با کمپلکس تیوسمی کاربازون نیکل: تغییرات غلظت ۰/۵ ماکرومولار دارو در زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت نشان داد که بیان ژن نسبت به ژن کنترل در غلظت ۰/۵ ماکرومولار زمان ۲۴ ساعت به صورت کاهش بیان معنادار بوده و در زمان‌های ۴۸ و ۷۲ ساعت میزان بیان ژن نسبت به ژن کنترل به صورت معنادار افزایش یافته است. بیان ژن نسبت به ژن کنترل، در غلظت ۱ ماکرومولار زمان ۲۴ ساعت به صورت کاهش معنادار مشاهده شد و در زمان‌های ۴۸ و ۷۲ ساعت میزان بیان ژن نسبت به کنترل افزایش بیان به صورت معنادار بوده است. تغییرات بیان ژن AKT در غلظت ۲

است. بیان ژن نسبت به ژن کنترل در غلظت ۲۵ ماکرومولار در زمان ۲۴ ساعت به صورت معنادار کاهش یافته و در زمان‌های ۴۸ و ۷۲ ساعت میزان بیان ژن نسبت به ژن کنترل به صورت معنادار افزایش یافته است (تصویر شماره ۱).

تغییرات بیان ژن AKT در زمان‌های متفاوت تیمار داروی 6MP: در بررسی تیمار داروی 6MP در رده سلولی 1-Jurkat E6 یافته‌ها نشان دادند که در مدت زمان ۲۴ ساعت و در همه غلظت‌های ۱، ۵، ۱۰ و ۲۵ ماکرومولار در سلول‌های این گروه نسبت به سلول‌های گروه کنترل پس از تیمار با دارو تغییرات بیان به صورت افزایش معنادار مشاهده شد. در مدت زمان ۴۸ ساعت در غلظت 1 μM از داروی 6mp تغییرات بیان به صورت افزایش معنادار بوده و در غلظت‌های ۵، ۱۰ و ۲۵ ماکرومولار زمان ۴۸ ساعت بیان ژن به صورت کاهش معنادار مشاهده شد و این کاهش در غلظت‌های ۵ ماکرومولار (۰/۷۵۵)، ۱۰ ماکرومولار (۰/۴۴۳) و 1 Jurkat E6-1 ۲۵ ماکرومولار (۰/۳۷۳) است. در مدت زمان ۷۲ ساعت در غلظت‌های ۱ ماکرومولار (۰/۳۱۹)، ۵ ماکرومولار (۰/۱۹۳)، ۱۰ ماکرومولار (۰/۰۹۳) و ۲۵ ماکرومولار (۰/۰۱۴) طی آنالیزهای آماری بیان ژن AKT در سلول‌های این گروه نسبت به سلول‌های گروه کنترل پس از تیمار با 6mp، به صورت معنادار (P<۰/۰۰۱) کاهش یافته است (تصویر شماره ۱).

تغییرات بیان ژن AKT در غلظت‌های متفاوت تیمار داروی 6mp: بیان ژن نسبت به ژن کنترل در غلظت ۱ ماکرومولار زمان‌های ۲۴ و ۴۸ ساعت به صورت افزایش بیان معنادار بوده و در زمان ۷۲ ساعت میزان بیان ژن نسبت به ژن کنترل به صورت معنادار کاهش یافته است. بیان ژن نسبت به ژن کنترل در غلظت ۵ ماکرومولار زمان ۲۴ ساعت به صورت افزایش معنادار مشاهده شد و در زمان‌های ۴۸ و ۷۲ ساعت میزان بیان ژن نسبت به کنترل کاهش بیان داشته که این کاهش از لحاظ آماری به صورت معنادار بوده است. بیان ژن نسبت به ژن کنترل در غلظت ۱۰ ماکرومولار در زمان ۲۴ ساعت افزایش بیان معنادار داشته و در زمان‌های ۴۸ و ۷۲ ساعت کاهش بیان داشته که این کاهش از لحاظ آماری نیز معنادار بوده است. بیان ژن AKT نسبت به ژن کنترل در غلظت ۲۵ ماکرومولار دارو در زمان ۲۴ ساعت به صورت معنادار افزایش یافته است و در زمان‌های ۴۸ و ۷۲ ساعت کاهش بیان داشته که این کاهش به صورت معنادار است (تصویر شماره ۱).

تغییرات بیان ژن UCA1 در زمان‌های متفاوت تیمار با کمپلکس تیوسمی کاربازون نیکل: در مدت زمان ۲۴ ساعت تیمار با داروی تیوسمی کاربازون طی آنالیزهای آماری بیان ژن UCA1، در سلول‌های این گروه نسبت به سلول‌های گروه کنترل پس از تیمار با دارو در تمام غلظت‌ها بیان ژن به صورت معنادار افزایش یافته است. در مدت زمان ۴۸ ساعت نیز در تمام غلظت‌های ۰/۵، ۱، ۲، ۵ ماکرومولار از داروی تیوسمی کاربازون در سلول‌های 1-Jur-



مجله علمی پزشکی
جندی شاپور

تصویر ۱. نمودار ستونی تغییرات به دست آمده از سنجش بیان ژن های UCA1 و AKT و ژن مرجع GAPDH تحت تیمار با داروی 6Mp

از نظر آماری معنادار بود.

در بررسی تغییرات بیان ژن های UCA1 و AKT تحت تیمار با داروی تیوسمی کاربازون (NI) در آنالیز زمان ثابت در تمام زمان های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت افزایش بیان مشاهده شد که از نظر آماری معنادار نبود و در آنالیز غلظت ثابت در غلظت های ۰/۵، ۱ و ۲ ماکرومولار نیز افزایش بیان مشاهده شد که از لحاظ آماری معنادار نبود و در غلظت ۵ ماکرومولار (۰/۵۹۹) کاهش بیان داشتیم که از لحاظ آماری معنادار بود.

بحث

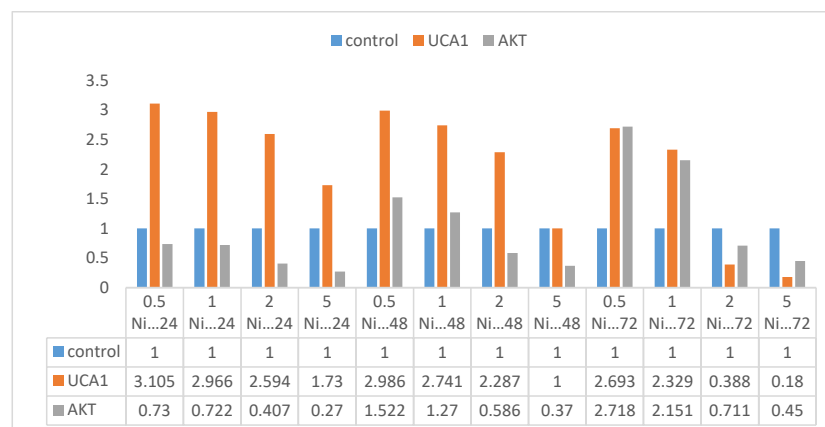
در مطالعه فوق داروی 6mp تأثیر بیشتری بر ژن UCA1 داشته و در ژن AKT تیوسمی کاربازون تأثیر بالایی روی بیان ژن ایفا می کند و همچنین ژن UCA1 روی ژن هدف AKT تأثیر داشته و در سرطان با فعال سازی این ژن سبب تکثیر و پیشروی لوسمی می شود. پس از تیمار با داروهای تیوسمی کاربازون و 6mp بیان ژن های مورد بررسی کاهش یافته و سرطان مهار می شود.

طبق مطالعه زهنو بییان و همکاران در جهت بررسی نقش

ماکرومولار در تمام زمان های ۲۴ و ۴۸ و ۷۲ ساعت به صورت کاهش معنادار مشاهده شد و بیان ژن نسبت به ژن کنترل در غلظت ۵ ماکرومولار نیز در زمان های ۲۴ و ۴۸ و ۷۲ ساعت میزان بیان ژن نسبت به ژن کنترل به صورت معنادار کاهش یافته است (تصویر شماره ۲).

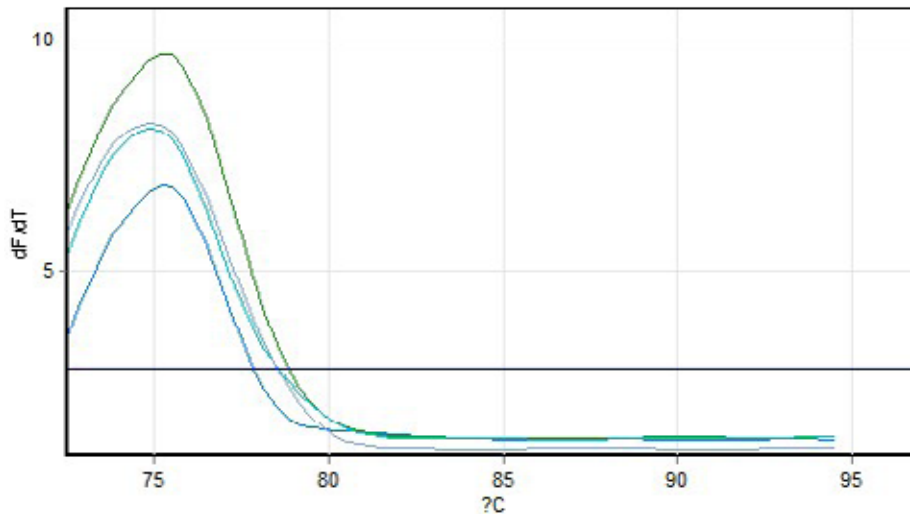
بررسی هم زمان تغییرات بیان ژن های UCA1 و AKT تحت تیمار با داروی 6mp و کمپکس های تیوسمی کاربازون نیکل:

در آنالیز زمان ثابت در زمان های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت طی بررسی تغییرات بیان ژن های UCA1 و AKT تحت تیمار با داروی 6mp در زمان ۲۴ ساعت افزایش بیان مشاهده شد که از نظر آماری معنادار بود و در زمان های ۴۸ ساعت (۰/۹۰۶) و ۷۲ ساعت (۰/۴۰۱) طی آنالیزهای آماری بررسی تغییرات بیان ژن های UCA1 و AKT کاهش بیان معنادار مشاهده شد و در بررسی تغییرات بیان ژن های UCA1 و AKT تحت تیمار با داروی 6mp در آنالیز غلظت ثابت در غلظت های ۱ و ۵ ماکرومولار افزایش بیان معنادار مشاهده شد و در غلظت های ۱۰ ماکرومولار (۰/۳۶۳) و ۲۵ ماکرومولار (۰/۱۷۲) کاهش بیان مشاهده شد که



مجله علمی پزشکی
جندی شاپور

تصویر ۲. نمودار ستونی تغییرات به دست آمده از سنجش بیان ژن های UCA1 و AKT و ژن مرجع GAPDH تحت تیمار با داروی Ni



مجله علمی پزشکی
جندی شاپور

تصویر ۳. منحنی ذوب ژن UCA1 و ژن مرجع GAPDH در غلظت (۵-۲-۱-۰/۵) ماکرومولار از داروی NI در زمان ۲۴ ساعت

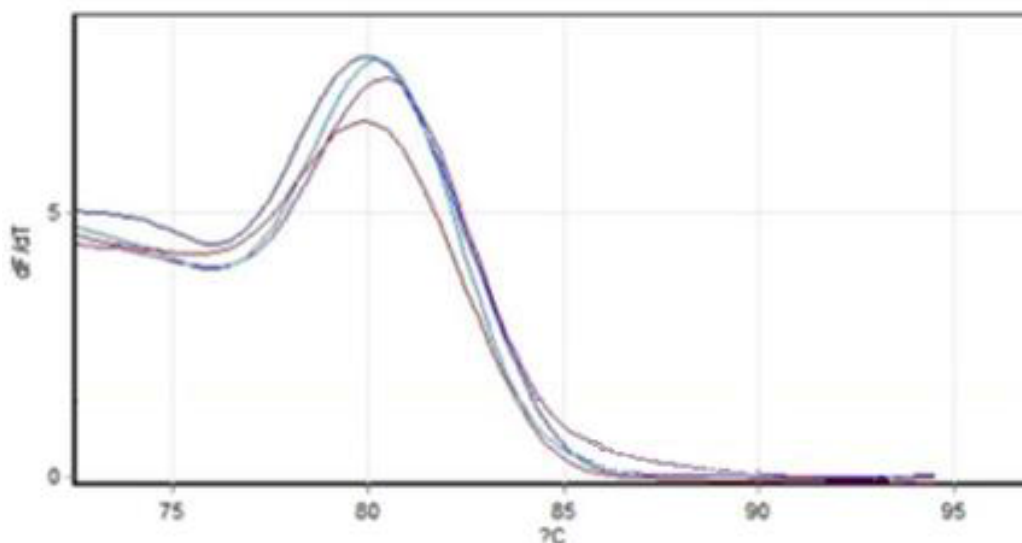
(miRNAها)، فعال کردن چندین مسیر سیگنالی مهم، تغییر تنظیمات اپیژنتیک و رونویسی ترویج می‌کند. در پژوهش کنونی نیز UCA1 به عنوان یک انکوژن عمل کرده و میزان بیان آن در لوسمی به شدت افزایش یافته و اپوپتوز را کاهش داده و با تکثیر سلولی باعث پیشبرد سرطان می‌شود. همچنین به عنوان یک نشانگر تشخیصی برای سرطان خون تلقی می‌شود، بیان این ژن پس از تیمار با داروهای 6mp و تیوسمی کاربازون کاهش می‌یابد و تکثیر سلولی مهار می‌شود [۳۲].

دو و لا^۱ تحقیقاتی در رابطه با بررسی نقش بالقوه سیگنالینگ AKT در بیماری‌های مزمن کلیوی انجام دادند. بنا به گزارش‌های

1. Lan & Du

و سازوکارهای UCA1 در CRC ژن UCA1 در کاهش اپوپتوز و پیشرفت تومور نقش دارد. این مطالعه نشان داد که UCA1 انکوژن جدید بوده و در سرطانی شدن سلول ایفای نقش می‌کند. گانگ و همکاران نیز تحقیقاتی روی ژن UCA1 در سرطان معده انجام دادند. طبق نتایج آن‌ها UCA1 در بافت‌های سرطانی معده به طرز شگرفی افزایش یافته و به‌طور قابل توجهی با متاستاز عده لنفاوی همراه است. همچنین سطح بیان ZEB2 که یک فاکتور رونویسی مربوط به متاستاز تومور است نیز توسط UCA1 تنظیم می‌شود.

در مطالعه‌ای که توسط یائو روی سرطان مثانه انجام شد نیز UCA1 در سرطان‌های مختلف افزایش بیان داشته و تومورزایی را عمدتاً از طریق اتصال به میکرو RNAهای سرکوبگر تومور



مجله علمی پزشکی
جندی شاپور

تصویر ۴. منحنی ذوب ژن AKT و ژن مرجع GAPDH در غلظت (۵-۲-۱-۰/۵) ماکرومولار از داروی NI در زمان ۲۴ ساعت

جدول ۱. توالی پرایمرهای ۳-۵ استفاده شده برای تکثیر ژن های UCA1، AKT و GAPDH

| Primer name | Sequence | Tm °C | Dissolve in for 100µM |
|-------------|-------------------------------|-------|-----------------------|
| GAPDH | F: ACC ACA GTC CAT GCC ATC AC | ۵۲/۸ | ۲۸۸ |
| | R: TCC ACC ACC CTG TTG CTG TA | ۵۲/۸ | ۳۲۰ |
| UCA1 | F: ACT TGA AGC AGT CCG GAG AA | ۵۱/۸ | ۲۱۵ |
| | R: GGT CAC AGG GGT TAC AAT GG | ۵۲/۸ | ۳۲۰ |
| AKT | F: TCT ATG GCG CTG AGT TTG TG | ۵۱/۸ | ۳۳۳ |
| | R: CTT AAT GTG CCC GTC CTT GT | ۵۱/۸ | ۳۲۰ |

جندی شاپور

آن‌ها خانواده AKT نقش مهمی در تنظیم رشد، تکثیر، بقا، متابولیسم و دیگر فعالیت‌های سلولی بازی می‌کنند و فعال‌سازی AKT یک نقطه مهم در سرطانی شدن سلول و ایجاد تومور به حساب می‌آید [۳۳].

ریواتیدوی^۲ نیز به بررسی ژن AKT در سرطان پرداخت. طبق این مطالعه AKT را می‌توان با طیف گسترده‌ای از سیگنال‌های رشد فعال کرد. پس از فعال‌سازی، این ژن عملکرد بسیاری از پروتئین‌های پایین دست در گیر در بقای سلولی، تکثیر، مهاجرت، متابولیسم و آنژیوژنز را تنظیم می‌کند و این ژن در سرطان‌های انسانی تنظیم می‌شود [۳۴].

در پژوهش کنونی نیز AKT در توالی‌های مختلف سیگنالینگ درگیر در لوسمی دخیل بوده و با افزایش بیان سلول را به سمت سرطانی شدن پیش می‌برد و فعالیت آن پس از تیمار با مهارکننده‌های مورد استفاده در تحقیق مانند تیوسمی کاربازون 6mp کاهش یافته و سرطان مهار می‌شود [۳۵].

ریواتیدوی^۲ نیز به بررسی ژن AKT در سرطان پرداخت. طبق این مطالعه AKT را می‌توان با طیف گسترده‌ای از سیگنال‌های رشد فعال کرد. پس از فعال‌سازی، این ژن عملکرد بسیاری از پروتئین‌های پایین دست در گیر در بقای سلولی، تکثیر، مهاجرت، متابولیسم و آنژیوژنز را تنظیم می‌کند و این ژن در سرطان‌های انسانی تنظیم می‌شود [۳۴].

ریس و همکاران با اجرای تست MTT، روی کمپلکس‌های

2. Revathidevi

3. Song

جدول ۲. Fold Change ژن های UCA1 و AKT در تیمار با داروی 6mp

| داروی 6mp | CONTROL | UCA1 | AKT |
|-------------|---------|-------|-------|
| 1 6mp...24 | ۱ | ۰/۸۸۲ | ۲/۲۱۴ |
| 5 6mp...24 | ۱ | ۰/۴۹۹ | ۲/۱۴۳ |
| 10 6mp...24 | ۱ | ۰/۲۴۷ | ۱/۷۷۴ |
| 25 6mp...24 | ۱ | ۰/۱۶۴ | ۱/۴۹۱ |
| 1 6mp...48 | ۱ | ۳/۰۷۶ | ۱ |
| 5 6mp...48 | ۱ | ۲/۷۸۳ | ۰/۷۵۵ |
| 10 6mp...48 | ۱ | ۲/۴۷۴ | ۰/۴۴۳ |
| 25 6mp...48 | ۱ | ۱/۵۳۹ | ۰/۳۷۳ |
| 1 6mp...72 | ۱ | ۳/۵۸۷ | ۰/۳۱۹ |
| 5 6mp...72 | ۱ | ۲/۹۸۸ | ۰/۱۹۳ |
| 10 6mp...72 | ۱ | ۲/۷۵۱ | ۰/۰۹۳ |
| 25 6mp...72 | ۱ | ۱/۶۰۳ | ۰/۰۱۴ |

جندی شاپور

جدول ۳. Fold Change ژن‌های UCA1 و AKT در تیمار با داروی Ni

| داروی Ni | CONTROL | UCA1 | AKT |
|-------------|---------|-------|-------|
| 0.5 Ni...24 | ۱ | ۳/۱۰۵ | ۰/۷۳ |
| 1 Ni...24 | ۱ | ۲/۹۶۶ | ۰/۷۲۲ |
| 2 Ni...24 | ۱ | ۲/۵۹۴ | ۰/۴۰۷ |
| 5 Ni...24 | ۱ | ۱/۷۳ | ۰/۲۷ |
| 0.5 Ni...48 | ۱ | ۲/۹۸۶ | ۱/۵۲۲ |
| 1 Ni...48 | ۱ | ۲/۷۴۱ | ۱/۲۷ |
| 2 Ni...48 | ۱ | ۲/۲۸۷ | ۰/۵۸۶ |
| 5 Ni...48 | ۱ | ۱ | ۰/۳۷ |
| 0.5 Ni...72 | ۱ | ۲/۶۹۳ | ۲/۷۱۸ |
| 1 Ni...72 | ۱ | ۲/۳۳۹ | ۲/۱۵۱ |
| 2 Ni...72 | ۱ | ۰/۳۸۸ | ۰/۷۱۱ |
| 5 Ni...72 | ۱ | ۰/۱۸ | ۰/۴۵ |

مجله علمی پزشکی

جندی شاپور

نیز با گذشت زمان و افزایش غلظت اثرکرد دارو افزایش یافته و بیشترین میزان تغییرات بیان در غلظت ۵ ماکرومولار زمان ۷۲ ساعت با میزان ۰/۱۸۰ مشاهده شد و در تیمار این دارو با ژن AKT افزایش غلظت تأثیر مثبتی روی بیان ژن داشته و بیشترین میزان کاهش بیان در غلظت ۵ ماکرومولار زمان ۲۴ ساعت با میزان ۰/۲۷ مشاهده شد و گذر زمان نتیجه مطلوبی روی بیان این ژن ندارد.

در بررسی هم‌زمان تغییرات بیان ژن‌های UCA1 و AKT تحت تیمار با داروی 6mp بیشترین میزان کاهش بیان ژن مربوط به ۷۲ ساعت از دارو با میزان ۰/۴۰۱ و در آنالیز غلظت ثابت بیشترین میزان کاهش بیان مربوط به غلظت ۲۵ ماکرومولار با میزان ۰/۱۷۲ است و در بررسی هم‌زمان تغییرات بیان ژن‌های UCA1 و AKT تحت تیمار با داروی Ni بیشترین میزان کاهش بیان ژن مربوط به غلظت ۵ ماکرومولار از دارو با میزان ۰/۵۹۹ است.

در مقایسه بررسی اثرکرد هر دو دارو، داروی 6mp اثرکرد بیشتری بر ژن UCA1 داشته و باعث کاهش بیان در تمام غلظت‌های این ژن در زمان ۲۴ ساعت می‌شود، اما داروی تیوسمی کاربازون تنها در دو غلظت از زمان ۷۲ ساعت باعث کاهش بیان این ژن می‌شود و در ژن AKT داروی تیوسمی کاربازون اثرکرد بیشتری در میزان بیان این ژن داشته و در هر سه زمان کاهش بیان ژن مشاهده شد، اما در تیمار با 6mp فقط در زمان‌های ۴۸ و ۷۲ ساعت اثرکرد ژن کاهش یافته و دارو در زمان ۲۴ ساعت

تیوسمی کاربازون روی لاین‌های سلولی لوسمی انسانی تحقیقاتی انجام دادند و میزان کشندگی این ترکیبات را بررسی کردند. این ترکیبات بر سلول‌های سرطانی نقش مهاری داشته و میزان کشندگی بالایی از خود نشان دادند. در تحقیق کنونی نیز ما با انجام تست MTT و یافتن دُز مؤثر داروی تیوسمی کاربازون و مرکاپتوپورین اثر کشندگی آن‌ها را روی سلول‌های لوسمی بررسی کردیم که این ترکیبات بیان سلول‌های ما را کاهش داده و میزان کشندگی بالایی از خود نشان دادند و میزان بیان ژن‌های UCA1 و AKT پس از تیمار با داروهای 6mp و تیوسمی کاربازون کاهش چشمگیری داشت [۳۶].

بر اساس یافته‌های حاصل از بررسی ارتباط بین تغییرات بیان lncRNA های UCA1 و AKT تحت تیمار با داروی 6mp در زمان‌های اثرکرد ۴۸ و ۷۲ ساعت و در غلظت‌های ۱۰ و ۲۵ μ M در تیمار با داروی تیوسمی کاربازون در غلظت ۵ μ M با یکدیگر در ارتباط هستند. در تیمار ژن UCA1 با داروی 6mp اثرکرد دارو در زمان ۲۴ ساعت بیشترین میزان کاهش بیان را ایجاد کرده و با گذر زمان اثرکرد دارو کاهش می‌یابد، اما افزایش غلظت تأثیر مثبتی روی بیان ژن داشته و بیشترین میزان کاهش بیان در غلظت ۲۵ ماکرومولار زمان ۲۴ ساعت با میزان ۰/۱۶۴ تأیید شد.

در تیمار ژن AKT با داروی 6mp اثرکرد دارو با گذر زمان و افزایش غلظت بیشتر شده و بیشترین میزان تغییرات بیان در زمان ۷۲ ساعت و غلظت ۲۵ ماکرومولار با میزان ۰/۱۴ مشاهده شد. در تیمار با داروی تیوسمی کاربازون در ژن UCA1

هیچ تأثیری روی بیان ژن ایجاد نمی‌کند.

نتیجه‌گیری

در بررسی دُز موثر داروهای مورد استفاده (6mp و تیوسمی کاربازون) توسط آزمون MTT گروه تیمار با غلظت‌های ۱، ۵، ۱۰، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ ماکرومولار از داروی 6mp و غلظت‌های ۱، ۲، ۵، ۱۰/۵ ماکرومولار از داروی Ni (تیوسمی کاربازون) تهیه شد. از نمونه CT‌های به‌دست‌آمده برای ژن UCA1 در تیمار با داروی 6mp در غلظت ۱ ماکرومولار می‌توان به ۲۶/۱-۲۶/۶-۲۷/۲ و در تیمار با داروی Ni در غلظت ۱/۵ ماکرومولار می‌توان به ۲۹/۱-۲۹/۷-۳۰/۲ اشاره کرد و در ژن AKT در تیمار با داروی 6mp در غلظت ۱ ماکرومولار ۳۰/۳-۳۱/۲-۳۱/۷ و در تیمار با داروی Ni در غلظت ۱/۵ ماکرومولار ۳۴/۱-۳۴/۶-۳۵/۳ به دست آمد. همچنین melte curve مربوط به هر یک از ژن‌ها در تصاویر شماره ۳ و ۴ آورده شده است.

ژن‌های UCA1 و AKT تحت تیمار با داروی 6mp در غلظت ۲۵ ماکرومولار بیشترین تأثیر را روی سلول‌ها نشان دادند، در نتیجه غلظت بهینه برای داروی 6mp غلظت ۲۵ ماکرومولار است و همچنین در تیمار با داروی 6mp در زمان ۷۲ ساعت نیز بیشترین تأثیر را روی سلول‌ها نشان دادند، در نتیجه زمان بهینه برای داروی 6mp زمان ۷۲ ساعت است. در تیمار با داروی تیوسمی کاربازون در غلظت ۵ ماکرومولار بیشترین تأثیر روی سلول‌های سرطان مشاهده شد، در نتیجه غلظت بهینه برای داروی تیوسمی کاربازون غلظت ۵ ماکرومولار است و طبق نتایج به‌دست‌آمده ژن‌های UCA1 و AKT با یکدیگر در ارتباط بوده و روی یکدیگر اثر متقابل ایفا می‌کنند.

طبق مطالعه فوق UCA1 و AKT به عنوان ژن‌های کلیدی در ایجاد سرطان خون دخیل بوده و پس از تیمار با داروهای تیوسمی کاربازون و 6mp میزان بیان این ژن‌ها در سلول سرطان خون کاهش می‌یابد و لوسمی مهار می‌شود.

موارد زیر جزو پیشنهادات تحقیق برای آینده هستند:

۱. بررسی ژن‌های UCA1 و AKT در سایر مسیرهای سیگنالی دخیل در سرطان خون؛
۲. بررسی ژن‌های UCA1 و AKT تحت تیمار با سایر داروهای شیمی درمانی؛
۳. بررسی سایر ژن‌های مسیر سیگنالی AKT / PI3K در سرطان خون؛

ملاحظات اخلاقی

پیروی از اصول اخلاق پژوهش

این تحقیق بر روی رده سلول‌های سرطانی لوسمی حاد لنفوبلاستیک تهیه‌شده از بانک سلولی انجام شده است و از هیچ‌گونه نمونه انسانی یا حیوانی زنده استفاده نشده است.

حامی مالی

این مقاله برگرفته از پایان‌نامه کارشناسی ارشد نویسنده اول در گروه ژنتیک، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد زنجان، زنجان است. همچنین این پژوهش با همکاری مرکز علوم تحقیقات دانشگاه آزاد اسلامی زنجان، انستیتو پاستور ایران و با حمایت دانشکده علوم دانشگاه آزاد اسلامی زنجان انجام شد.

مشارکت نویسندگان

مفهوم‌سازی، تحلیل، نظارت و مدیریت پروژه: گلناز اسعدی تهرانی؛ تحقیق و بررسی: گلناز اسعدی تهرانی، فرانک دانشی و آزاده میرزا احمدی؛ نگارش پیش‌نویس: فاطمه قربانی و فرانک دانشی؛ ویراستاری و نهایی‌سازی نوشته: گلناز اسعدی تهرانی.

تعارض منافع

بنابر اظهار نویسندگان این مقاله تعارض منافع ندارد.

References

- [1] Cooper SL, Brown PA. Treatment of pediatric acute lymphoblastic leukemia. *Pediatr Clin North Am.* 2015; 62(1):61-73. [DOI:10.1016/j.pcl.2014.09.006] [PMID] [PMCID]
- [2] Gaynon PS, Angiolillo AL, Carroll WL, Nachman JB, Trigg ME, Sather HN, et al. Long-term results of the children's cancer group studies for childhood acute lymphoblastic leukemia 1983–2002: A children's oncology group report. *Leukemia.* 2010; 24(2):285-97. [DOI:10.1038/leu.2009.262] [PMID] [PMCID]
- [3] Inaba H, Greaves M, Mullighan CG. Acute lymphoblastic leukaemia. *Lancet.* 2013; 381(9881):1943-55. [DOI:10.1016/S0140-6736(12)62187-4]
- [4] Vrooman LM, Silverman LB. Treatment of childhood acute lymphoblastic leukemia: Prognostic factors and clinical advances. *Curr Hematol Malig Rep.* 2016; 11(5):385-94. [DOI:10.1007/s11899-016-0337-y]
- [5] Bongiovanni D, Saccomani V, Piovani E. Aberrant signaling pathways in T-cell acute lymphoblastic leukemia. *Int J Mol Sci.* 2017; 18(9):1904. [DOI:10.3390/ijms18091904] [PMID] [PMCID]
- [6] Belver L, Ferrando A. The genetics and mechanisms of T cell acute lymphoblastic leukaemia. *Nat Rev Cancer.* 2016; 16(8):494-507. [DOI:10.1038/nrc.2016.63] [PMID]
- [7] Weng AP, Ferrando AA, Lee W, Morris JP, Silverman LB, Sanchez-Irizarry C, et al. Activating mutations of NOTCH1 in human T cell acute lymphoblastic leukemia. *Science.* 2004; 306(5694):269-71. [DOI:10.1126/science.1102160] [PMID]
- [8] Askari R, Ranjbar M, Nakhaeizadeh M, Sheikholeslami S, Sep-ehrifar S, Adhami M, et al. Survival rate of patients with acute leukemia in Iran: A systematic review and meta-analysis. *Evid Based Health Policy Manag and Econ.* 2018; 2(4):281-9. [DOI:10.18502/jebhpme.v2i4.280]
- [9] Berninghausen O, Leippe M. Necrosis versus apoptosis as the mechanism of target cell death induced by *Entamoeba histolytica*. *Infect Immun.* 1997; 65(9):3615-21. [DOI:10.1128/iai.65.9.3615-3621.1997] [PMID] [PMCID]
- [10] Lu M, Wang J, Ives HE, Pearce D. mSIN1 protein mediates SGK1 protein interaction with mTORC2 protein complex and is required for selective activation of the epithelial sodium channel. *J Biol Chem.* 2011; 286(35):30647-54. [DOI:10.1074/jbc.M111.257592] [PMID] [PMCID]
- [11] Micale MA. Pediatric T-cell acute lymphoblastic leukemia. *Atlas Genet Cytogenet Oncol Haematol.* 2018; (11). [DOI:10.4267/2042/68970]
- [12] Vivanco I, Sawyers CL. The phosphatidylinositol 3-kinase–AKT pathway in human cancer. *Nat Rev Cancer.* 2002; 2(7):489-501. [DOI:10.1038/nrc839] [PMID]
- [13] Osaki M, Oshimura MA, Ito H. PI3K-Akt pathway: Its functions and alterations in human cancer. *Apoptosis.* 2004; 9(6):667-76. [DOI:10.1023/B:APPT.0000045801.15585.dd] [PMID]
- [14] Hill MM, Hemmings BA. Inhibition of protein kinase B/Akt: Implications for cancer therapy. *Pharmacol Ther.* 2002; 93(2-3):243-51. [DOI:10.1016/S0163-7258(02)00193-6]
- [15] Nicholson KM, Anderson NG. The protein kinase B/Akt signalling pathway in human malignancy. *Cell Signal.* 2002; 14(5):381-95. [DOI:10.1016/S0898-6568(01)00271-6]
- [16] Shukla S, MacLennan GT, Hartman DJ, Fu P, Resnick MI, Gupta S. Activation of PI3K-Akt signaling pathway promotes prostate cancer cell invasion. *Int J Cancer.* 2007; 121(7):1424-32. [DOI:10.1002/ijc.22862] [PMID]
- [17] Ma L, Bajic VB, Zhang Z. On the classification of long non-coding RNAs. *RNA Biol.* 2013; 10(6):925-33. [DOI:10.4161/ma.24604] [PMID] [PMCID]
- [18] Clark MB, Mattick JS. Long noncoding RNAs in cell biology. *Semin Cell Dev Biol.* 2011; 22(4):366-76 [DOI:10.1016/j.semcdb.2011.01.001] [PMID]
- [19] Ponting CP, Oliver PL, Reik W. Evolution and functions of long noncoding RNAs. *Cell.* 2009; 136(4):629-41. [DOI:10.1016/j.cell.2009.02.006] [PMID]
- [20] Ransohoff JD, Wei Y, Khavari PA. The functions and unique features of long intergenic non-coding RNA. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2018; 19(3):143-57. [DOI:10.1038/nrm.2017.104] [PMID] [PMCID]
- [21] Wapinski O, Chang HY. Long noncoding RNAs and human disease. *Trends Cell Biol.* 2011; 21(6):354-61. [DOI:10.1016/j.tcb.2011.04.001] [PMID]
- [22] Edgar R, Domrachev M, Lash AE. Gene expression omnibus: NCBI gene expression and hybridization array data repository. *Nucleic Acids Res.* 2002; 30(1):207-10. [DOI:10.1093/nar/30.1.207] [PMID] [PMCID]
- [23] Huang J, Zhou N, Watabe K, Lu Z, Wu F, Xu M, et al. Long non-coding RNA UCA1 promotes breast tumor growth by suppression of p27 (Kip1). *Cell Death Dis.* 2014; 5(1):e1008. [DOI:10.1038/cddis.2013.541] [PMID] [PMCID]
- [24] Wang H, Guan Z, He K, Qian J, Cao J, Teng L. LncRNA UCA1 in anti-cancer drug resistance. *Oncotarget.* 2017; 8(38):64638-50. [DOI:10.18632/oncotarget.18344] [PMID] [PMCID]
- [25] Ke Z, Tang R, Tan J, Jiang Z, Liang Z, Feng S. [Clinical observation of clarithromycin treatment for nasosinusitis after nasopharyngeal carcinoma radiotherapy (Chinese)]. *Lin Chung Er Bi Yan Hou Tou Jing Wai Ke Za Zhi.* 2010; 24(7):299-300. [PMID]
- [26] Li C, Liang G, Yang S, Sui J, Yao W, Shen X, et al. Dysregulated lncRNA-UCA1 contributes to the progression of gastric cancer through regulation of the PI3K-Akt-mTOR signaling pathway. *Oncotarget.* 2017; 8(55):93476-91. [DOI:10.18632/oncotarget.19281] [PMID] [PMCID]
- [27] Qin L, Jia Z, Xie D, Liu Z. Retracted: Knockdown of long non-coding RNA urothelial carcinoma-associated 1 inhibits cell viability, migration, and invasion by regulating microRNA-182 in gastric carcinoma. *J Cell Biochem.* 2018; 119(12):10075-86. [DOI:10.1002/jcb.27344] [PMID]
- [28] Ghiam AF, Taeb S, Huang X, Huang V, Ray J, Scarcello S, et al. Long non-coding RNA urothelial carcinoma associated 1 (UCA1) mediates radiation response in prostate cancer. *Oncotarget.* 2017; 8(3):4668-89. [DOI:10.18632/oncotarget.13576] [PMID] [PMCID]

- [29] Marill JL, Miller N, Kitendaugh P. The MedlinePlus public user interface: Studies of design challenges and opportunities. *J Med Libr Assoc.* 2006; 94(1):30-40. [PMCID]
- [30] Sun J, Zhao R, Zeng J, Li G, Li X. Characterization of destrins with different dextrose equivalents. *Molecules.* 2010; 15(8):5162-73. [DOI:10.3390/molecules15085162] [PMID] [PMCID]
- [31] Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method. *Methods.* 2001; 25(4):402-8. [DOI:10.1006/meth.2001.1262] [PMID]
- [32] Yao F, Wang Q, Wu Q. The prognostic value and mechanisms of lncRNA UCA1 in human cancer. *Cancer Manag Res.* 2019; 11:7685-96. [DOI:10.2147/CMAR.S200436] [PMID] [PMCID]
- [33] Lan A, Du J. Potential role of Akt signaling in chronic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant.* 2015; 30(3):385-94. [DOI:10.1093/ndt/gfu196] [PMID]
- [34] Revathidevi S, Munirajan AK. Akt in cancer: Mediator and more. *Semin Cancer Biol.* 2019; 59:80-91. [DOI:10.1016/j.semcancer.2019.06.002] [PMID]
- [35] Song M, Bode AM, Dong Z, Lee MH. AKT as a therapeutic target for cancer. *Cancer Res.* 2019; 79(6):1019-31. [DOI:10.1158/0008-5472.CAN-18-2738] [PMID]
- [36] Reis DC, Pinto MC, Souza-Fagundes EM, Wardell SM, Wardell JL, Beraldo H. Antimony (III) complexes with 2-benzoylpyridine-derived thiosemicarbazones: Cytotoxicity against human leukemia cell lines. *Eur J Med Chem.* 2010; 45(9):3904-10. [DOI:10.1016/j.ejmech.2010.05.044] [PMID]