

Evaluation of correlation of miR-141 expression changes with common mutations of K-Ras gene and its relationship with prognosis in tumor tissue of colorectal cancer in Iranian patients

Melika Arkani¹, Ardeshir Hesampour Mahallati², Maliheh Entezari³

¹ MSc, Department of Genetics, Faculty of Advanced Sciences and Technology, Tehran Medical Sciences, Islamic Azad University, Tehran, Iran

²Assistant Professor, Department of Biology, Faculty of Basic Science, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

³Associate Professor, Department of Genetics, Faculty of Advanced Sciences and Technology, Tehran Medical Sciences, Islamic Azad University, Tehran, Iran

Abstract

Background: In many human malignant tumors, the expression of micro RNA molecules is dysfunctional. The purpose of this study was to investigate the miR-141 marker as a possible prognostic marker in colorectal cancer in order to screen patients with K-Ras mutation.

Materials and methods: In this case- control study, 100 patients with colorectal cancer aged over 50 years were studied. The pathologist confirmed colorectal cancer among samples of paraffin-embedded colon tissue in the pathology department of Imam Hossein Hospital in Tehran. People who have codon 12 and 13 mutations in exon 2 of K-Ras gene were selected as case group and tumor samples of people without codon 12 and 13 mutation in exon 2 of K-Ras gene were selected as control group. Changes in miR-141 expression were investigated in both groups.

Results: The results showed that 20% of patients were positive for codon 12 mutation and 10% of patients had codon 13 mutation. miR-141 gene expression in K-Ras positive tumor samples was 1.5 times its expression level in K-Ras negative samples and this increase in expression was statistically significant.

Conclusion: The results of the present study showed that the frequency of common K-Ras gene mutations in the population of colorectal cancer patients under study is consistent with the average of the Iranian population. It seems that miR-141 can be used as a biomarker to help in the diagnosis and prognosis of colorectal cancer.

Keywords: *Colorectal Cancer, K-Ras gene, miR-141 Marker, Real Time PCR, Electrophoresis.*

Cited as: Arkani M, Hesampour Mahallati A, Entezari M. Evaluation of correlation of miR-141 expression changes with common mutations of K-Ras gene and its relationship with prognosis in tumor tissue of colorectal cancer in Iranian patients. Medical Science Journal of Islamic Azad University, Tehran Medical Branch 2023; 33(3): 230-239.

Correspondence to: Ardeshir Hesampour

Tel: +98 912 301 7118

E-mail: ard.hesampour@iauctb.ac.ir

ORCID ID: 0000-0002-7324-5469

Received: 25 Dec 2022; **Accepted:** 19 Apr 2023

بررسی همراهی تغییرات بیان miR-141 با جهش‌های شایع ژن K-Ras و ارتباط آن با پیش‌آگهی در بافت توموری مبتلایان به سرطان کولورکتال در بیماران ایرانی

ملیکا ارکانی^۱، اردشیر حسام‌پور محلاتی^۲، ملیحه انتظاری^۳

^۱ کارشناس ارشد، گروه ژنتیک، دانشکده علوم و فناوری‌های نوین، علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.
^۲ استادیار، دکتری تخصصی زیست‌شناسی، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.
^۳ دانشیار، دکتری تخصصی سلولی تکوینی، گروه ژنتیک، دانشکده علوم و فناوری‌های نوین، علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

چکیده

سابقه و هدف: در بسیاری از تومورهای بدخیم انسانی، بیان مولکول‌های miRNA دچار اختلال در عملکرد می‌شوند. هدف از انجام این پژوهش بررسی مارکر miR-141 به عنوان مارکر احتمالی پیش‌آگهی‌دهنده در سرطان کولورکتال به منظور غربالگری در بیماران با جهش K-Ras است.

روش بررسی: در این مطالعه مورد-شاهدی، ۱۰۰ بیمار مبتلا به سرطان کولورکتال با رده سنی بالای ۵۰ سال بررسی شدند. در بررسی پاتولوژیست، سرطان کولورکتال در بافت کولون پارافینه موجود در بخش پاتولوژی بیمارستان امام حسین (ع) تهران تایید شد. افرادی که واجد جهش‌های کدون ۱۲ و ۱۳ در اگزون ۲ ژن K-Ras بودند به عنوان گروه مورد و نمونه توموری افرادی که فاقد جهش کدون ۱۲ و ۱۳ در اگزون ۲ ژن K-Ras بودند به عنوان گروه شاهد انتخاب شدند. در هر دو گروه تغییرات بیان miR-141 بررسی شد. یافته‌ها: نتایج نشان داد که ۲۰٪ از بیماران از نظر جهش کدون ۱۲ مثبت و ۱۰٪ از بیماران واجد جهش کدون ۱۳ بودند. بیان ژن miR-141 در نمونه‌های توموری K-Ras مثبت، ۱/۵ برابر میزان بیان آن در نمونه‌های K-Ras منفی بود و این افزایش بیان از نظر آماری معنی‌دار بود.

نتیجه‌گیری: نتایج مطالعه حاضر نشان داد که فراوانی جهش‌های رایج ژن K-Ras در جمعیت بیماران سرطان کولورکتال مورد مطالعه با میانگین جمعیت ایرانی همخوانی دارد. به نظر می‌رسد در جمعیت‌های بزرگ‌تر و حجم نمونه بالا و نتایج مشابه در مطالعات دیگر و همچنین تکرار پذیر بودن نتایج می‌توان از miR-141 به عنوان بیومارکر در تشخیص و پیش‌آگهی سرطان کولورکتال بهره برد.

واژگان کلیدی: سرطان کولورکتال، ژن K-Ras، مارکر Real Time PCR miR-141

مقدمه

بیشتر از ۶۵٪ موارد مشاهده می‌شود. شیوع این بیماری در زنان کمتر از مردان است (۳-۱). در ایران میزان بروز و شیوع سرطان کولورکتال نشان می‌دهد که طی سال‌های ۱۳۶۵ تا ۱۳۷۵ سیر افزایشی داشته است. این افزایش به گونه‌ای بوده است که رتبه این سرطان را از رتبه نهم به رتبه پنجم آورده است. در حال حاضر یکی از شایع‌ترین سرطان‌های دستگاه گوارش در ایران نیز سرطان کولورکتال می‌باشد که از نظر بروز در مردان ایرانی رتبه سوم و در زنان رتبه چهارم را به خود اختصاص داده است (۴).

سرطان کولورکتال (CRC: Colorectal cancer) سومین بدخیمی شایع در سراسر جهان است و حدود ۱۰٪ از کل موارد را تشکیل می‌دهد. این بیماری در کشورهای توسعه‌یافته

آدرس نویسنده مسئول: تهران، دانشکده علوم پایه، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی، اردشیر

حسام‌پور محلاتی (email: ard.hesampour@iauctb.ac.ir)

ORCID ID: 0000-0002-7324-5469

تاریخ دریافت مقاله: ۱۴۰۱/۱۰/۴

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۴۰۲/۱/۳۰

ناحیه کروموزومی 13q در ۵۰ بیمار مبتلا به CLL دچار حذف می‌شود. به عنوان مثال miRNA-21 در اکثر سرطان‌ها دچار افزایش بیان می‌شود که بازدارنده‌های توموری از جمله PDCD4، PTEN و TPM1 در بین اهداف miRNA-21 هستند، در مقابل microRNA هایی هستند که هدفشان پروتئوآنکوژن‌هایی هستند که در سلول‌های سرطانی دچار کاهش یا حذف می‌شوند، به این ترتیب پروتئوآنکوژن‌ها در سلول‌ها بالا می‌روند. به عنوان مثال let 7 در اکثر سلول‌های سرطانی دچار کاهش بیان می‌شوند که پروتئوآنکوژن RAS یکی از اهداف مهم این microRNA است.

سه ژن *RAS* انسانی (*KRAS*، *NRAS* و *HHRAS*) شایع‌ترین آنکوژن هستند که در سرطان‌های انسانی هستند. در ۹۰٪ از موارد سرطان پانکراس، ۳۵٪ از سرطان‌های ریه و ۴۵٪ از سرطان‌های روده بزرگ ظاهر می‌شوند. *Kirsten rat sarcoma (KRAS)* یکی از مهم‌ترین مولکول‌ها در پایین دست مسیر سیگنالینگ گیرنده فاکتور رشد اپیدرمی است. *K-Ras* پروتئوآنکوژن کدکننده پروتئین ۲۱ کیلودالتونی متصل شده به گوانوزین تری فسفات/گوانوزین دی فسفات جای گرفته در روی بازوی کوچک کروموزوم ۱۲ در موقعیت ۱۱،۱۲ است که در غشای داخل سلول قرار دارد و در انتقال سیگنال‌های میتوژنیک و تنظیم پاسخهای سلولی به تحریکات (signal) خارج سلولی مثل فاکتورهای رشد، سایتوکین‌ها همانند سایر پروتئین‌ها، چرخه و هورمون‌ها نقش زیادی دارد (۱۲). *K-Ras* شناخته‌شده‌ترین آنکوژن با بالاترین میزان جهش در بین همه سرطان‌ها است و با یک سری سرطان‌های بسیار کشنده از جمله آدنوکارسینوم مجرای پانکراس (PDAC)، سرطان ریه سلول غیر کوچک (NSCLC) و سرطان کولورکتال (CRC) مرتبط است. اهمیت و ضرورت جهش‌های نقطه ژنی فعال-کننده *KRAS* در بسیاری از انواع تومورهای انسانی شناسایی شده است. چنین اشکال آنکوژنی ژن *K-Ras* در سرطان در ۹۰٪ از موارد سرطان پانکراس، ۳۵٪ از سرطان‌های ریه و ۴۵٪ از سرطان‌های روده بزرگ شایع است، اما در بدخیمی‌های مجاری صفراوی، سرطان آندومتر، دهانه رحم نیز وجود دارد. سرطان مثانه، سرطان کبد، لوسمی میلوئید و سرطان سینه. جهش در ژن *KRAS* اثرات مهمی بر روند سرطان‌زایی دارد که به سلول‌ها و بافت‌های درگیر بستگی دارد. جهش‌هایی که اغلب در ژن *KRAS* سلول‌های سرطانی یافت می‌شوند در موقعیت‌های ۱۲ و ۱۳ در اگزون ۲ و کمتر در کدون های ۶۱، ۶۳، ۱۱۷، ۱۱۹ و ۱۴۶ قرار دارند.

سرطان کلورکتال دارای دو نوع ارثی (Familial) و تک گیر (Sporadic) است که تقریباً ۸۰ درصد موارد آن اسپورادیک و ۲۰ درصد موارد دیگر وراثتی است. عوامل خطر سرطان کلورکتال شامل چاقی، کمبود فیبر، غذای پرچرب، عدم فعالیت فیزیکی، مصرف سیگار و الکل و همچنین سن بالا است (۷-۵). همانند بسیاری از سرطان‌ها، تشخیص زودهنگام و به موقع سرطان کلورکتال، می‌تواند نقش حیاتی در درمان و بقای مبتلایان داشته باشد. مطالعات و تحقیقات به دنبال یافتن روش‌های مولکولی غیر تهاجمی و ارزان است. جدیدترین مطالعات پژوهشی صورت گرفته در مورد سرطان کلورکتال، به برقراری ارتباط بین شرایط بالینی و پاتولوژیک بیمار با مارکرها مولکولی و ژنتیکی پرداخته‌اند (۸).

پژوهش‌های اخیر نشان می‌دهند، ویژگی‌های بالینی، بافت شناختی و مولکولی مختلف به عنوان نشانگر ارزشمند برای پیش‌آگهی سرطان کلورکتال گزارش هستند و همچنین در تشخیص و درمان سرطان کلورکتال کاربرد موثری دارند (۹). مطالعات جدیدتر نشان می‌دهند که بیومارکرهای مولکولی ابزاری با پتانسیل بالقوه در مدیریت بهتر سرطان‌ها هستند. یکی از این موارد RNA کوچک غیر رمزگردان (micro RNA) است که مطالعات قبلی نشان می‌دهند در بسیاری از تومورهای بدخیم انسانی، از جمله سرطان‌های پروستات، کلورکتال، پستان، مثانه، و کبد و تومورهای مغزی، این RNAها دچار اختلال در عملکرد شده‌اند (۱۱).

microRNAs ها گروهی از RNA های کوچک غیر کدکننده هستند که ارتباط نزدیکی با بیماری‌های مختلف از جمله سرطان دارند که بیان ژن در یوکاریوت‌ها را از طریق مهار ترجمه یا تخریب mRNA تنظیم می‌کنند که این کار را با جفت شدن نسبی با انتهای (UTR'3) مربوط به mRNA مورد هدف انجام می‌دهد. به دلیل پتانسیل microRNA در هدف قرار دادن تعداد زیادی از mRNA ها این دسته اولیگونوکلوئوتیدهای ۲۵-۱۹ تایی تقریباً در تمام پدیده‌های بیولوژیکی شامل تنظیم چرخه سلولی، رشد سلولی، آپوپتوزیس، تمایز سلولی و پاسخ به استرس نقش دارند. شواهد روز افزون حاکی از آن است که microRNA ها در زیست‌شناسی سرطان نقش مهمی دارند و مطالعات اخیر نقش آنکوژنی و بازدارنده توموری آنها را در سلول‌های سرطانی تایید کرده و نشان داده‌اند که بیان این microRNAها خود می‌توانند توسط آنکوژن‌ها و بازدارنده‌های توموری تنظیم شوند (۱). اهمیت microRNA در سرطان اولین بار در لوکمای CLL نشان داده شد. مطالعات سیتوژنتیکی نشان داد که

نمونه‌های بافت سرطانی کلورکتال به صورت بلوک بافت پارافینه از بخش پاتولوژی تهیه شد. برای برش زدن میزان لازم از بافت‌های مذکور جهت استخراج *RNA* و *DNA* هر یک از بافت‌ها درون یک پلیت خاص بر روی یخ خشک برش زده و سپس توزین شدند.

استخراج *RNA* توتال

برای استخراج *RNA* تام (توتال) از کیت *Exgene Ffpe Tissue DNA* (شرکت *Gene All* کره جنوبی) بر طبق دستورالعمل شرکت سازنده استفاده شد. سپس اندازه‌گیری غلظت *RNA* های کوچک توسط نانودراپ انجام شد و در منفی ۸۰ درجه سانتی-گراد قرار داده شدند.

سنتز *cDNA* از میکرو *RNA*

برای ساخت *cDNA* از کیت *Quanti Tech Reverse Transcription* (شرکت کیژن آلمان) استفاده شد. بر طبق پروتکل ابتدا با استفاده از آنزیم *Poly A Polymerase* به انتهای ۳' تمام *miRNAs* دم *poly A* اضافه شد. سپس از پرایمر *Oligo dT-VN* استفاده شد. وقتی قطعه پرایمر مورد نظر به *RNA* هیبرید شد، آنزیم *reverse transcriptase* از انتهای پرایمر رشته مکمل را ساخت. با کمک این پرایمر از تمامی *RNA* های کوچک *cDNA* ساخته شد. به منظور بررسی کیفیت *DNA* های استخراج شده از *PCR* استفاده شد.

Conventional PCR

جهت بررسی وجود جهش‌های کدون ۱۲ و ۱۳ در ژن *K-Ras* مورد مطالعه، از روش *Conventional PCR* استفاده شد. تکنیک *Conventional PCR* همراه با ژل الکتروفورز انجام شد. در این روش نیز پرایمر *Forward* و پرایمر *Reverse*، مستر میکس استفاده شد (جدول ۱). با توجه به اندازه قطعات *PCR* در این مطالعه که برای جهش‌های ژن *K-Ras* به اندازه تقریبی ۴۵۰ نوکلئوتید، از ژل ۲ درصد استفاده شد.

به نظر می‌رسد جهش‌های *K-RAS* در کدون‌های ۱۲ و ۱۳ بیومارکرهایی بالقوه‌ای در سرطان‌ها هستند (۱۳). در مطالعه حاضر مارکر *miR-141* به عنوان یک مارکر پیش‌آگهی دهنده در سرطان کلورکتال در بیماران با جهش در ژن *K-Ras* مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روشها

مطالعه مورد-شاهدی حاضر در سال‌های ۱۳۹۹ تا ۱۴۰۰ در آزمایشگاه نانو دپارتمان ژنتیک پزشکی دانشگاه علوم پزشکی آزاد اسلامی انجام گرفت. در مطالعه حاضر، ۱۰۰ بیمار مبتلا به سرطان کلورکتال مورد بررسی قرار گرفتند که شامل ۶۰ بیمار مرد و ۴۰ بیمار زن با رده سنی بالای ۵۰ سال بودند.

بر اساس نتایج ژل الکتروفورز، ۲۰٪ از افراد دارای جهش کدون ۱۲ و ۱۰٪ از افراد دارای جهش کدون ۱۳ بودند. در مجموع ۳۰٪ از افراد مورد مطالعه جهش ژن *K-Ras* را نشان دادند و در ۷۰٪ از بیماران جهشی در ژن *K-Ras* دیده نشد. مشارکت افراد داوطلبانه بود و همه شرکت کنندگان از هدف پروژه مطلع بودند. بیماران هیچ شیمی درمانی دریافت نکرده بودند. همچنین همه شرکت کنندگان اعلام کردند که دو ماه قبل از ورود به مطالعه هیچ درمانی دریافت نکرده‌اند. پس از اخذ رضایتنامه از افراد تحت مطالعه، نمونه‌های خونی و بافتی بیماران و افراد گروه شاهد و جمع آوری شد. در ضمن مطالعه حاضر در کمیته اخلاق دانشگاه با کد *IR.IAU.PS.REC.1400.319* مورد تصویب قرار گرفته است. نسبت شاهد به مورد در مطالعه به طور یکسان انتخاب شد. با توجه به سن و جنس، افراد سالم با بیماران سرطانی همسان شدند.

آماده سازی نمونه

جدول ۱. توالی پرایمرهای جهش کدون ۱۲ و ۱۳ ژن *K-ras*

نام پرایمر	توالی پرایمر	اندازه محصول <i>PCR</i> (bp)
K-Ras codon 12 Forward	GTGTGGTAGTTGGAG CTGTTG	۲۲۰
K-Ras codon 12 Reverse	GGCACCTCTTGCTAC GCCAACAGC	
K-Ras codon 13 Forward	GGTAGTTGGAGCTGGTGACGTAGGCA	۲۲۰
K-Ras codon 13 Reverse	GGCACCTCTTGCTAC GTCACCAGCT	

جدول ۲. توالی پرایمرها و پروب مربوط به *miR-141*

نام پرایمر	توالی پرایمر
miR-141 Forward	5'-TAACACTGTCTGGTAAAGATGG-3'
miR-141 Reverse	5'-GTCGTCATCGTCTTTGTAGTC-3'
FAM-Probe	5'-TTAGGGCCATCTTACCAGACAGTGT-BHQ2-3'

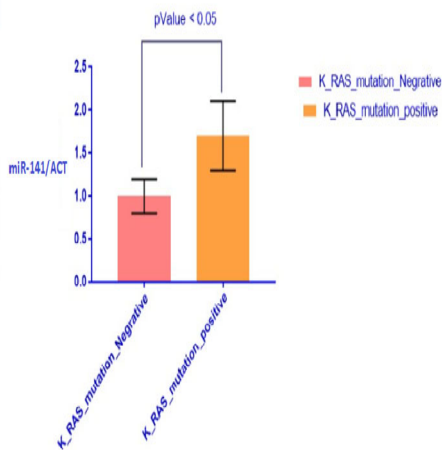
انجام Real-Time PCR

برای بررسی بیان ژن *miR-141* از روش Real Time PCR استفاده شد. در این روش یک نشانگر فلورسنت غیر اختصاصی SYBR Green در واکنش میزان تکثیر محصول ارزیابی می‌گردد. در این آزمایش از پرایمرهای Forward مشابه سکانس *miR-141* و Reverse که مکمل ناحیه منحصر به فرد ۵' پرایمر Oligo dT و VN است با حجم ۰/۷ میکرولیتر استفاده شد (جدول ۲). در این مطالعه از خاموش کننده از گزارشگر FAM۲ در انتهای 5' استفاده شد. در ضمن برای نرمالیزه کردن بیان، از ژن خانه‌دار *House Keeping gene RNU6B* استفاده شد.

نتایج Real Time PCR حاصل از این تحقیق با استفاده از نرم افزار REST تحلیل شد. همچنین برای مقایسه میانگین بیان ژن -ها و بررسی همبستگی پارامترها از نرم افزار آماری *statistics 22 SPSS* و آزمون‌های آماری *independent T-Test* و *ANOVA* و *Correlation* استفاده شد. نمودارهای مربوط به نتایج آنالیزها با استفاده از نرم افزار *GraphPad Prism 8* ترسیم شد.

یافته‌ها

در مطالعه حاضر، ۱۰۰ بیمار مبتلا به سرطان کولورکتال مورد بررسی قرار گرفتند. اطلاعات دموگرافیک بیماران در جدول ۳ آورده شده است.



نمودار ۱. نمودار بیان ژن *miR-141* در دو گروه *K-Ras* مثبت و منفی

در بررسی ارتباط بین جهش در کدون ۱۲ و ۱۳ ژن *K-Ras* و سطح تمایز یافتگی نشان داده شد که ارتباط معنی‌داری بین آنها وجود ندارد. در بررسی جهش در این کدون‌ها و گروه‌های سنی بیماران نشان داده شد که ارتباط معنی‌داری بین وجود جهش در کدون ۱۲ ($p=0/03$) و ۱۳ ($p=0/03$) و سن بیماران وجود دارد، به این صورت که این جهش‌ها در گروه سنی بالای ۵۰ سال جهش در نفرت بیشتری رخ داد (جدول ۴).

آنالیز نتایج بیان ژن *miR-141* در نمونه‌های توموری *K-Ras* مثبت نسبت به نمونه‌های توموری *K-Ras* منفی در جدول ۵ نشان داده شده است. بر اساس این نتایج، بیان ژن *miR-141* در نمونه‌های توموری *K-Ras* مثبت، ۱/۵ برابر

جدول ۳. اطلاعات دموگرافیک بیماران (سن، جنسیت، سابقه خانوادگی سرطان، محل سرطان در کولون و تمایز یافتگی تومور)

متغیر	تمام بیماران
سن، سال (میانگین ± انحراف از معیار)	۵۶/۱۹ ± ۱/۳۶ (۲۴-۷۷)
سال	۱۱ (۰/۱۱)
سال	۳۲ (۰/۳۲)
سال	۲۰ (۰/۲۰)
سال	۳۷ (۰/۳۷)
جنسیت، تعداد (٪)	۶۰ (۰/۶۰)
مرد	۴۰ (۰/۴۰)
زن	۴۲ (۰/۴۲)
سابقه خانوادگی سرطان، تعداد (٪)	۲۷ (۰/۲۷)
محل سرطان در کولون، تعداد (٪)	۱۹ (۰/۱۹)
Rectum	۴۵ (۰/۴۵)
Well differentiated	۴۰ (۰/۴۰)
Moderately differentiated	۱۵ (۰/۱۵)
Poorly differentiated	

جدول ۴. ارتباط بین جهش در کدون ۱۲ و ۱۳ ژن *K-Ras* و تمایز یافتگی تومور و گروه سنی بیماران

p-value	جهش در کدون ۱۳		p-value	جهش در کدون ۱۲		متغیر
	Positive	Negative		Positive	Negative	
۰/۹۷	۴	۴۱	۰/۵۳	۷	۳۸	Well differentiated سطح
	۴	۳۶		۱۰	۳۰	Moderately differentiated تمایز یافتگی
	۲	۱۳		۳	۱۲	Poorly differentiated
۰/۰۳	۰	۱۱	۰/۰۳	۲	۹	۲۰-۳۰ سال گروه های سنی
	۲	۳۰		۴	۲۸	۳۰-۴۰ سال
	۱	۱۹		۶	۱۴	۴۰-۵۰ سال
	۷	۳۰		۸	۲۹	< ۵۰ سال

جدول ۵. آنالیز نتایج بیان ژن *K-Ras* در نمونه های توموری

مقایسه	
K-Ras negative تومور	K-Ras positive تومور
Fold Change	۱/۵
p-value	< ۰/۰۰۱
آیا با فرض فاصله اطمینان ۹۵ درصد، تفاوت معنی دار است؟	
	بله

ها دچار اختلال در عملکرد (dysfunction) شده‌اند. شواهد، اهمیت حیاتی آنها را در حفظ رشد طبیعی، تمایز، کنترل رشد، پیری، تعدیل بقای سلولی یا آپوپتوز، و همچنین مهاجرت و متاستاز نشان داده است، زیرا اختلال در تنظیم microRNAها منجر به بروز و پیشرفت سرطان می‌شود. اخیراً microRNAها به عنوان اهداف جذابی برای مداخله درمانی ظاهر شده‌اند. منطق توسعه درمان‌های microRNA بر این فرض استوار است که بیان نابجا microRNA نقش مهمی در پیدایش انواع بیماری‌های انسانی از نقص‌های قلبی عروقی گرفته تا سرطان دارند. در نتیجه دستیابی به نشانگرهای زیستی مبتنی بر microRNA در کلینیک‌ها به عنوان نشانگرهای زیستی غیرتهاجمی جدید در ارزیابی‌های تشخیصی و پیش‌آگهی در نظر گرفته می‌شود (۱۴). به عنوان عضوی از خانواده miRNA، miR-141 به عنوان یک سرکوب کننده یا یک oncomiR در سرطان‌های مختلف عمل می‌کند و تکثیر سلول‌های سرطانی، آپوپتوز، تهاجم و متاستاز را از طریق مسیرهای سیگنالی مختلف، مانند فسفاتیدیل ۳-کیناز (PI3K) تنظیم می‌کند. جایگاه miRNA-141 بر روی کروموزوم ۱۲ انسانی و کروموزوم شماره ۶ موش قرار دارد. MiR-141 به عنوان یک سرکوب کننده تومور در برخی از انواع سرطان و به عنوان oncomiR در برخی دیگر عمل می‌کند. بنابراین، بررسی اثرات دوگانه آن و هدف قرار دادن ژن‌ها به طور جداگانه در سرطان‌های مختلف مهم خواهد بود. همچنین در سال‌های اخیر، داروهای هدفمند در حال ظهور،

میزان بیان آن در نمونه‌های K-Ras منفی است و این افزایش بیان از نظر آماری معنی‌دار بود، به این معنی که در افراد واجد جهش K-Ras میزان بیان ژن *miR-141* به طور معنی‌داری افزایش یافته است (نمودار ۱). به نظر می‌رسد در جمعیت‌های بزرگ‌تر و حجم نمونه بالا و نتایج مشابه در مطالعات دیگر و همچنین تکرار پذیر بودن نتایج می‌توان از miR-141 به عنوان بیومارکر در کمک به تشخیص و پیش-آگهی سرطان کلورکتال بهره برد.

بحث

نشانگرهای زیستی که می‌توانند تشخیص بیماری، مرحله بندی و پیش بینی نتیجه را تسهیل کنند، برای بهبود بقا و کمک به تعیین درمان بهینه در بیماران مبتلا به سرطان روده بزرگ بسیار مطلوب هستند. میکرو RNAها (miRNAs) RNAهای غیر کد کننده کوچک هستند که نقش مهمی در شبکه‌های تنظیم کننده ژن دارند. تنظیم بیان miRNA در انواع مختلفی از سرطان یافت شده است و ممکن است یک کلاس جدید از نشانگرهای زیستی سرطان باشد. خانواده RNA غیر کد کننده دارای حدود ۲۶۰۰ miRNA انسانی است.

در مطالعات قبلی نشان داده شده است که در بسیاری از تومورهای بدخیم انسانی، از جمله سرطان‌های پروستات، کلورکتال، پستان، مثانه، و کبد و تومورهای مغزی، این RNA

گزینه‌های درمانی مؤثری را برای درمان سرطان ارائه کرده‌اند. مطالعات متعدد نشان داده‌اند که miR-141 می‌تواند به عنوان یک سرکوب کننده تومور یا یک عامل انکوژنیک در سرطانهای مختلف عمل کند و ژن‌های هدف و مسیرهای متعدد را تنظیم کند (۱۵).

در مطالعه حاضر، مارکر مولکولی که در مسیرهای پاتوژن سرطان کلورکتال موثر است، با نام *miR-141* مورد بررسی قرار گرفت. این مارکر مولکولی در کنار اطلاعات دموگرافیک، وضعیت بیماری، ویژگی‌های هیستوپاتولوژیک بیماران در مجموع بعنوان یک مجموعه مارکر پیش آگهی دهنده در سرطان کلورکتال مورد بررسی قرار گرفته و بین دو گروه بیمار واجد یا فاقد جهش‌های شایع K-Ras بررسی شد.

در مطالعه حاضر، ۱۰۰ بیمار مبتلا به سرطان کلورکتال مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که اکثر بیماران از نظر تمایز Well differentiated هستند. همچنین بیان ژن *miR-141* در نمونه‌های توموری K-Ras مثبت، ۱/۵ برابر میزان بیان آن در نمونه‌های K-Ras منفی است و این افزایش بیان از نظر آماری معنی‌دار است، به این معنی که در افراد واجد جهش K-Ras میزان بیان ژن *miR-141* به طور معنی‌داری افزایش یافته است.

در مطالعه کاملی نژاد و همکارانش در سال ۲۰۱۶، فراوانی وقوع جهش‌های کدون ۱۲ و ۱۳ در بیماران خوزستانی مبتلا به سرطان کلورکتال تک‌گیر (SCRC) تعیین شد و با میزان آن در سایر نواحی ایران و نیز در دیگر کشورها مقایسه شد. DNA ژنومی از بافتهای توموری ۴۵ بیمار خوزستانی مبتلا به SCRC استخراج شد. جهش‌های نقطه‌ای در این دو کدون با روش PCR/RFLP و سپس غنی‌سازی جهش، شناسایی شد. جهش‌ها با توالی‌یابی به روش *Sanger* تایید شدند. ۱۳/۳ درصد تومورها در کدونهای ۱۲ و ۱۳ ژن KRAS جهش داشتند. این فراوانی با اغلب فراوانی‌های به دست آمده در دیگر کشورها (۳۳-۵۳ درصد) و نیز فراوانی‌های به دست آمده در سایر نقاط ایران (۲۰،۳ و ۲۸ درصد) تفاوت دارد که می‌تواند بر اساس دلایل متعددی از جمله بالا بودن احتمالی وضعیت ناپایداری میکروستلایتی در آنها، حساسیت ناکافی روش غربالگری، فاکتورهای ژنتیکی و محیطی متفاوت از جمله رژیم غذایی سرشاز از امگا-۳ در این جمعیت باشد (۱۶).

همچنین در مطالعه ابوالفضل یاری و همکارانش در سال ۲۰۲۰، در مجموع از ۵۷۳ رکورد، ۲۳ مطالعه واجد شرایط (۲۶۶۲ بیمار) برای استخراج و تحلیل داده‌ها وارد شدند. در ۱۸ مطالعه از ۲۳ مطالعه، وقوع جهش KRAS در کدون ۱۲ و

۱۳ به ترتیب ۷۶/۹٪ (۹۵٪ CI: ۷۰/۴-۸۲/۳) و ۲۳/۵٪ (۹۵٪ CI: ۱۷/۹-۳۰/۳)؛ $p=0/001$ و $85/8=21$ درصد با $p=0/001$ بودند. شیوع این جهش‌ها در بیماران CRC تفاوت معنی‌داری را در مناطق مختلف ایران نشان می‌دهد که احتمالاً ناشی از عوامل محیطی و نژادی است (۱۷).

در مطالعه حاضر نیز فراوانی موتاسیون در این کدون‌های ۱۲ و ۱۳ به ترتیب ۲۰٪ و ۱۰٪ بود که به روش الکتروفورز تایید شد که مشابه نتایج مطالعه مذکور بود.

در مطالعه دکتر صالح و همکارانش در سال ۲۰۱۷، ارتباط جهش‌های ژن K-Ras با ویژگی‌های کلینیکوپاتولوژیکی در بیماران مبتال به سرطان کلورکتال در اصفهان بررسی شد. نتایج نشان داد که در این بررسی شیوع جهش‌های ژن K-Ras ۸ مورد از ۵۲ نفر (۱۵/۴٪) بود. شش جهش از نوع *G12D* و در کدون ۱۲ (۷۵٪) مشاهده شد و دو جهش موجود در کدون ۱۳ (۲۵٪) تنها از نوع *G13D* بودند. شایع‌ترین محل تومور، رکتوم و رکتوسیگموئید بود و میانگین سنی بیماران $61/2 \pm 13/9$ سال با دامنه ۳۱ تا ۸۷ سال به دست آمد. رابطه آماری معنی‌داری بین وجود جهش و هیچ یک از فاکتورهای بالینی و پاتولوژیکی بیمار مشاهده نشد (۱۶). نتایج مطالعه حاضر بر روی ۱۰۰ بیمار مبتلا به سرطان کلورکتال بررسی شد که میانگین سن افراد مورد مطالعه، مربوط ۱/۳۶ $\pm 56/19$ سال بود. بازه سنی از ۲۴ تا ۷۷ سال در این مطالعه به دست آمد. جدول ۳ توزیع سنی بیماران مطالعه را نشان می‌دهد. بر اساس این نتایج، ۱۱ نفر در بازه سنی ۲۰ تا ۳۰ سال، ۳۲ نفر در بازه سنی ۳۰ تا ۴۰ سال، ۲۰ نفر در بازه زمانی ۴۰ تا ۵۰ سال و ۳۷ نفر در بازه سنی بیشتر از ۵۰ سال قرار داشتند. اکثریت بیماران در بازه سنی بالای ۵۰ سال بودند. از نظر سابقه بیماری‌های خانوادگی سرطان، از ۱۰۰ فرد مورد مطالعه، در ۴۲ نفر از بیماران (۴۲٪)، سابقه خانوادگی سرطان دیده شد. نتایج نشان داد که ۹٪ بیماران در کولون صعودی، ۹٪ در کولون نزولی، ۱۹٪ در رکتوم، ۲۷٪ در ناحیه سیگموئید روده، ۸٪ در ناحیه سکوم، ۲٪ در ناحیه ایلیوم، ۱۲٪ در سمت راست روده و ۱۴٪ در سمت چپ روده توده توموری داشتند. بررسی موتاسیون‌های شایع (۲ موتاسیون) در کدون‌های ۱۲ و ۱۳ ژن K-Ras با استفاده از روش Conventional PCR و ژل الکتروفورز انجام شد. نتایج به این صورت است: بر اساس نتایج ژل الکتروفورز، ۲۰٪ از افراد دارای جهش کدون ۱۲ و ۱۰٪ از افراد دارای جهش کدون ۱۳ بودند. در مجموع ۳۰٪ از افراد مورد مطالعه جهش

نشانه‌های تجاری نویدبخش برای غربالگری و پایش بیماران CRC برجسته می‌کنند (۱۸).

در مطالعه Jie Yin و همکارانش در سال ۲۰۱۴ به ارزیابی ارتباط بین الگوهای بیان *miR-31*، *miR-200b*، *miR-200c*، *miR-21*، *miR-141*، *miR-141*، *miR-141* و *miR-141* و *Let7c* و *Let7b* و *Let7a* و تشخیص زودهنگام متاستاز کبد در سرطان کلورکتال (CRC) پرداختند. در این مطالعه محققان بیان مرتبط با متاستاز را در CRC موضعی، متاستاتیک کبد و سایر متاستاتیک اندام‌های متاستاتیک (OM-CRC) بررسی کردند. بیان miRNA‌های هدف در سرم در ۱۱۶ مورد CRC موضعی متوالی (L-CRC)، ۷۲ مورد CRC متاستاتیک کبدی همزمان (SLM-CRC) و ۳۶ مورد OM-CRC دیگر توسط PCR کمی و زمان واقعی مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج این مطالعه نشان داد که هفت مورد از ۱۱ مورد miRNA آزمایش شده را می‌توان از سرم تشخیص داد. چهار miRNA، *miR-126*، *miR-141*، *miR-141* و *miR-21* به عنوان miRNA‌های مرتبط با متاستاز شناسایی شدند. در مقایسه با L-CRC، بیان افزایش قابل توجهی برای *miR-141* و *miR-21* در SLM-CRC و OM-CRC مشاهده شد. بیان پایین تنظیم شده برای *miR-126* در SLM-CRC و OM-CRC مشاهده شد. بیان تنظیم شده *Let-7a* در OM-CRC منحنی مشخصه عملکرد گیرنده (ROC) نشان داد که *miR-126* سرم دارای یک برش با حساسیت ۷۷/۷۸ درصد و ویژگی ۶۸/۹۷ درصد با سطح زیر منحنی (AUC) ۰/۷۵۶۴، *miR-141* دارای یک برش با حساسیت ۸۶/۱۱ درصد و ویژگی ۷۶/۱۱ درصد با AUC ۰/۸۲۷۹، و *miR-21* دارای یک برش با حساسیت ۷۳/۶۱ درصد با ویژگی ۸/۳ درصد بود. از نتایج این مطالعه می‌توان نتیجه گرفت که miRNA‌های سرم *miR-126*، *miR-141* و *miR-21* ممکن است نشانگرهای زیستی جدیدی برای تشخیص بالینی مراحل اولیه CRC متاستاتیک کبدی باشند (۱۹). نتایج این مطالعه همچون مطالعه ما دلالت بر نقش *miR-141* در سرطان دارد. بیان *miRNA-141* با روش PCR Real Time بررسی شد. افزایش بیان *miRNA-141* در نمونه‌های مورد مطالعه مشاهده شد. همچنین میزان بیان *miR-141* در نمونه‌های توموری K-Ras مثبت، ۱/۵ برابر میزان بیان آن در نمونه‌های K-Ras منفی بود و این افزایش بیان از نظر آماری معنی‌دار است.

در مطالعه علیرضا احدی در سال ۲۰۲۰، بیان miRNA‌ها به طور تکرارپذیر در CRC تغییر می‌کند و الگوهای بیان آنها با تشخیص، پیش‌آگهی و نتایج درمانی در CRC مرتبط است. اخیراً مطالعات زیادی در مورد اختلال در تنظیم miRNA‌ها

ژن K-Ras را نشان دادند و در ۷۰٪ از بیماران جهشی در ژن K-Ras دیده نشد. همچنین ارتباط بین جهش در کدون ۱۲ ژن K-Ras و گروه سنی بیماران را نشان می‌دهد. نتایج نشان می‌دهد که ارتباط معنی‌داری بین وجود جهش در کدون ۱۲ و سطح تمایز یافتگی تومور وجود دارد ($p=0/03$). به این صورت در گروه سنی بالای ۵۰ سال جهش در نفرات بیشتری رخ داده است و ارتباط بین جهش در کدون ۱۳ ژن K-Ras و گروه سنی بیماران را نشان می‌دهد. نتایج نشان می‌دهد که ارتباط معنی‌داری بین وجود جهش در کدون ۱۳ و سطح تمایز یافتگی تومور وجود دارد ($p=0/03$). به این صورت در گروه سنی بالای ۵۰ سال جهش در نفرات بیشتری رخ داده است.

در مطالعه Vega و همکارانش در سال ۲۰۱۳ تعیین امضای miRNA تومورهای سرطان روده (CRC) III و شناسایی miRNA‌های گردش خون بالقوه که ممکن است نشانگرهای تجاری غیر تهاجمی در بیماران CRC باشند مورد بررسی قرار گرفت. تجزیه و تحلیل ریزآرایی ژنومی گسترده از بیان miRNA در ۱۲ تومور زوج و بافت‌های پارافین ثابت شده با فرمالین غیر تومور جفت شده از بیماران III مرحله CRC انجام شد. انتخاب miRNA‌های متفاوت بیان شده توسط واکنش زنجیره‌ای پلیمرز کمی زمان واقعی (qRT-PCR) تأیید شد و در سرم مجموعه‌ای از ۵۶ نفر (۳۰ بیمار مبتلا به CRC مرحله III و ۲۶ فرد سالم) تعیین شد. با استفاده از اختلاف بیان ۱/۵ برابر به عنوان سطح برش، ۴۳ miRNA به عنوان متفاوت در تومور در مقابل بافت طبیعی بیان شد. با استفاده از رونویسی معکوس و *qRT-PCR* *miRNA-11* (*miR-135b*، *miR-141*، *miR-18a*، *miR-20a*، *miR-21*، *miR-224*، *miR-29a*، *miR-31*، *miR-34a*، *miR-92a* و *miR-96*) به عنوان قابل توجهی در نمونه‌های تومور بیش از حد در مقایسه با نمونه‌های طبیعی تأیید شد. در این مطالعه ۹ مورد از این ۱۱ miRNA در نمونه‌های سرم از بیماران CRC و افراد سالم تشخیص داده شد. سطح سرمی *miR-18a* و *miR-29a* در مقایسه با سطح کنترل در بیماران CRC به طور معنی‌داری بالاتر بود ($p < 0/05$). در نتیجه، این مطالعه تعداد قابل توجهی از miRNA‌ها را نشان داد که از نظر متفاوتی در تومورهای کلورکتال مرحله III بیان شده‌اند. علاوه بر این، این یافته‌ها اطلاعات مربوط به miRNA‌های توموری بیش از حد سرکوب شده به عنوان نشانگرهای تجاری احتمالی در گردش را ارائه می‌دهند و *miR-18a* و *miR-29a* سرم را به عنوان

به عنوان یک نشانگر زیستی تشخیصی و پیش آگهی در CRC انجام شده است. در میان آنها، برخی از miRNA ها، که شامل miR-21، miR-34، miR-155، miR-224، و miR-378 و miR-141 هستند. نتایج این مطالعه همانند مطالعه ما بر دلالت بر نقش miRNA-141 به عنوان یک miRNA غیر کدکننده در سرطان کلورکتال است (۲۰).

در مطالعه چنگ و همکارانش در سال ۲۰۱۱، پیشنهاد شد که miR-141 پلاسما ممکن است نشانگر زیستی جدیدی باشد که مکمل CEA در تشخیص سرطان روده بزرگ با متاستاز دوردست است و سطوح بالای miR-141 در پلاسما با پیش آگهی ضعیف همراه است. همچنین کل RNA از بافت تومور بیماران متاستاتیک یا غیر متاستاتیک از کوهورت تیانبین جدا شد و سطوح miRNA-141 با RT-PCR کمی با استفاده از B6RNU به عنوان یک کنترل درون زا اندازه گیری شد. تست دو نمونه Wilcoxon برای مقایسه بیان miRNA-141 در بافت تومور بین این دو گروه انجام شد. سطوح بیان miRNA-141 با استفاده از داده های پروفایل microRNA از گروه مرینند از نمونه های CRC اندازه گیری شد. تست های جفت همسان ویلکاکسون برای مقایسه سطوح miRNA-141 بین بافت های تومور و بافت های طبیعی مجاور در این بیماران CRC انجام شد. نتایج این مطالعه نیز همچون مطالعه حاضر معنی دار بود (۲۱).

در مطالعه Jing و همکارانش در سال ۲۰۱۶، اثر تشخیصی و پیش آگهی دهنده miR-372 در نمونه های سرم مبتلابان به سرطان کلورکتال مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که سطح miR-372 سرم یا بافت در بیماران مبتلا به CRC به طور معنی داری در مقایسه با گروه کنترل سالم (HC) یا بافت های نرمال متفاوت است ($P < 0.05$). بیان miR-372 بالا در بافت اولیه سرطان کلورکتال (ECRC) از نظر آماری با اندازه تومور ($P < 0.05$)، مرحله تومور-گره-متاستاز (TNM)

همراه بود و به بقای کلی بدتر منجر شد ($P < 0.05$). سطح miR-372 سرم بعد از عمل در بیماران مبتلا به ECRC در مقایسه با سطح قبل از عمل به طور قابل توجهی کاهش یافت ($p < 0.05$). بیان miR-372 سرم برای تشخیص ECRC 854/0 بود که به طور قابل توجهی بالاتر از نشانگرهای تومور ترکیبی (CEA، CA19-9 و CA12-5) (0.613) بود ($p < 0.05$). حساسیت و ویژگی بیان miR-372 سرم برای تشخیص ECRC $81/9\%$ و $73/3\%$ بود. همه این یافته ها شواهدی را ارائه می دهند که نشان می دهد سرم miR-372 می تواند یک نشانگر نشان دهنده غیر تهاجمی برای تشخیص زودرس و پیش آگهی CRC باشد (۲۲).

در مجموع نتایج مطالعه حاضر نشان داد که فراوانی جهش های رایج ژن K-Ras در جمعیت بیماران سرطان کلورکتال مورد مطالعه با میانگین جمعیت ایرانی همخوانی دارد. همچنین بیان ژن miR-141 در نمونه های توموری K-Ras مثبت، $1/5$ برابر میزان بیان آن در نمونه های K-Ras منفی بود و این افزایش بیان از نظر آماری معنی دار بود. به نظر می رسد می توان از miR-141 بعنوان بیومارکر در کمک به تشخیص و پیش آگهی سرطان کلورکتال بهره برد.

تشکر و قدردانی

این مقاله مستخرج از پایان نامه کارشناسی ارشد نویسنده اول با کد اخلاق IR.IAU.PS.REC.1400.319 است. بدین وسیله نویسندگان از پرسنل محترم آزمایشگاه ژنتیک پزشکی نانو به خصوص جناب آقای عشوری، پرسنل محترم انسیتو کنسر بیمارستان امام حسین (ع)، آقای دکتر ابراهیمی و تمامی بیمارانی که در این مطالعه همکاری داشتند، کمال تشکر و قدردانی را دارند.

REFERENCES

- Ahmed D, Danielsen SA, Aagesen TH, Bretthauer M, Thiis-Evensen E, Hoff G, et al. A tissue-based comparative effectiveness analysis of biomarkers for early detection of colorectal tumors. Clin Translat Gastroenterol 2012;3:e27.
- Jass J, Walsh M, Barker M, Simms L, Young J, Leggett B. Distinction between familial and sporadic forms of colorectal cancer showing DNA microsatellite instability. Eur J Cancer 2002;38:858-66.
- O'Brien J, Hayder H, Zayed Y, Peng C. Overview of microRNA biogenesis, mechanisms of actions, and circulation. Front Endocrinol 2018;9:402.
- Maajani K, Khodadost M, Fattahi A, Shahrestanaki E, Pirouzi A, Khalili F, et al. Survival rate of colorectal cancer in Iran: a systematic review and meta-analysis. Asian Pac J Cancer Prev 2019;20:13.
- Shadmani FK, Ayubi E, Khazaei S, Sani M, Hanis SM, Khazaei S, et al. Geographic distribution of the incidence of colorectal cancer in Iran: a population-based study. Epidemiol Health 2017;39.

6. Sadanandam A, Lyssiotis CA, Homicsko K, Collisson EA, Gibb WJ, Wullschleger S, et al. A colorectal cancer classification system that associates cellular phenotype and responses to therapy. *Nat Med* 2013;19:619-25.
7. Du S, Li Y, Sun H, Deng G, Tang S, Zeng F, et al. The risk of developing second primary malignancies among colorectal cancer patients. *Aging (Albany NY)* 2022;14:6756.
8. Colussi D, Brandi G, Bazzoli F, Ricciardiello L. Molecular pathways involved in colorectal cancer: implications for disease behavior and prevention. *Int J Mol Sci* 2013;14:16365-85.
9. Al-Sohaily S, Biankin A, Leong R, Kohonen-Corish M, Warusavitarne J. Molecular pathways in colorectal cancer. *J Gastroenterol Hepatol* 2012;27:1423-31.
10. Hagland HR, Berg M, Jolma IW, Carlsen A, Søreide K. Molecular pathways and cellular metabolism in colorectal cancer. *Dig Surg* 2013;30:12-25.
11. Prenen H, Tejpar S, Cutsem EV. New strategies for treatment of KRAS mutant metastatic colorectal cancer. *Clin Cancer Res* 2010;16:2921-6.
12. Li W, Qiu T, Zhi W, Shi S, Zou S, Ling Y, et al. Colorectal carcinomas with KRAS codon 12 mutation are associated with more advanced tumor stages. *BMC Cancer* 2015;15:1-9.
13. Hood FE, Sahraoui YM, Jenkins RE, Prior IA. Ras protein abundance correlates with Ras isoform mutation patterns in cancer. *Oncogene* 2023;42:1224-32.
14. Karkhane M, Lashgarian HE, Hormozi M, Fallahi S, Cheraghpour K, Marzban A. Oncogenesis and tumor inhibition by microRNAs and its potential therapeutic applications: a systematic review. *MicroRNA* 2020;9:198-215.
15. Luo Q-q, Tian Y, Qu G-j, Luo S-s. Functional mechanism and clinical implications of miR-141 in human cancers. *Cell Signal* 2022;95:110354.
16. Hamzehzadeh L, Khadangi F, Karimiani EG, Pasdar A, Kerachian MA. Common KRAS and NRAS gene mutations in sporadic colorectal cancer in Northeastern Iranian patients. *Curr Probl Cancer* 2018;42:572-81.
17. Yari A, Afzali A, Aalipour M, Nakheai M, Zahedi MJ. KRAS and BRAF mutations in Iranian colorectal cancer patients: A systematic review and meta-analysis. *Caspian J Intern Med* 2020;11:355.
18. Vega MYE. Con la esperanza de volver: mujeres migrantes de retorno a El Salvador. *Anuario Americanista Europeo*. 2013;11:165-77.
19. Yin J, Bai Z, Song J, Yang Y, Wang J, Han W, et al. Differential expression of serum miR-126, miR-141 and miR-21 as novel biomarkers for early detection of liver metastasis in colorectal cancer. *Chinese J Cancer Res* 2014;26:95.
20. Ahadi A. The significance of microRNA deregulation in colorectal cancer development and the clinical uses as a diagnostic and prognostic biomarker and therapeutic agent. *Non-coding RNA Res* 2020;5:125-34.
21. Cheng H, Zhang L, Cogdell DE, Zheng H, Schetter AJ, Nykter M, et al. Circulating plasma MiR-141 is a novel biomarker for metastatic colon cancer and predicts poor prognosis. *PLoS One* 2011;6:e17745.
22. Yu J, Jin L, Jiang L, Gao L, Zhou J, Hu Y, et al. Serum miR-372 is a diagnostic and prognostic biomarker in patients with early colorectal cancer. *Anticancer Agents Med Chem* 2016;16:424-31.