**Feyz Medical Sciences Journal**
**2024, Volume 28, Issue 2**
**Pages: 183-192**
Doi: 10.48307/FMSJ.2024.28.2.183
**Original Article**

# The expression level of miR-21, a target of the PTEN gene in the PI3K signaling pathway, in clinical samples of triple negative breast cancer

**Javad Razaviyan [1], Razie Hadavi [2], Melika Tafti [3], Samira Mohammadi-Yeganeh [4,5]***

[1] Department of Clinical Biochemistry, School of Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
[2] Department of Clinical Biochemistry, School of Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
[3] Department of Cellular and Molecular Biology, Tehran Medical Sciences Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
[4] Cellular and Molecular Biology Research Center, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
[5] Department of Medical Biotechnology, School of Advanced Technologies in Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

[*]**Corresponding author: Samira Mohammadi-Yeganeh**, Cellular and Molecular Biology Research Center, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran AND Department of Medical Biotechnology, School of Advanced Technologies in Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
**Email**: smyeganeh@gmail.com

**Received:** 11 March 2024 **Revised:** 20 May 2024 **Accepted:** 20 May 2024

## Abstract

**Background and Aim:** Triple negative breast cancer (TNBC) is an aggressive form of breast cancer, necessitating effective treatment methods. This study aimed to assess the expression level of miR-21, a target of the Phosphatase and tensin homolog (PTEN) gene in the PI3K signaling pathway, in clinical samples of TNBC.

**Methods**: Fifteen TNBC tumor samples and 15 adjacent normal tissue samples were obtained from the tumor bank of Imam Khomeini Hospital in Tehran, Iran. RNA extraction, cDNA synthesis, and Quantitative Real-Time PCR (qRT-PCR) analysis were conducted. Relative expression of PTEN and miR-21 was analyzed using REST 2009® software, and gene expression also evaluated using the UALCAN database. Additionally, ROC curve analysis was performed to assess the diagnostic value of miR-21 in TNBC.

**Results**: qRT-PCR analysis revealed a significant decrease in PTEN expression in most clinical samples (13 samples) by 4.6-fold, an increase in miR-21 target expression, and a decrease in miR-21 target expression by 6.8-fold in 10 samples and a decrease of 8.9-fold in 5 samples compared to normal tissue. These findings were supported by results from the UALCAN database. Furthermore, ROC curve analysis demonstrated the diagnostic potential of miR-21 in TNBC, with an area under the curve of 0.742.

**Conclusion**: The study suggests that miR-21 could serve as a promising candidate for inhibiting PTEN gene expression, potentially aiding in targeted treatment for TNBC. However, further research in this area is recommended.

**Keywords:** Triple-negative breast cancer, miR-21, *PTEN*

Copyright© 2024. This open-access article is published under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License which permits Share (copy and redistribute the material in any medium or format) and Adapt (remix, transform, and build upon the material) under the Attribution-NonCommercial terms. Downloaded from: http://feyz.kaums.ac.ir/

مجله علوم پزشکی فیض
دوره ۲۸، شماره ۲، خرداد و تیر ۱۴۰۳
صفحات: ۱۹۲-۱۸۳
Doi: 10.48307/FMSJ.2024.28.2.183
اصیل پژوهشی

# سنجش میزان بیان miR-21 به‌عنوان یک هدف گیرنده ژن *PTEN* در مسیر سیگنالینگ PI3K در نمونه‌های بالینی سرطان پستان سه‌گانه منفی

جواد رضویان[۱]، راضیه هادوی[۲]، ملیکا تفتی[۳]، سمیرا محمدی یگانه[۴،۵]*

[۱] گروه بیوشیمی بالینی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
[۲] گروه بیوشیمی بالینی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
[۳] گروه بیولوژی سلولی و مولکولی، واحد علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
[۴] مرکز تحقیقات بیولوژی سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
[۵] گروه بیوتکنولوژی پزشکی، دانشکده فناوریهای نوین پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

**دریافت مقاله:** ۱۴۰۲/۱۲/۲۱ **اصلاح مقاله:** ۱۴۰۳/۰۲/۳۱ **پذیرش مقاله:** ۱۴۰۳/۰۲/۳۱

## چکیده

**زمینه و هدف:** سرطان پستان سه‌گانه منفی (TNBC)، فرم بسیار تهاجمی سرطان پستان است که روش‌های درمانی موثر برای آن مورد نیاز است. یکی از روش‌های نوین، درمان هدفمند مبتنی بر miRNA می‌باشد. مطالعه حاضر با هدف سنجش میزان بیان miR-21 و ژن هدف آن در مسیر PI3K یعنی *PTEN* در نمونه‌های بالینی TNBC انجام شد.

**روش‌ها:** تعداد ۱۵ نمونه توموری TNBC و ۱۵ نمونه نرمال بافت اطراف تومور، از بانک تومور بیمارستان امام خمینی (ره) تهران دریافت شد. استخراج RNA، سنتز cDNA و آنالیز Quantitative Real-Time PCR بر روی نمونه‌ها انجام گرفت. از نرم‌افزار REST 2009® برای آنالیز بیان نسبی *PTEN* و miR-21 استفاده شد و از پایگاه UALCAN نیز به‌منظور ارزیابی میزان بیان ژن استفاده گردید. در نهایت، از آنالیز منحنی ROC به‌منظور ارزیابی دقت تشخیصی miR-21 در تشخیص TNBC استفاده شد.

**یافته‌ها:** آنالیز نتایج qRT-PCR نشان داد که در مقایسه با نمونه‌های نرمال، بیان *PTEN* در اکثر نمونه‌های بالینی (۱۳ نمونه) به میزان ۴/۶ برابر کاهش و miR-21 هدف گیرنده آن، در ۱۰ نمونه به میزان ۶/۸ برابر افزایش و در ۵ نمونه به میزان ۸/۹ برابر کاهش داشته است. نتایج به‌دست آمده از پایگاه UALCAN نیز این نتایج را تایید کرد. از طرفی، آنالیز منحنی ROC با سطح زیر نمودار معادل ۰/۷۴۲ نشان‌دهنده ارزش تشخیصی miR-21 در TNBC بود.

**نتیجه‌گیری:** miR-21 می‌تواند کاندید مناسبی در مهار بالقوه بیان ژن *PTEN* باشد، لذا ممکن است این ویژگی در درمان هدفمند TNBC مفید باشد. با این وجود انجام مطالعات بیشتر در این زمینه پیشنهاد می شود.

**کلیدواژه‌ها:** سرطان پستان سه‌گانه منفی، miR-21، *PTEN*

*نویسنده مسئول: **سمیرا محمدی یگانه**. پست الکترونیک: smyeganeh@gmail.com
آدرس: مرکز تحقیقات بیولوژی سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران و گروه بیوتکنولوژی پزشکی، دانشکده فناوریهای نوین پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

## مقدمه

سرطان پستان یکی از شایع‌ترین بدخیمی‌ها در جهان و عامل اصلی مرگ‌ومیر ناشی از سرطان در خانم ها است [۱]. میزان بقای ۵ ساله در سرطان پستان تهاجمی کمتر از ۳۰ درصد می‌باشد [۲] و با توجه به مطالعات انجام شده، سرطان پستان مسئول تقریباً ۶۸۵۰۰۰ مرگ در زنان در سراسر جهان بوده است [۳]. در ایران، سرطان پستان به عنوان شایع‌ترین سرطان و همچنین پنجمین عامل مرگ‌ومیر زنان ایرانی شناخته شده است و نرخ بروز استاندارد شده (SIR) حدود ۲۸ در هر صدهزار نفر است که در سال‌های اخیر نیز افزایش یافته است [۴].

سرطان پستان یک بیماری هتروژن است و با توجه به وضعیت گیرنده استروژن (ER)، گیرنده پروژسترون (PR) و گیرنده فاکتور رشد اپیدرمی انسانی ۲ (HER2) به سه زیرنوع اصلی طبقه‌بندی می‌شود: ER و/یا PR مثبت، HER2 مثبت و سرطان پستان سه گانه منفی (TNBC) [۵]. TNBC فرم بسیار تهاجمی سرطان پستان است و ۱۰ تا ۲۰ درصد از کل موارد سرطان پستان را شامل می‌شود. در مقایسه با سایر انواع سرطان پستان، بیماران مبتلا به TNBC بقای ۵ ساله کوتاه‌تری را با میزان مرگ‌ومیر ۴۰ درصد نشان داده‌اند [۶]. علی‌رغم پیشرفت‌هایی که در درمان سرطان صورت گرفته، مدیریت TNBC با توجه به توانایی بالای عود و متاستاز آن، به‌عنوان یک چالش اصلی مطرح بوده و شیمی‌درمانی تنها درمانی است که برای TNBC وجود دارد و دارای مشکلاتی نظیر مقاومت دارویی، سمیت سیستمیک و هدف‌پذیری پایین می‌باشد [۷]. بنابراین، شیوه‌های درمانی جدید، مؤثر و امکان‌پذیر برای درمان سرطان پستان موردنیاز است که یکی از این روش‌های در حال ظهور، درمان‌های هدفمند مبتنی بر miRNA ها می‌باشد.

miRNAها مولکول‌های RNA کوچک غیرکدکننده به طول ۱۹-۲۴ نوکلئوتید هستند که بیان ژن‌های کدکننده پروتئین را با تجزیه miRNA یا مهار ترجمه به شکل منفی تنظیم می‌کنند [۸]. بررسی‌ها نشان داده‌اند که برخی از انواع miRNA ها، می‌توانند به عنوان نشانگرهایی برای تشخیص، پیش‌آگهی یا درمان سرطان پستان مورد استفاده قرار گیرند [۹]. مشخص شده که بیان miRNA ها در سرطان پستان دچار اختلال می‌شود و به‌طور قابل‌ملاحظه‌ای افزایش یا کاهش می‌یابد [۱۰]. این تغییرات، موجب تغییر در پروفایل بیان miRNA ها در بافت‌های سرطانی پستان در مقایسه با بافت طبیعی آن می‌شود که با درجه تومور، مقاومت به درمان‌های هدفمند، و سایر ویژگی‌های مربوط به آسیب‌شناسی بیماری در ارتباط می‌باشند. از طرفی، مطالعات نشان داده‌اند که پروفایل بیان miRNA ها در بین زیرگروه‌های مختلف یک نوع سرطان نیز متفاوت می‌باشد. برای مثال زیرگروه TNBC از سرطان پستان نیز پروفایل بیانی خاصی از miRNA ها را نشان می‌دهد [۱۱،۱۲].

miRNA ها مسیرهای پیام‌رسانی مختلفی را درون سلول‌ها هدف قرار می‌دهند و بر بیان ژن‌های مرتبط با این مسیرها تأثیر می‌گذارند. یکی از این مسیرها، مسیر سیگنالینگ PI3K می‌باشد [۱۳]، که مسئول تکثیر سلولی، بقاء، متابولیسم و حرکت می‌باشد. مطالعات مختلف نشان داده‌اند که فعالیت این مسیر در نمونه‌های بالینی سرطان پستان افزایش می‌یابد و زیرگروه‌های مختلف سرطان پستان الگوهای متفاوتی از تغییرات مسیر PI3K را نشان می‌دهند [۱۴]. PTEN یک ژن سرکوب‌کننده تومور می‌باشد که با دفسفریله کردن فسفاتیدیل‌اینوزیتول-۳،۴،۵-تری‌فسفات (PIP3) به فسفاتیدیل‌اینوزیتول-۴و۵-بیس‌فسفات (PIP2)، مسیر سیگنالینگ PI3K را مهار می‌کند [۱۵]. عدم بیان/فقدان PTEN در تقریباً ۴۰ درصد از سرطان‌های پستان گزارش شده است و غیرفعال شدن آن معمولاً با پیامدهای بالینی نامطلوب و کاهش پاسخ به درمان‌های هدفمند همراه است [۱۴].

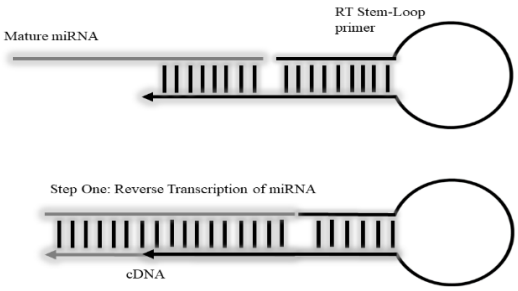
بنابراین از آنجائیکه miRNA ها از تنظیم‌کننده‌های کلیدی بیان ژن هستند، بر اساس جستجو در منابع و مطالعات بیوانفورماتیک، miR-21 به عنوان miRNA هدف گیرنده ژن PTEN در نظر گرفته شده است. بر همین اساس، هدف ما در این مطالعه بررسی میزان بیان ژن PTEN و miR-21 در نمونه‌های بالینی سرطان پستان سه‌گانه منفی و مقایسه آنها با نمونه‌های نرمال بود، به این امید که نتایج آن بتواند زمینه‌ای جهت ارتقاء درمان‌های هدفمند مبتنی بر miRNA ها فراهم نماید.

## روش‌ها

مطالعه حاضر یک پژوهش از نوع بنیادی- کاربردی می‌باشد که در بازه زمانی ۹۶-۱۳۹۴ اجرا گردید. نمونه‌گیری به روش تصادفی ساده و در دسترس انجام شد. بر اساس فرمول حجم نمونه و مطالعه مشابه [۱۶]، ۳۰ نمونه در دو گروه سلول‌های توده سرطانی و غیرسرطانی اطراف تومور (هر گروه ۱۵ نمونه) مورد بررسی قرار گرفت.

### طراحی پرایمر

توالی‌های کدکننده از GenBank، NCBI (www.ncbi.nih.nlm.gov) دریافت شد. سپس با استفاده از نرم‌افزار Allele ID 7.0 و Oligo7، بهترین توالی پیشنهادی برای پرایمرهای Forward و Reverse طراحی و انتخاب شدند. بررسی بیان miRNA ها به دلیل کوچک بودن طول توالی با پرایمرهای معمول امکان‌پذیر نبود. به همین علت، از ساختاری به نام Stem-loop (شکل-۱) در مرحله ساخت cDNA استفاده شد که بر اساس مطالعات منتشر شده قبلی، طراحی و مورد استفاده قرار گرفت [۱۷].




**شکل-۱.** ساختار Stem-loop به منظور ساخت cDNA جهت بررسی بیان miR-21 [۱۷]

**پرایمرهای طراحی شده برای ژن‌ها و miRNA ها**

برای ژن‌های *PTEN* و miR-21 و همچنین ژن‌های خانه نگه‌دار *HPRT*1 و SNORD47 طراحی پرایمر انجام شد و پرایمرهایی که احتمال کمتری برای ایجاد لوپ یا ساختارهای ثانویه داشتند انتخاب شدند که توالی مربوطه در جدول-۱ آمده است.

**جدول-۱.** توالی پرایمرها

| Gene Name | Forward Primer | Reverse Primer | Amplicon Length |
|---|---|---|---|
| PTEN | GACGAACTGGTGTAATGATATG | GTGCCACTGGTCTATAATCC | 192 bp |
| HPRT1 | CCTGGCGTCGTGATTAGTG | TCAGTCCTGTCCATAATTAGTCC | 125 bp |
| miR-21 | AGGAGGGTAGCTTATCAGACTG | GAGCAGTGTCCGACGT | 83 bp |
| SNORD 47 | ATCACTGTAAAACCGTTCCA | GAGCAGTGTCCGACGT | 82 bp |

**دریافت نمونه بافت‌های توموری و نرمال پستان از بانک تومور بیمارستان امام خمینی تهران**

تعداد ۱۵ نمونه توموری سرطان پستان (داکتال کارسینومای سه‌گانه منفی) و همچنین ۱۵ نمونه نرمال حاشیه تومور مربوط به همان بیمار از بانک تومور بیمارستان امام خمینی تهران دریافت شد. انتقال نمونه‌ها با استفاده از تانک نیتروژن انجام شد و نمونه‌ها تا زمان استفاده در محلول نگهدارنده RNA، (RNA Later Qiagen, Germany) و در فریزر ۷۰- °C ذخیره شدند. بر اساس مستندات میانگین سنی بیماران ۵۰/۳ سال بود و هیچ یک از بیماران مورد مطالعه از قبل تحت هیچ‌گونه درمانی اعم از جراحی، شیمی‌درمانی یا رادیوتراپی قرار نگرفته بودند. فرم کتبی رضایت آگاهانه نیز توسط مرکز نمونه‌گیری از تمامی بیماران اخذ شد. نتایج پاتولوژی و نتایج مربوط به گیرنده‌های ER، PR و HER2 نیز بررسی شد.

**استخراج RNA تام و سنتز cDNA**

استخراج RNA تام از نمونه‌های بالینی با استفاده از کیت تجاری GeneAll® Hybrid-R™ total RNA purification kit مطابق با پروتکل انجام شد. غلظت RNA استخراج شده با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر تعیین و نسبت جذب در طول موج ۲۶۰ به ۲۸۰ برای سنجش میزان خلوص RNA استخراج شده به دست آمد. با استفاده از آنزیم RevertAid Reverse transcriptase (Thermo scientific) و پرایمرهای random hexamer برای ژن و پرایمرهای RT Stem-loop برای miRNA، واکنش رونویسی معکوس و سنتز cDNA انجام شد. ژن‌های *HPRT*1 و SNORD 47 به‌عنوان ژن‌های خانه‌نگهدار، به ترتیب برای نرمال کردن بیان ژن و miRNA استفاده شد. برای چک کردن cDNAهای ساخته‌شده، واکنش PCR برای ژن خانه‌نگهدار انجام و در نهایت محصولات PCR روی ژل، الکتروفورز گردیدند.

**آنالیز Quantitative Real-Time PCR**

واکنش‌های Real- time PCR برای ژن‌ها به‌صورت سه‌تایی و با حجم نهایی ۱۳ میکرولیتر شامل، ۶/۵ µl RealQ Plus 2x Master Mix Green (Ampliqon, Denmark)، ۰/۵ µl از هر پرایمر Forward و Reverse (10 µM)، ۱ µl cDNA (رقیق شده با نسبت ۱/۳) و ۴/۵ µl $dH_2O$ (sterile distilled water) انجام شدند. پروفایل مراحل واکنش Real- time PCR برای ژن‌های هدف و خانه‌نگهدار به شرح زیر می‌باشد: مرحله Enzyme activation در ۹۵ °C به مدت ۱۵ دقیقه، سپس به دنبال آن ۴۰ سیکل در دو مرحله Denaturation در دمای ۹۵ °C به‌مدت ۱۵ ثانیه و Annealing and Extension در دمای ۶۰ °C به مدت ۱ دقیقه انجام شد. بلافاصله بعد از انجام سیکل‌های Amlification، برنامه Melting با افزایش ملایم دما از ۶۰ °C به دمای ۹۵ °C (۰/۲ °C برای هر دفعه افزایش حرارت) انجام و منحنی‌های ذوب بررسی شدند. در نهایت پس از خوانش طیف فلوروسانس نشریافته از SYBR Green، نتایج بصورت سیکل آستانه (Cycle Threshold Ct) گزارش شد و از برنامه REST 2009 (Relative Expression Software Tool) برای آنالیز نهایی نتایج استفاده گردید.

واکنش‌های Real- time PCR برای miRNA نیز به‌صورت سه‌تایی با حجم نهایی ۱۳ میکرولیتر شامل ۶/۵ µl RealQ Plus 2x Master Mix for Probe (Ampliqon, Denmark)، ۰/۴ پرایمر Forward و ۰/۴ µl Reverse Universal (10 µM)، ۰/۲ µl Taqman Probe، ۱ µl cDNA (رقیق شده با نسبت ۱/۳) و ۴/۵ µl $dH_2O$ انجام شدند. پروفایل مراحل واکنش

Real- time PCR برای ژن‌های هدف و خانه‌دار مربوط به miRNA به شرح زیر می‌باشد: مرحله Enzyme activation در دمای °C ۹۵ به مدت ۱۵ دقیقه، سپس به دنبال آن ۴۰ سیکل در دو مرحله Denaturation در دمای °C ۹۵ به‌مدت ۱۵ ثانیه و Annealing and Extension در دمای °C ۶۰ به‌مدت ۱ دقیقه انجام شد. در نهایت، نتایج بصورت سیکل آستانه ( Cycle Threshold Ct) گزارش شدند و از برنامه REST 2009 برای آنالیز نهایی نتایج استفاده گردید. در این نرم‌افزار، Ct به‌دست آمده برای ژن *PTEN* توسط Ct ژن خانه نگهدار *HPRT1* و Ct به‌دست آمده برای miRNA توسط Ct مربوط به SNORD47 نرمالیزه شدند. نتایج در نمونه‌های بالینی سرطانی نسبت به نمونه‌های نرمال پستان مقایسه شدند. در نهایت افزایش یا کاهش بیان ژن و miRNA مورد نظر به‌صورت تغییرات چندبرابری (Fold change) گزارش شدند.

**استفاده از دیتابیس UALCAN به منظور ارزیابی میزان بیان ژن و پروتئین PTEN و همچنین miR-21**

علاوه بر سنجش بیان ژن *PTEN* و miR-21 در نمونه‌های بالینی، میزان بیان miR-21 و همچنین mRNA و پروتئین PTEN در بین زیرگروه‌های مختلف سرطان پستان در نمونه‌های اطلس ژنوم انسان (TCGA) و Proteomix در دیتابیس UALCAN بررسی شدند.

UALCAN یک پورتال وب جامع، پرکاربرد و تعاملی برای آنالیز داده‌های OMICS سرطان است که آنالیز و ارائه داده‌های رونوشت و پروتئومیکس سرطان و همچنین بقای بیماران را امکان‌پذیر می‌سازد. UALCAN با داده‌های به‌دست‌آمده از پروژه اطلس ژنوم سرطان (TCGA)، امکان ارزیابی بیان حدود ۲۰۵۰۰ ژن کدکننده پروتئین و تأثیر آنها بر بقای بیماران در ۳۳ نوع سرطان را ایجاد نموده و از طرفی امکان تجزیه و تحلیل بیان پروتئین را با استفاده از داده‌های CPTAC و ICPC فراهم می‌کند. در واقع در بخش پروتئومیکس از UALCAN، بیان پروتئین‌ها در سرطان‌های مختلف از جمله سرطان پستان در دسترس قرار داده شده است [۱۸].

**آنالیز منحنی ROC**

از آنالیز منحنی ROC به منظور ارزیابی آستانه تشخیصی miR-21 استفاده شد که در بافت‌های TNBC در مقایسه با بافت‌های نرمال به طور متفاوت بیان می‌شود. به منظور انتخاب مناسب‌ترین نقطه برش از شاخص Youden استفاده شد. محاسبه این شاخص با استفاده از فرمول (۱− [حساسیت + ویژگی]) صورت گرفت. جهت انجام آنالیز ROC از SPSS نسخه ۱۸ استفاده شد.

**روش تجزیه و تحلیل داده‌ها**

برنامه REST® 2009 (با استفاده از متد ΔΔCT) جهت آنالیز نهایی نتایج Real-time-PCR استفاده گردید. همچنین برای محاسبه معنادار بودن اختلاف بیان miRNA ها و ژن‌های مورد بررسی در نمونه‌های توموری در مقایسه با بافت نرمال اطراف آن، از تست ناپارامتریک mann-whitney استفاده شد. $p < 0.05$ به عنوان سطح معناداری در نظر گرفته شد. برای انجام آنالیز ROC از SPSS نسخه ۱۸ استفاده شد. ترسیم نمودارها با Prism نسخه ۹/۳ انجام گردید.

**ملاحظات اخلاقی**

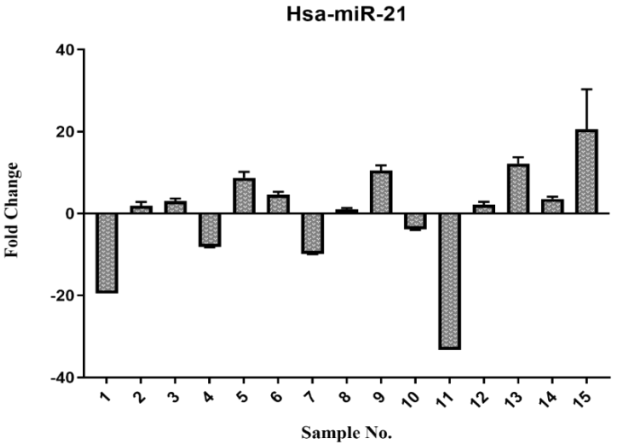
این پژوهش با کد اخلاق IR.SBMU.SM.REC.1394.37 در کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی تصویب شد.

## نتایج

تعداد ۱۵ بافت توموری TNBC و ۱۵ بافت نرمال حاشیه تومور وارد مطالعه شدند. میانگین سنی بیمارانی که نمونه‌های توموری از آنها گرفته شده ۵۰/۳ سال بوده است و ۷۵ درصد از نمونه‌های توموری گرید III بودند. در ۵۰ درصد از بیماران تهاجم لنفاوی و در ۵۵ درصد آنها تهاجم واسکولار بود. تهاجم پری‌نورال نیز تنها در ۳۵ درصد از نمونه‌ها مثبت بود.

**افزایش بیان miR-21 در نمونه‌های بالینی داکتال کارسینومای پستان سه‌گانه منفی تهاجمی**

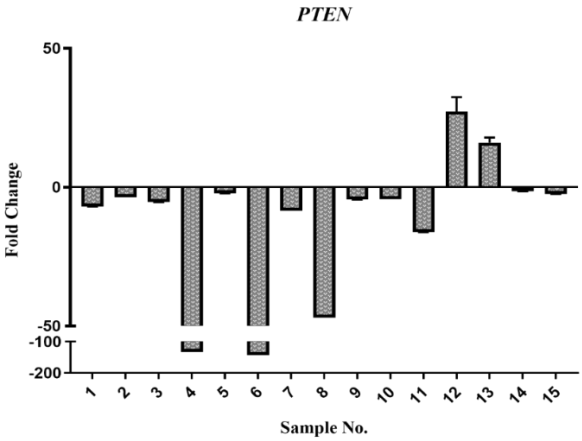
نتایج آنالیز میزان بیان نسبی miR-21 در ۱۵ نمونه توموری داکتال کارسینومای سه‌گانه منفی تهاجمی در مقایسه با بافت حاشیه تومور نشان داد که میزان بیان miR-21 در ۱۰ نمونه به‌طور میانگین به میزان ۶/۸ برابر افزایش و در ۵ نمونه به‌میزان ۸/۹ برابر کاهش داشته است (P<۰/۰۵) (شکل-۲).




**شکل-۲.** بیان miR-21 در نمونه‌های توموری TNBC در مقایسه با بافت نرمال. میزان بیان miR-21 در ۱۰ نمونه توموری به میزان ۶/۸ برابر افزایش و در ۵ نمونه به‌میزان ۸/۹ برابر نسبت به گروه کنترل کاهش داشته است (P<۰/۰۵)

**کاهش بیان ژن PTEN در نمونه‌های بالینی داکتال کارسینومای پستان سه‌گانه منفی تهاجمی**

آنالیز میزان بیان نسبی ژن PTEN در نمونه‌های بالینی در مقایسه با بافت حاشیه تومور نشان داد که میزان بیان ژن PTEN در ۱۳ نمونه به‌طور میانگین ۴/۶ برابر کاهش و در ۲ نمونه به‌طور میانگین ۲۱ برابر افزایش داشته است (P<۰/۰۵) (شکل-۳).



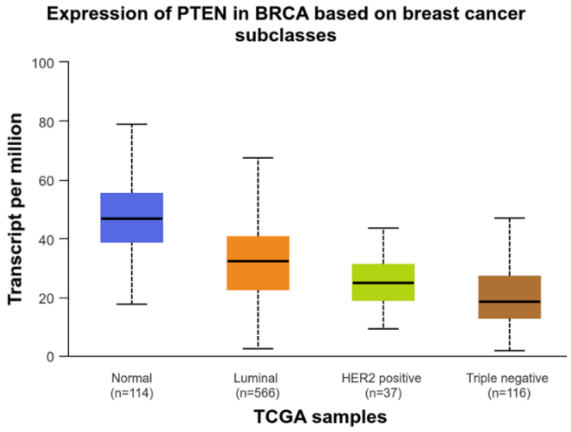

**شکل-۳.** بیان PTEN در نمونه‌های توموری TNBC در مقایسه با بافت نرمال. میزان بیان ژن PTEN در ۱۳ نمونه توموری به میزان ۴/۶ برابر کاهش و در ۲ نمونه به میزان ۲۱ برابر نسبت به گروه کنترل افزایش داشت (P<۰/۰۵)

## نتایج بیان ژن‌ها و همچنین پروتئین PTEN در دیتابیس UALCAN

میزان بیان ژن PTEN در TNBC، کاهش معناداری نسبت به سایر زیرگروه‌های سرطان پستان و نمونه‌های نرمال داشت (P=۰/۰۱) (شکل-۴).

میزان بیان پروتئین PTEN نیز در نمونه‌های TNBC، نسبت به سایر زیرگروه‌ها، کاهش معناداری نشان داد (P<۰/۰۵) اما نسبت به نمونه نرمال این کاهش معنادار نبود (P=۰/۲) (شکل-۵).

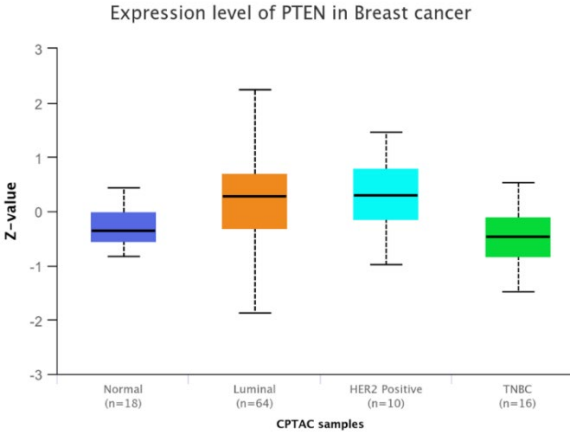
سنجش بیان miR-21 در TCGA نشان داد که بیان این miRNA در نمونه‌های TNBC در مقایسه با نمونه‌های نرمال به طور معناداری افزایش داشت (P<۰/۰۱) (شکل-۶).



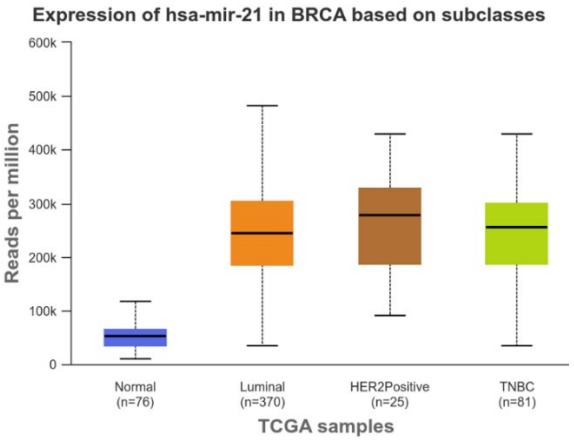

**شکل -۴.** میزان بیان ژن PTEN در زیرگروه‌های سرطان پستان در پایگاه داده UALCAN. میانگین میزان بیان PTEN در نمونه‌های TNBC در مقایسه با سایر زیرگروه‌ها و نمونه‌های نرمال کاهش یافت (P=۰/۰۱)

## تعیین ارزش تشخیصی miR-21 با استفاده از آنالیز منحنی ROC

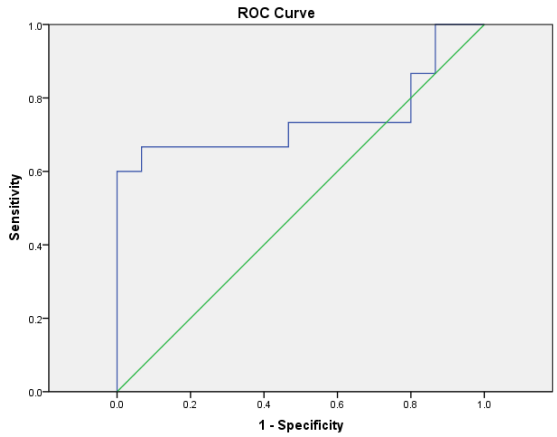
همانطوری‌که در شکل-۷ آمده است، در مورد miR-21، ناحیه زیرمنحنی (AUC) معادل ۰/۷۴۲ بود و در نقطه برش ۱/۷، مقدار حساسیت ۶۰ درصد و میزان ویژگی ۱۰۰ درصد بود که بیانگر ارزش این miRNA در تشخیص نمونه‌های TNBC است (شکل-۴).




**شکل-۵.** میزان بیان پروتئین PTEN در نمونه‌های سرطان پستان در پایگاه داده UALCAN. میزان بیان PTEN در نمونه‌های TNBC در مقایسه با سایر زیرگروه‌ها (p <0.05) و نمونه‌های نرمال کاهش یافت (P=۰/۲)




**شکل-۶.** میزان بیان miR-21 در نمونه های سرطان پستان در پایگاه داده UALCAN. میزان بیان miR-21 در نمونه‌های TNBC در مقایسه با نمونه‌های نرمال افزایش یافت (P<۰/۰۱)




**شکل-۷.** آنالیز منحنی ROC جهت تعیین آستانه تشخیص miR-21 در TNBC. AUC برای miR-21 معادل ۰/۷۴۲ و میزان حساسیت و ویژگی در نقطه برش ۱/۷، به ترتیب معادل ۶۰ و ۱۰۰ درصد بود.

## بحث

سرطان پستان شایع‌ترین عامل مرگ در اثر سرطان در بین خانم‌ها و شایع‌ترین نوع سرطان در بین زنان ایرانی است [۱۹]. در میان انواع زیرگروه‌های سرطان پستان، سرطان پستان سه‌گانه منفی دارای ماهیت تهاجمی‌تر، اندازه تومور بزرگ‌تر و همچنین مرحله بالاتری است و درمان آن نیز به‌دلیل فقدان گیرنده‌های ER، PR و HER2 که به‌عنوان اهدافی برای درمان مطرح هستند، چالش برانگیز است [۲۰]. در حال حاضر، تنها گزینه درمان سیستمیک برای مبتلایان به سرطان پستان سه‌گانه منفی، شیمی‌درمانی است [۲۱]. اگرچه درمان‌های هدفمند برای درمان این اختلال در حال توسعه هستند اما تا به حال هیچ درمان هدفمند مؤثری مورد شناسایی و تائید قرار نگرفته است [۲۲]؛ بنابراین نیاز مبرم به ایجاد و توسعه عواملی که به درمان هدفمند سرطان پستان سه‌گانه منفی کمک نمایند وجود دارد. همان‌طور که گفته شد، اختلال در تنظیم بیان miRNA ها در بسیاری از سرطان‌ها، خصوصاً سرطان پستان سه‌گانه منفی دخیل است [۲۳]. طی سال‌های اخیر توجه به miRNA ها به‌عنوان مولکول‌های که می‌توانند به‌طور بالقوه به‌عنوان زیست‌نشانگر در تشخیص و پیش‌آگهی انواع مختلفی از سرطان‌ها نقش داشته باشند و حتی توانایی بالقوه آنها بعنوان مولکول‌هایی که بتوانند در درمان‌های هدفمند به‌کار گرفته شوند بسیار افزایش پیدا کرده است [۲۴].

مطالعه حاضر بر روی miR-21 که هدف‌گیرنده ژن PTEN از مسیر سیگنالینگ PI3K می‌باشد، انجام شد. PTEN یک تیروزین فسفاتاز کلیدی است که ژن آن روی کروموزوم ۱۰ واقع شده است و در چرخه سلولی، تکثیر و متاستاز سلول‌های توموری نقش دارد و از دست رفتن بیان آن معمولاً با تومورزایی در سرطان‌های مختلف از جمله سرطان پستان، پروستات، تیروئید، تخمدان، ریه، دستگاه گوارش و سایر سرطان‌ها همراه است. این پروتئین فسفاتاز با تبدیل فسفاتیدیل‌اینوزیتول-تری فسفات (PIP3) به فسفاتیدیل-دی‌فسفات (PIP2)، از فعال شدن AKT جلوگیری می‌کند و در نتیجه از اثرات پایین دستی AKT از جمله بقای سلولی، پیشرفت چرخه سلولی و تنظیم رونویسی، ترجمه و متابولیسم جلوگیری می‌کند [۲۵]. از دست دادن بیان PTEN در بسیاری از سرطان‌ها اتفاق می‌افتد و حتی تغییرات کوچک در فعالیت PTEN بر پیش‌آگهی، مقاومت دارویی و شدت بیماری در بدخیمی‌های بسیار تهاجمی مانند TNBC تأثیر می‌گذارد، به همین خاطر این ژن سرکوب‌گر پتانسیل بهره‌برداری درمانی بالایی دارد [۲۶]. از دست دادن بیان PTEN توسط مکانیسم‌های متعددی از جمله جهش، سرکوب رونویسی و خاموشی اپی‌ژنتیک رخ می‌دهد [۲۷].

Moses و همکاران رونویسی PTEN و در نتیجه بیان آن را با استفاده از سیستم CRISPR/Cas9 افزایش دادند. این افزایش بیان در PTEN به‌طور قابل‌توجهی منجر به سرکوب مسیرهای اونکوژنیک پایین دست، از جمله سیگنالینگ AKT، mTOR و MAPK و در نتیجه کاهش تهاجم، بهبود پاسخ به شیمی‌درمانی و مقاومت به دارو در بیماران TNBC شد [۲۸]. در مطالعه Mirjana Prvanović و همکاران، مسیر سیگنالینگ PI3K به‌عنوان یکی از مسیرهایی که غالباً در سرطان دچار اختلال می‌شود، مورد بررسی قرار گرفت و اثر اونکوژن‌های این مسیر از جمله PI3K و mTOR و همچنین تومور ساپرسور PTEN بر رفتار بالینی، پیش‌آگهی و مقاومت چندداروی بررسی شد. نتایج نشان داد که بیان بالای PI3K و mTOR و فقدان PTEN با پیامدهای ضعیف در بیماران TNBCمرتبط است. همچنین نتایج نشان داد که بررسی همزمان میزان بیان این پروتئین‌ها، ممکن است در پیش‌بینی سیر بالینی بیماری نسبت به بیان هر پروتئین منفرد مفیدتر باشد، به‌طوری‌که بیان کاهش یافته PI3K، بیان افزایش یافته PTEN و mTOR، نقش پراهمیتی در پیشرفت TNBC دارد و منجر به ایجاد پروفایل پرخطر TNBC می‌شود [۲۹]. همچنین، نتایج مطالعه Chengsen Chai و همکاران نشان داد که miR-498 با مهار تومورساپرسور PTEN، منجر به افزایش تکثیر سلولی و پیشرفت چرخه سلولی در سلول‌های TNBC می‌گردد. در واقع یافته‌های این مطالعه نشان داد که اثر انکوژنی miR-498 به سرکوب PTEN وابسته است [۳۰]. از طرفی در مطالعه‌ای که اثرات شیکونین بر روی TNBC را بررسی نمود، نشان داده شد که این متابولیت ثانویه گیاهی، با سرکوب گذار اپی تلیالی به مزانشیمی (EMT) از طریق مسیر miR-17-5p/PTEN/Akt، مهاجرت و تهاجم را در سلول‌های TNBC مهار می‌کند. در واقع شیکونین با مهار بیان miR-17-5p، منجر به افزایش بیان ژن هدف آن یعنی PTEN می‌گردد که یک ژن تومورساپرسور می‌باشد و EMT و متاستاز را در سلول‌های TNBC مهار می‌کند [۳۱].

علاوه بر این، نتایج مطالعه Wu و همکاران برای اولین بار نشان داد که TNBC به طور قابل توجهی با فقدان PTEN و افزایش بیان Ki67 مرتبط است. آنها همچنین بیان کردند از دست دادن PTEN در TNBC بسیار شایع است و فقدان آن با پاسخ ضعیف به درمان، کاهش بقاء، پیامد بیماری و افزایش قابل‌توجه سیگنالینگ PI3K همراه است و به‌طور قابل‌توجهی بر بقاء بدون بیماری در آمریکایی‌های آفریقایی‌تبار تأثیر می‌گذارد [۳۲]. نتایج مطالعه حاضر نیز همراستا با این مطالعات بوده و نشان می‌دهد که PTEN در اکثر نمونه‌های بالینی TNBC دچار کاهش بیان شده است که نشان‌دهنده نقش تومورساپرسوری این ژن در سرطان پستان سه‌گانه منفی تهاجمی است. بنابراین، کاهش مهار ژن PTEN یکی از راه‌های درمان هدفمند این بیماری می‌باشد که می‌تواند با استفاده از مهارکننده miRNAهای هدف گیرنده آنها صورت بگیرد. در نهایت کاهش بیان ژن PTEN، منجر به افزایش فعالیت مسیر PI3K و در نتیجه افزایش تکثیر و بقای سلول‌های توموری سه‌گانه‌منفی می‌شود.

در مطالعه حاضر، بر اساس نتایج حاصل از مطالعات بیوانفورماتیک و جستجو در منابع، miR-21 به عنوان miRNA هدف گیرنده ژن PTEN در نظر گرفته شد. miR-21 یک miRNA اونکوژن می‌باشد که در سرطان‌های مختلف افزایش بیان نشان می‌دهد و در این مطالعه نیز بیان این miRNA در اکثر نمونه‌های بالینی TNBC افزایش داشت. نتایج سایر مطالعات نیز همراستا با این نتایج بوده‌اند. مطالعه‌ای بر روی ۵۴۰ نمونه بالینی سرطانی نشان داد که miR-21 یکی از miRNA هایی است که به طور مداوم در سرطان‌های مختلف از جمله سرطان پستان بیان می‌شود [۳۳]. مطالعات نشان دادند که این miRNA نقش کلیدی در تمام مراحل پاتوژنز سرطان پستان ایفا می‌کند و بیان بیش از حد آن با تکثیر، تهاجم، سرطان‌زایی، پیش‌آگهی و مقاوت به درمان در TNBC مرتبط است. همچنین، مطالعه دیگری نیز نشان داد که بیان بالای miR-21 با پیامدهای بالینی نامطلوب و کاهش نرخ بقاء کلی در سرطان پستان مرتبط بوده و مهار این miRNA توسط نانوذرات RNA در TNBC، منجر به مهار تهاجم و مهاجرت سلولی و همچنین سرکوب تشکیل کلونی می‌شود [۳۴]. همراستا با نتایج این مطالعه، دو مطالعه دیگر نیز افزایش بیان miR-21 در TNBC و ارتباط آن با کاهش نرخ بقاء کلی، پیامدهای بالینی و پیش‌آگهی نامطلوب را نشان داده‌اند. یافته‌های این مطالعات همچنین نشان داده که miR-21 منجر به افزایش تکثیر، مهاجرت و تهاجم در سلول‌های TNBC شده است [۳۵،۳۶]. در مطالعه دیگری که در سرم بیماران TNBC انجام شد، افزایش بیان miR-21 در نمونه‌های سرمی این بیماران و ارتباط آن با متاستاز به غدد لنفاوی و بیان Ki67 را گزارش شد و از طرفی نشان داده شد که میزان این افزایش بیان با ژنتیک بیمار، درجه بدخیمی و پیش‌آگهی بیماری مرتبط است [۳۷،۳۸]. از آنجائیکه miR-21 ممکن است در استرومای تومور TNBC نیز بیان شود، MacKenzie و همکاران با بررسی استرومای این بیماران، افزایش بیان miR-21 و ارزش پیش‌آگهی دهنده این miRNA را در بیماران TNBC نشان دادند [۳۹]. Zhao و همکاران دریافتند که مهار miR-21، رشد تومور پستان را به شدت مهار می‌کند و با سرکوب مسیر HIF-1A/VEGF/VEGFR2 در آزمایشات in vivo، منجر به مهار آنژیوژنز می‌شود [۴۰]. آزمایشات in vitro و in vivo در مطالعه دیگری نشان دادند که درمان با AntagomiR-21 منجر به مهار مؤثر رشد تومور TNBC شده است [۴۱]. همچنین دو مطالعه نیز از تحویل مشترک آنتاگومیر miR-21 به همراه ترکیبات شیمی‌درمانی برای تقویت اثربخشی آنها در درمان سرطان پستان استفاده نمودند. نتایج این مطالعات نشان داده که این آزادسازی متوالی منجر به مهار مؤثر رشد تومور در شرایط in vivo گردید [۴۲] و به طور قابل ملاحظه‌ای رشد تومور را در موش‌های حامل تومور در مقایسه با داروهای شیمی درمانی به تنهایی مهار نمود [۴۳]. به علاوه Devulipally و همکاران به منظور درمان هدفمند TNBC، همزمان antisense-miR-21 و antisense-miR-10b را در نانوذرات پلیمری لود نمودند. آنها دریافتند که آنتاگونیزه کردن فعالیت‌های چند miRNA به طور همزمان، اثر تجمعی در کاهش تکثیر سلول‌های سرطان پستان (هم در شرایط in vitro و هم in vivo) دارد و منجر به کاهش ۴۰ درصدی رشد تومور در مقایسه با کنترل شده است [۴۴].

نتایج همه مطالعات فوق تأیید کننده نقش اونکوژنی miR-21 در TNBC می‌باشد که با مهار ژن‌های تومور ساپرسور در این بیماری عمل می‌کند. نتایج مطالعه حاضر نیز نشان می‌دهد که miR-21 می‌تواند با هدف قرار دادن ژن تومورساپرسور PTEN، منجر به کاهش بیان آن و در نتیجه افزایش تومورزایی شود. البته جهت تأیید تعامل بین miRNA-mRNA و تأثیر miR-21 بر بیان ژن هدف مطالعات بیشتری نیاز می‌باشد. با روش لوسیفراز و همچنین کلون کردن این miRNA در وکتور مناسب و بررسی تأثیر آن بر بیان ژن PTEN، می‌توان نتایج دقیق‌تر و مطمئن‌تری در مورد عملکرد miRNA آن بدست آورد تا در نهایت آزمایشات وارد فازهای مختلف کارآزمایی بالینی شوند و بتوان از آنها جهت درمان سرطان پستان سه‌گانه‌منفی استفاده نمود و در نهایت مهار تومور و رشد و گسترش آن را موجب شد.

## نتیجه‌گیری

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که PTEN در اکثر نمونه‌های بالینی TNBC دچار کاهش بیان شده است، در حالی‌که miRNA هدف گیرنده آن یعنی miR-21، در اکثر این نمونه‌ها افزایش بیان داشته است. با توجه به اینکه PTEN یک ژن تومورساپرسور در مسیر PI3K می‌باشد، کاهش بیان آن منجر به افزایش فعالیت این مسیر شده و در نتیجه افزایش تکثیر و بقای سلول‌های توموری سه‌گانه منفی می‌شود، بنابراین کاهش بیان این ژن مطابق با فرضیه اولیه در مورد اثر آن در پیشرفت و توسعه سرطان می‌باشد. همچنین بیان miR-21 نیز افزایش یافته است که مطابق با فرضیه مطالعه حاضر است، چرا که miR-21 با هدف قرار دادن PTEN، منجر به کاهش بیان آن می‌شود و در نتیجه miR-21 یک miRNA اونکوژن است که کاهش بیان ژن تومورساپرسور هدف خود، منجر به افزایش تومورزایی می‌شود. با توجه به یافته‌های این مطالعه پیشنهاد می‌شود که از مهارکننده miR-21 به‌منظور کاهش مهار *PTEN* استفاده گردد که این امر با انجام پژوهش‌های بیشتر محقق خواهد شد.

**تشکر و قدردانی:** نویسندگان مقاله از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی تشکر می‌نمایند.

**نقش نویسندگان:** همه نویسندگان در نگارش اولیه مقاله یا بازنگری آن سهیم بودند و همه با تایید نهایی مقاله حاضر،

مسئولیت دقت و صحت مطالب مندرج در آن را می پذیرند.

**تضاد منافع:** نویسندگان تصریح می کنند که هیچ گونه تضاد منافعی در مطالعه حاضر وجود ندارد.

## منابع


1. Katsura C, Ogunmwonyi I, Kankam HK, Saha S. Breast cancer: Presentation, investigation and management. Br J Hosp Med. 2022; 83(2): 1-7. doi:10.12968/hmed.2021.0459 PMid:35243878
2. Kashyap D, Pal D, Sharma R, Garg VK, Goel N, Koundal D, et al. Global Increase in Breast Cancer Incidence: Risk Factors and Preventive Measures. Biomed Res Int. 2022; 2022. doi:10.1155/2022/9605439 PMid:35480139 PMCid:PMC9038417
3. Wilkinson L, Gathani T. Understanding breast cancer as a global health concern. Br J Radiol. 2022;95(1130):20211033. doi:10.1259/bjr.20211033 PMid:34905391 PMCid:PMC8822551
4. Shamshirian A, Heydari K, Shams Z, Aref AR, Shamshirian D, Tamtaji OR, et al. Breast cancer risk factors in Iran: a systematic review & meta-analysis. Horm Mol Biol Clin Investig. 2020;41(4). doi:10.1515/hmbci-2020-0021 PMid:33079703
5. Zhu SY, Yu KD. Breast cancer vaccines: disappointing or promising? Front Immunol. 2022;13. doi:10.3389/fimmu.2022.828386 PMid:35154149 PMCid:PMC8831788
6. Bou Zerdan M, Ghorayeb T, Saliba F, Allam S, Bou Zerdan M, Yaghi M, et al. Triple Negative Breast Cancer: Updates on Classification and Treatment in 2021. Cancers. 2022;14 (5):1253. doi:10.3390/cancers14051253 PMid:35267561 PMCid:PMC8909187
7. Najafi N, Gharib M, Nematollahi N, Mehravar F. Preoperative evaluation of pelvic MRI findings in patients with rectosigmoid cancer in Golestan province, north of Iran. Novel Clin Med 2022; 1(3): 127-134. doi: 10.22034/ncm.2022.337938.1041
8. Bayraktar E, Bayraktar R, Oztatlici H, Lopez-Berestein G, Amero P, Rodriguez-Aguayo C. Targeting miRNAs and Other Non-Coding RNAs as a Therapeutic Approach: An Update. Non-coding RNA. 2023;9(2):27. doi:10.3390/ncrna9020027 PMid:37104009 PMCid:PMC10145226
9. Zelli V, Compagnoni C, Capelli R, Cannita K, Sidoni T, Ficorella C, et al. Circulating microRNAs as prognostic and therapeutic biomarkers in breast cancer molecular subtypes. J Pers Med. 2020; 10(3):98. doi:10.3390/jpm10030098 PMid:32842653 PMCid:PMC7563822
10. Graveel CR, Calderone HM, Westerhuis JJ, Winn ME, Sempere LF. Critical analysis of the potential for microRNA biomarkers in breast cancer management. Breast Cancer (Dove Med Press). 2015;7:59-79. doi:10.2147/BCTT.S43799 PMid:25759599 PMCid:PMC4346363
11. Misso G, Di Martino MT, De Rosa G, Farooqi AA, Lombardi A, Campani V, et al. Mir-34: a new weapon against cancer? Mol Ther Nucleic Acids. 2014;3:e194. doi:10.1038/mtna.2014.47 PMid:25247240 PMCid:PMC4222652
12. Zhang K, Zhang Y, Liu C, Xiong Y, Zhang J. MicroRNAs in the diagnosis and prognosis of breast cancer and their therapeutic potential (review). Int J Oncol. 2014;45:950-8. doi:10.3892/ijo.2014.2487 PMid:24913679
13. Banerjee M, Rajeswari VD. Inhibition of WNT signaling by conjugated microRNA nano-carriers: A new therapeutic approach for treating triple-negative breast cancer a perspective review. Crit Rev Oncol Hematol. 2023;182:103901. doi:10.1016/j.critrevonc.2022.103901 PMid:36584723
14. Csolle MP, Ooms LM, Papa A, Mitchell CA. PTEN and Other PtdIns(3,4,5)P(3) Lipid Phosphatases in Breast Cancer. Int J Mol Sci. 2020;21(23). doi:10.3390/ijms21239189 PMid:33276499 PMCid:PMC7730566
15. Gao PP, Qi XW, Sun N, Sun YY, Zhang Y, Tan XN, et al. The emerging roles of dual-specificity phosphatases and their specific characteristics in human cancer. Biochim et Biophys Acta Rev Cancer. 2021; 1876(1): 188562. doi:10.1016/j.bbcan.2021.188562 PMid:33964330
16. Hu Y, Zhu Q, Tang L. MiR-99a antitumor activity in human breast cancer cells through targeting of mTOR expression. PLoS One. 2014;9:e92099. doi:10.1371/journal.pone.0092099 PMid:24637915 PMCid:PMC3956864
17. Mohammadi-Yeganeh S, Paryan M, Samiee SM, Soleimani M, Arefian E, Azadmanesh K, et al. Development of a robust, low cost stem-loop real-time quantification PCR technique for miRNA expression analysis. Mol Biol Rep. 2013; 40(5): 3665-74. doi:10.1007/s11033-012-2442-x PMid:23307300
18. Chandrashekar DS, Karthikeyan SK, Korla PK, Patel H, Shovon AR, Athar M, et al. UALCAN: An update to the integrated cancer data analysis platform. Neoplasia (New York, NY). 2022; 25:18-27. doi:10.1016/j.neo.2022.01.001 PMid:35078134 PMCid:PMC8788199
19. Rahbaralam Z, Mannani D, Dehghani A, Akbari H, Fatemi A, Bazrafshan M-R, et al. The Epidemiological Trend of Breast Cancer in the South of Fars Province in Iran. Indian J Gynecologic Oncol. 2023;21(1):17. doi:10.1007/s40944-022-00693-2
20. Obidiro O, Battogtokh G, Akala EO. Triple Negative Breast Cancer Treatment Options and Limitations: Future Outlook. Pharmaceutics. 2023;15(7). doi:10.3390/pharmaceutics15071796 PMid:37513983 PMCid:PMC10384267
21. Li L, Zhang F, Liu Z, Fan Z. Immunotherapy for Triple-Negative Breast Cancer: Combination Strategies to Improve Outcome. Cancers (Basel). 2023;15(1). doi:10.3390/cancers15010321 PMid:36612317 PMCid:PMC9818757
22. Zarei S, Hosseiniara S. Selenium as a mineral with anti-cancer properties. Novel Clin Med 2022; 1(1): 4-25. doi: 10.22034/ncm.2022.140283
23. Loh HY, Norman BP, Lai KS, Rahman N, Alitheen NBM, Osman MA. The Regulatory Role of MicroRNAs in Breast Cancer. Int J Mol Sci. 2019; 20(19) doi:10.3390/ijms20194940 PMid:31590453 PMCid:PMC6801796
24. Condrat CE, Thompson DC, Barbu MG, Bugnar OL, Boboc A, Cretoiu D, et al. miRNAs as Biomarkers in Disease: Latest Findings Regarding Their Role in Diagnosis and Prognosis. Cells. 2020;9(2). doi:10.3390/cells9020276 PMid:31979244 PMCid:PMC7072450
25. Georgescu MM. PTEN Tumor Suppressor Network in PI3K-Akt Pathway Control. Genes & cancer. 2010;1(12):1170-7. doi:10.1177/1947601911407325 PMid:21779440 PMCid:PMC3092286
26. Ertay A, Ewing RM, Wang Y. Synthetic lethal approaches to target cancers with loss of PTEN function. Genes & diseases. 2023;10(6):2511-27. doi:10.1016/j.gendis.2022.12.015 PMid:37533462 PMCid:PMC7614861
27. Milella M, Falcone I, Conciatori F, Cesta Incani U, Del Curatolo A, Inzerilli N, et al. PTEN: Multiple Functions in Human Malignant Tumors. Front Oncol. 2015;5:24. doi:10.3389/fonc.2015.00024 PMid:25763354 PMCid:PMC4329810

28. Moses C, Nugent F, Waryah CB, Garcia-Bloj B, Harvey AR, Blancafort P. Activating PTEN Tumor Suppressor Expression with the CRISPR/dCas9 System. Mol Ther Nucleic Acids. 2019;14:287-300. doi:10.1016/j.omtn.2018.12.003 PMid:30654190 PMCid:PMC6348769
29. Prvanović M, Nedeljković M, Tanić N, Tomić T, Terzić T, Milovanović Z, et al. Role of PTEN, PI3K, and mTOR in Triple-Negative Breast Cancer. Life (Basel, Switzerland). 2021;11(11). doi:10.3390/life11111247 PMid:34833123 PMCid:PMC8621563
30. Chai C, Wu H, Wang B, Eisenstat DD, Leng RP. MicroRNA-498 promotes proliferation and migration by targeting the tumor suppressor PTEN in breast cancer cells. Carcinogenesis. 2018;39(9):1185-96. doi:10.1093/carcin/bgy092 PMid:29985991 PMCid:PMC6148990
31. Bao C, Liu T, Qian L, Xiao C, Zhou X, Ai H, et al. Shikonin inhibits migration and invasion of triple-negative breast cancer cells by suppressing epithelial-mesenchymal transition via miR-17-5p/PTEN/Akt pathway. J Cancer. 2021;12(1):76-88. doi:10.7150/jca.47553 PMid:33391404 PMCid:PMC7738816
32. Wu Y, Sarkissyan M, Elshimali Y, Vadgama JV. Triple negative breast tumors in African-American and Hispanic/Latina women are high in CD44+, low in CD24+, and have loss of PTEN. PloS One. 2013;8(10):e78259. doi:10.1371/journal.pone.0078259 PMid:24167614 PMCid:PMC3805609
33. Volinia S, Calin GA, Liu CG, Ambs S, Cimmino A, Petrocca F, et al. A microRNA expression signature of human solid tumors defines cancer gene targets. Proc Nati Acad Sci U S A. 2006;103(7):2257-61. doi:10.1073/pnas.0510565103 PMid:16461460 PMCid:PMC1413718
34. Zhang T, Wu Y, Yang D, Wu C, Li H. Preparation, characterization, and in vitro tumor-suppressive effect of anti-miR-21-equipped RNA nanoparticles. Biochemical Biophysical Res Communications. 2021;558:107-13. doi:10.1016/j.bbrc.2021.04.040 PMid:33906109
35. Gao J, Wang S, Zhang Z, Li J. Long non-coding RNA BRE-AS1 inhibits the proliferation, migration, and invasion of cancer cells in triple-negative breast cancer and predicts patients' survival by downregulating miR-21. BMC Cancer. 2021;21(1):745. doi:10.1186/s12885-021-08294-6 PMid:34182945 PMCid:PMC8240350
36. Dong G, Liang X, Wang D, Gao H, Wang L, Wang L, et al. High expression of miR-21 in triple-negative breast cancers was correlated with a poor prognosis and promoted tumor cell in vitro proliferation. Med Oncol (Northwood, London, England). 2014;31(7):57. doi:10.1007/s12032-014-0057-x PMid:24930006
37. Yang L, Feng Y, Qi P, Xu S, Zhou Y. Mechanism of serum miR-21 in the pathogenesis of familial and triple negative breast cancer. J Biol Regul Homeost Agents. 2016;30(4):1041-5.
38. Song N, Liang B, Wang D. The function of MiR-21 expression differences and pathogenesis on familial and triple negative breast Cancer serum. Pakistan J Pharmaceutical Sci. 2016;29(2 Suppl):679-84.
39. MacKenzie TA, Schwartz GN, Calderone HM, Graveel CR, Winn ME, Hostetter G, et al. Stromal expression of miR-21 identifies high-risk group in triple-negative breast cancer. Am J Pathol. 2014;184(12):3217-25. doi:10.1016/j.ajpath.2014.08.020 PMid:25440114 PMCid:PMC4258602
40. Zhao D, Tu Y, Wan L, Bu L, Huang T, Sun X, et al. In vivo monitoring of angiogenesis inhibition via down-regulation of mir-21 in a VEGFR2-luc murine breast cancer model using bioluminescent imaging. PloS One. 2013;8(8):e71472. doi:10.1371/journal.pone.0071472 PMid:23951172 PMCid:PMC3738509
41. Yin H, Xiong G, Guo S, Xu C, Xu R, Guo P, et al. Delivery of Anti-miRNA for Triple-Negative Breast Cancer Therapy Using RNA Nanoparticles Targeting Stem Cell Marker CD133. Mol Ther 2019;27(7):1252-61. doi:10.1016/j.ymthe.2019.04.018 PMid:31085078 PMCid:PMC6612664
42. Ren Y, Wang R, Gao L, Li K, Zhou X, Guo H, et al. Sequential co-delivery of miR-21 inhibitor followed by burst release doxorubicin using NIR-responsive hollow gold nanoparticle to enhance anticancer efficacy. J Control Release. 2016;228:74-86. doi:10.1016/j.jconrel.2016.03.008 PMid:26956593
43. Bahreyni A, Alibolandi M, Ramezani M, Sarafan Sadeghi A, Abnous K, Taghdisi SM. A novel MUC1 aptamer-modified PLGA-epirubicin-PβAE-antimir-21 nanocomplex platform for targeted co-delivery of anticancer agents in vitro and in vivo. Colloids surf B, Biointerfaces. 2019; 175: 231-8. doi:10.1016/j.colsurfb.2018.12.006 PMid:30537619
44. Devulapally R, Sekar NM, Sekar TV, Foygel K, Massoud TF, Willmann JK, et al. Polymer nanoparticles mediated codelivery of antimiR-10b and antimiR-21 for achieving triple negative breast cancer therapy. ACS Nano. 2015;9(3):2290-302. doi:10.1021/nn507465d PMid:25652012 PMCid:PMC4374409

**How to Cite this Article:**
Razaviyan J, Hadavi R, Tafti M, Mohammadi-Yeganeh S. The expression level of miR-21, a target of the PTEN gene receptor in the PI3K signaling pathway, in clinical samples of triple negative breast cancer. Feyz Med Sci J. 2024; 28 (2):183-192. doi: 10.48307/FMSJ.2024.28.2.183