

## مقاله مروری

## پلی مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی در miRNAهای مرتبط با عملکرد سیستم رنین-آنژیوتانسین در بیماری کارسینوم سلول شفاف کلیه: یک رویکرد بیوانفورماتیک

پگاه موسوی<sup>۱</sup>، سودابه ثابتیان<sup>۲</sup>، اقدس دهقانی<sup>۳\*</sup>

۱. مرکز تحقیقات پزشکی مولکولی، پژوهشکده سلامت هرمزگان، دانشگاه علوم پزشکی هرمزگان، بندرعباس، ایران

۲. مرکز تحقیقات ناباروری، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران

۳. مرکز تحقیقات غدد و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی هرمزگان، بندرعباس، ایران

پذیرش: ۳ شهریور ۱۴۰۳

دریافت: ۸ مرداد ۱۴۰۳

## چکیده

کارسینوم کلیوی سلول شفاف (KIRC) شایعترین نوع سرطان کلیه است و پیش‌آگهی ضعیفی با نرخ بقای کلی پایین دارد که منجر به مرگ هزاران نفر می‌شود. سیستم رنین آنژیوتانسین به دلیل نقش تنظیمی خود در عملکردهای کلیوی شناخته شده است و مشخص شده که به طور قابل توجهی در پاتوژنز تومورهای بدخیم دخالت دارد. برای شناسایی نشانگرهای زیستی جدید، نیاز اساسی به درک مکانیسم‌های مولکولی KIRC وجود دارد. در حالی که microRNA به عنوان یک نشانگر زیستی و ابزار پیش‌آگهی برای سرطان‌های مختلف مورد مطالعه قرار گرفته است، کشف نقش آن در سرطان کلیه همچنان چالش برانگیز است زیرا یک microRNA واحد می‌تواند چندین ژن را در شبکه‌ها و مسیرهای بیولوژیکی هدف قرار دهد. سیستم رنین-آنژیوتانسین-آلدوسترون (RAAS)، یک سیستم با نقش‌های اساسی در بیولوژی سرطان است که بر رشد سلولی، مهاجرت، مرگ و متاستاز تأثیر می‌گذارد. هدف این مطالعه تحلیل نظری تأثیر بالقوه پلی‌مرفیسم‌های تک نوکلئوتیدی (SNPs) در miRNAهای مرتبط با ژن‌های دخیل در مسیر رنین-آنژیوتانسین در بیماری کارسینوم سلول شفاف کلیه می‌باشد. برای تحقق این هدف، چندین ابزار آنلاین، از جمله miRTarBase، miRNASNPV3، CancerMIRNome و UALCAN مورد استفاده قرار گرفتند. این مطالعه، فهرستی از SNP‌های تایید شده را ارائه می‌کند که ممکن است بر بیان یا عملکرد miRNAهای مرتبط با مسیر رنین-آنژیوتانسین در بیماری کارسینوم سلول شفاف کلیه تأثیر بگذارد. همچنین این اطلاعات برای مطالعه آزمایشگاهی آینده-نگر در تشخیص و مدیریت درمان کارسینوم سلول شفاف کلیه مفید خواهد بود.

واژه‌های کلیدی: بیماری کارسینوم سلول شفاف کلیه، پلی‌مرفیسم‌های تک نوکلئوتیدی، سیستم رنین-آنژیوتانسین، miRNA

## مقدمه

کلیه، گروهی ناهمگن از تومورها با بافت‌شناسی، ویژگی‌های مولکولی، نتایج بالینی و پاسخ به درمان متفاوت است. RCC حدود ۹۰ درصد از سرطان‌های کلیه را تشکیل می‌دهد. سه نوع اصلی سرطان کلیه عبارتند از: کارسینوم سلول شفاف کلیه یا (KIRC)<sup>۲</sup> یا RCC سلول شفاف (ccRCC)، که ۷۰ تا ۷۵ درصد از سرطان‌های کلیه را تشکیل می‌دهد. کارسینوم سلول پاپیلاری کلیه یا pRCC پاپیلاری یا KIRP حدود ۱۶-۱۰ درصد از تمام سرطان‌های کلیه را تشکیل می‌دهد و

کارسینوم سلول کلیه (RCC) که معمولاً به عنوان سرطان کلیه شناخته می‌شود، یک تومور بدخیم از اپیتلیوم پوشاننده لوله‌های کلیوی است. RCC درصد قابل توجهی از سرطان‌های بزرگسالان (نزدیک به ۳/۸ درصد) را تشکیل می‌دهد و هر ساله تعداد قابل توجهی از موارد جدید و مرگ و میر ناشی از RCC گزارش می‌شود. تخمین اخیر انجمن سرطان آمریکا نشان می‌دهد که در سال ۲۰۲۳ حدود ۸۱۸۰۰ مورد جدید و ۱۴۸۹۰ مرگ ناشی از RCC وجود داشته است [۱]. سرطان

<sup>2</sup> Kidney Renal Clear Cell Carcinoma

<sup>1</sup> Renal cell carcinoma

همچنین کروموفوب RCC یا chRCC، که ۵ درصد از همه سرطان‌های کلیه را تشکیل می‌دهد [۲]. کارسینوم سلول شفاف کلیه شایع‌ترین نوع سرطان کلیه است که سالانه باعث مرگ هزاران نفر می‌شود و پیش‌آگهی ضعیفی دارد، معمولاً بدترین میزان بقای کلی را دارد [۳].

سیستم رنین-آنژیوتانسین (RAS) به‌عنوان یک سیستم آبشاری با مجموعه‌ای از ترکیبات با دو بازوی وازو کانستریکتور و وازودیلاتور مطرح است. از آنجایی که اجزای این سیستم بطور موضعی در بافت کلیه به فراوانی یافت می‌شود، بنابراین تعادل بین این دو بازو در همودینامیک کلیه بسیار حایز اهمیت است. محور وازوکانستریکتوری شامل آنژیوتانسین ACE-II<sup>۳</sup>-گیرنده<sup>۴</sup> AT1 و محور وازودیلاتوری شامل آنژیوتانسین<sup>۵</sup> Mas-گیرنده<sup>۵</sup> ACE2-(۷-۱) RAS بستگی به نسبت فعالیت آنزیم‌های ACE/ACE2 و همچنین تولید آنژیوتانسین II دارد. اگر فعالیت آنزیم ACE و آنژیوتانسین II مخصوصاً در کلیه بیشتر شود، منجر افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن، مدياتورهای التهابی و سیتوکین‌های پروفیبروتیک می‌شود [۴-۶]. مطالعات نشان دادند آنژیوتانسین از طریق گیرنده AT1 ریسک آنژیوژنز، فیبروز، تومور و متاستاز را افزایش می‌دهد [۷-۹]. بنابراین سیستم رنین-آنژیوتانسین می‌تواند نقش مهمی در پاتوفیزیولوژی سرطان مخصوصاً در کلیه داشته باشد که با شناخت مسیرهای تنظیمی ژن‌های مرتبط با این سیستم می‌توان روش‌های تشخیصی و پیشگیری مناسبی در جهت کنترل و درمان این بیماری خطرناک و تهدیدکننده حیات توسعه و طراحی کرد.

نکته مهم اینکه با افزایش انتخاب روش‌های درمانی که به‌طور بالقوه بقا را بهبود می‌بخشد، پیش‌بینی نتیجه بالینی بیماران RCC از مزایای بالینی بزرگی برخوردار است. مطالعه پروفایل بیان microRNAها (miRNAها) با استفاده از ریزآرایه تکنیک‌های یا real-time PCR، ارتباط قابل‌توجهی را بین بیان miRNA و علت و پیش‌آگهی سرطان‌های مختلف نشان داده است. علاوه بر این، شناسایی واریانت‌های ژنتیکی ژرم لاین که پیامد بالینی RCC را پیش‌بینی می‌کنند، به رویکردی امیدوارکننده تبدیل شده است که مکمل بیومارکرهای

سوماتیک است. اگرچه پلیمرفیسیم‌های ژنتیکی به‌طور گسترده در پاسخ به درمان سرطان نقش دارند، تاکنون اطلاعات کمی در مرتبط با واریانت‌های ژنتیکی miRNA وجود دارد [۱۰].

microRNAها (miRNAها) به‌عنوان RNAهای غیر کدکننده کوچکی هستند که در تنظیم بیان ژن نقش دارند. miRNAها مولکول‌های RNA کوتاهی با طول ۱۹ تا ۲۳ هستند که از طریق کنترل بیان ژن‌های مختلف در بسیاری از فرآیندهای فیزیولوژیکی بدن نقش اساسی دارند. بسیاری از این miRNAهای شناخته شده از اهمیت ویژه‌ای در فرایند، تمایز و پاسخ سیستم ایمنی بدن در شرایط استرس برخوردار هستند. در سال‌های اخیر، مطالعات عمیق بر نقش miRNAها در بیماری‌های پیچیده مانند بیماری‌های خودایمنی و انواع سرطان تأکید شده است [۱۱، ۱۲]. بسیاری از miRNAها در انواع مختلفی از فرآیندهای مختلف از جمله تکثیر سلولی، مرگ سلولی، متابولیسم لیپیدها، الگوی عصبی، تمایز سلول‌های خونی و ایمنی فعالیت می‌کنند [۱۳]. آن‌ها می‌توانند بیان ژن را از راه‌های مختلف به تنظیم کنند. miRNAها با اتصال به ناحیه به ناحیه غیرقابل ترجمه سمت ۳' از mRNAهای ژن‌های هدف یا از فرآیند ترجمه ممانعت کرده و یا منجر به القای تخریب mRNA می‌گردد. بدین شیوه و در نهایت منجر به تنظیم بیان ژن‌ها در مرحله پس از رونویسی می‌شود و نقش مهم و اساسی خود را در بیولوژی سلول در تنظیم مسیرهای پیام‌رسانی ایفا می‌کنند. همچنین مطالعاتی وجود دارد که نقش miRNAها را در پیرایش متناوب ژن‌های مختلف نشان می‌دهد، که عملکرد متفاوتی از آن‌ها را نشان می‌دهد [۱۴]. جفت شدن بین توالی mRNA هدف و توالی seed در miRNA به طول ۶-۸ نوکلئوتید، مهمترین ویژگی را برای پیش‌بینی و شناسایی جایگاه هدف miRNA ارائه می‌دهد [۱۵]. اتصال توالی seed به هدف mRNA می‌تواند کامل یا ناقص باشد. به دلیل اهمیت توالی miRNA در نوع اتصال و عملکرد آن بر روی mRNA هدف، SNPهای موجود در miRNAها حائز اهمیت هستند و باید قبل از مطالعات به‌خصوص بیان ژن ارزیابی شوند. این SNPها باعث اتصال miRNA به‌صورت ضعیف‌تر یا قوی‌تر به mRNA هدف می‌شود، در نتیجه بر تنظیم بیان آن تأثیر می‌گذارد. اختلال در فرآیندهای تنظیم بیان از RNAهای غیر کدکننده، به‌ویژه miRNAها در پیشرفت بیماری‌های مختلف نقش دارند [۱۶].

<sup>3</sup> Angiotensin converting enzyme

<sup>4</sup> Angiotensin receptor type 1

<sup>5</sup> Angiotensin receptor type 2

از پایگاه داده CancerMIRNome که بر پایه داده‌های مربوط به اطلس ژنومی سرطان TCGA<sup>9</sup> می‌باشد، بدست آمدند. معیار  $|\log\text{Fold change}| \geq 1$  و p-value تنظیم شده<sup>10</sup> کمتر از 0/01 به عنوان حد آستانه معنی‌داری داده‌ها از نظر آماری برای تعیین miRNA بیان شده تفاضلی در بیماری کارسینوم سلول شفاف کلیه در نظر گرفته شد [19].

### لیست SNPهای موجود در پیش ساز miRNAهای مرتبط با مسیر رنین-آنژیوتانسین در بیماری کارسینوم سلول شفاف کلیه

پایگاه داده miRNASNPV3 <http://bioinfo.life.hust.edu.cn/miRNASNP#!/> لیستی از SNPهای موجود در بخش‌های مختلف pre-miRNAهای انسان و سایر گونه‌ها را ارائه می‌دهد. علاوه بر آن امکان بررسی تأثیر بالقوه SNPها در فرایند بلوغ و عملکرد miRNA (در مناطق seed در miRNA یا مناطق غیرقابل ترجمه سمت 3' mRNAهای ژن‌های هدف آنها) و بر احتمال کسب عملکرد جدید 11 miRNAها (احتمال میانکنش آل جهش یافته 11 miRNA با مناطق غیرقابل ترجمه سمت 3' mRNAهایی که هدف آل نرمال 12 miRNA نیستند) و احتمال ازدست‌رفتن عملکرد 13 miRNAها (عدم شناسایی و عدم میانکنش آل جهش‌یافته miRNA با مناطق غیرقابل ترجمه سمت 3' مربوط به mRNAهای هدف) فراهم است [20].

### لیست SNPهای موجود در پیش‌ساز miRNAهای مرتبط با مسیر رنین-آنژیوتانسین در بیماری کارسینوم سلول شفاف کلیه

تجزیه و تحلیل اثرات عملکردی SNPها بر پایداری ساختار miRNA بسیار مهم است. با استفاده از ماژول "ClinVAR" از سرور [https://miRNASNPV33.guolab.wchscu.cn/miRNASNP#!/mutation\\_summary](https://miRNASNPV33.guolab.wchscu.cn/miRNASNP#!/mutation_summary) لیستی از واریانتهای ژنتیکی تکنوکلوتیدی بدست آمد که با سرطان مرتبط می‌باشد. در این پایگاه داده، اطلاعات

و برخی از آنها به‌عنوان نشانگرهای زیستی تشخیصی، پیش‌آگهی یا پیش‌بینی‌کننده استفاده می‌شوند. با این وجود، اکنون، نشانگرهای زیستی دقیق و قوی برای تشخیص KIRC شناسایی نشده است [17]. بنابراین، نیاز شدید به تحقیقات پایدار در این زمینه هنوز مورد نیاز است و شناسایی یک نشانگر زیستی حساس به تشخیص به‌موقع بیماران KIRC و پیشگیری از متاستاز کمک می‌کند. بنابراین هدف این مطالعه تجزیه و تحلیل بیوانفورماتیکی اثر عملکردی<sup>6</sup> SNP در miRNAهای مرتبط با ژن‌های دخیل مسیر رنین-آنژیوتانسین در بیماری کارسینوم سلول شفاف کلیه را کنترل می‌کند.

## مواد و روش‌ها

### جمع‌آوری داده‌ها

### انتخاب miRNAهای مرتبط با مسیر رنین-

### آنژیوتانسین

#### MiRTarBase

[https://mirtarbase.cuhk.edu.cn/~miRTarBase/miRTarBase\\_2022/php/index.php](https://mirtarbase.cuhk.edu.cn/~miRTarBase/miRTarBase_2022/php/index.php) یکی از محبوب‌ترین پایگاه‌های داده‌ای است که اطلاعات مربوط به برهمکنش‌های mRNA-miRNA با تاییدیه آزمایشگاهی را ارائه می‌دهد که به صورت نامحدود قابل دانلود هستند. drffداده‌های آزمایشی مورد اشاره در mirTarbase شامل حدود 30 نوع مختلف مانند: سنجش گزارشگر، وسترن بلات، CLIP<sup>7</sup> و غیره می‌باشد [18]. بدین منظور با استفاده از پایگاه داده miRTarBase، لیست miRNAهای مرتبط با مسیر رنین-آنژیوتانسین، از طریق گزینه "by pathway" را بدست آورده شد. از miRNAهای با بیان افتراقی در کارسینوم سلول شفاف کلیه از پایگاه داده CancerMIRNome و miRNAهای مرتبط با مسیر رنین آنژیوتانسین با استفاده از ابزار Venny 2.1، اشتراک گرفته شد.

### فهرست miRNAهای با بیان افتراقی در بیماری کارسینوم سلول شفاف کلیه

در این مطالعه، تمام مولکول‌های miRNA با الگوهای بیان افتراقی<sup>8</sup> در بیماری کارسینوم سلول شفاف کلیه با استفاده

<sup>9</sup> The Cancer Genome Atlas

<sup>10</sup> Adjusted p-value

<sup>11</sup> Mutant

<sup>12</sup> Wild-type

<sup>6</sup> Functional effect

<sup>7</sup> Cross-linking immunoprecipitation

<sup>8</sup> Differentially expressed

بیان شده تفاضلی در بیماری کارسینوم سلول شفاف کلیه در نظر گرفته شد. نمودار آتشفشانی مربوط به miRNAهای با بیان افتراقی در بیماری کارسینوم سلول شفاف کلیه در شکل ۱ نشان داده شده است. جهت بدست آوردن microRNAهای مرتبط با مسیر پیام‌رسانی رنین-آنژیوتانسین با بیان افتراقی در بیماری کارسینوم سلول شفاف کلیه، اشتراک بین miRNAهای با بیان افتراقی در کارسینوم سلول شفاف کلیه را از پایگاه داده CancerMIRNome و microRNAهای مرتبط با مسیر پیام‌رسانی رنین-آنژیوتانسین بدست آمده از پایگاه داده miRTarBase، با استفاده از ابزار Venny 2.1 بدست آوردیم (شکل ۲). در این مرحله، فهرستی از ۱۴ microRNA شامل hsa-miR-200c-، hsa-miR-155-5p-، hsa-miR-3p-، hsa-miR-16-1-3p-، hsa-miR-1-3p-، hsa-miR-144-3p-، hsa-miR-125b-5p-، hsa-miR-26a-1-3p-، hsa-miR-335-5p-، hsa-miR-122-، hsa-miR-142-3p-، hsa-miR-215-5p-، hsa-miR-5p-، hsa-miR-16-5p-، hsa-miR-1296-5p- و hsa-let-7e-5p- بدست آمد. اطلاعات پایه برای این ۱۴ microRNA مرتبط با مسیر رنین-آنژیوتانسین در بیماری کارسینوم سلول شفاف کلیه، از جمله شناسه پیش‌ساز، شماره دسترسی، جایگاه ژنومی، ژن میزبان، miRNA بالغ در جدول ۱ نشان داده شده است.

### بررسی اثر عملکردی SNPهای موجود در ژن‌های miRNA

در مرحله بعد، SNPها در ژن‌های miRNA مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. از miRNA SNPV3.0، پایگاه داده SNPها در miRNA برای جستجوی SNPها در قسمت‌های مختلف miRNAها استفاده شد. این سرور از طریق دو ابزار پیش‌بینی هدف پایین‌دست miRNA، TargetScan و miRmap، پیش‌بینی از دست‌رفتن mRNA هدف پایین دست اصلی و بدست‌آوردن mRNA غیرهدف جدید مرتبط با miRNAها، را انجام می‌دهد. اگر یک ژن هدف از miRNA برای آلل نوع نرمال در هر دو سرور نشان داده شود، اما در آلل جهش یافته در نظر گرفته نشود، miRNA این ژن هدف را از دست داده است. برعکس، اگر یک ژن هدف برای آلل جهش یافته در هر دو سرور نشان داده شود، اما در نوع

مربوط به واریانت‌های تک‌نوکلئوتیدی مرتبط با بیماری (DRVs) که در pre-miRNAها و ژن 3' UTRs وجود دارد. جهت سازمان‌دهی این مازول، اطلاعات پاتولوژیک حاوی ۲۳۲۹۲۷ جهش از COSMIC، اطلاعات بیماری ۳۷۴۰۵ واریانت از ClinVar و اطلاعات بیماری/ویژگی ۲۳۵۰۸۵ SNP از کاتالوگ GWAS استفاده شده است.

### تجزیه و تحلیل غنی‌سازی عملکردی miRNAهای مرتبط با مسیر پیام‌رسانی رنین-آنژیوتانسین در بیماری کارسینوم سلول شفاف کلیه

تجزیه و تحلیل غنی‌سازی مجموعه ژنی (GSEA) ۱۳ یک ابزار قدرتمند برای مرتبط کردن فنوتیپ بیماری به گروهی از ژن‌ها/پروتئین‌ها است [۲۱]. ما از پایگاه داده Ncpath (<http://ncpath.pianlab.cn>) برای مصورسازی و تجزیه و تحلیل غنی‌سازی مسیرهای پیام‌رسانی مجموعه miRNAهای مرتبط با مسیر رنین-آنژیوتانسین در بیماری کارسینوم سلول شفاف کلیه استفاده کردیم که بر پایه اطلاعات استخراج شده از پایگاه داده KEGG ۱۴ است که شامل پنج دسته اصلی اطلاعات مربوط به انسان می‌شود، به‌ویژه: پردازش اطلاعات ژنتیکی، پردازش اطلاعات محیطی، فرآیندهای سلولی، سیستم‌های ارگانیسمی و بیماری‌های انسانی را دربر می‌گیرد [۲۲].

### نتایج

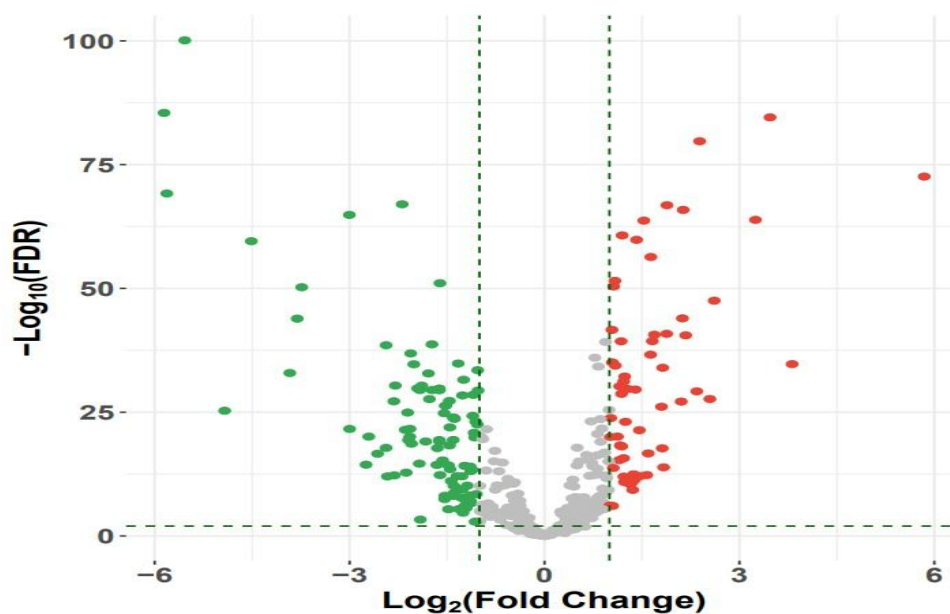
#### لیست miRNA با بیان افتراقی در بیماری کارسینوم سلول شفاف کلیه

در این مطالعه، لیستی از ۱۵۶ microRNA که در تعامل با ژن‌های مسیر پیام‌رسانی رنین-آنژیوتانسین می‌باشند، از طریق سرور miRTarBase، بدست آمد. در مرحله بعدی، تمام مولکول‌های miRNA با الگوهای بیان افتراقی با استفاده از پایگاه داده CancerMIRNome (<http://bioinfo.jialab.ucr.org/CancerMIRNome/>) که بر پایه داده‌های مربوط به اطلس ژنومی سرطان TCGA می‌باشد، با معیار  $\log_{2} \text{Fold} \geq 1$  و  $|\text{change}| \geq 0.1$  به‌عنوان حد آستانه معنی‌داری داده‌ها از نظر آماری برای تعیین miRNA

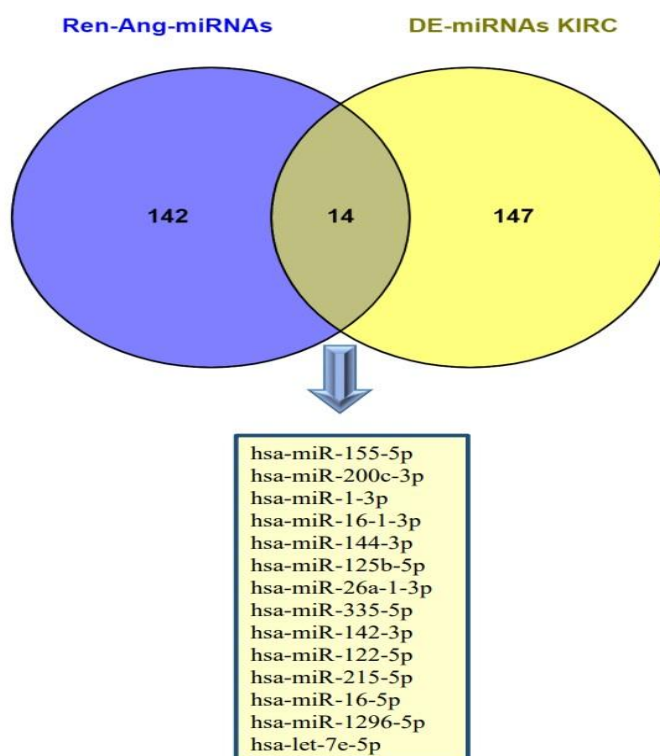
<sup>13</sup> Gene set enrichment analysis

<sup>14</sup> Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes

<sup>15</sup> Host gene



شکل ۱- نمودار آتشفشانی مربوط به miRNA های با بیان افتراقی در بیماری کارسینوم سلول شفاف کلیه بدست آمده از پایگاه داده CancerMIRNome. miRNA های با بیان بالا و پایین بترتیب با رنگ قرمز و سبز نشان داده شده است.



شکل ۲- اشتراک بین miRNA های با بیان افتراقی در کارسینوم سلول شفاف کلیه بدست آمده از پایگاه داده CancerMIRNome و microRNA های مرتبط با مسیر پیام رسانی رنین-آنژیوتانسین بدست آمده از پایگاه داده miRTarBase، با استفاده از ابزار Venny 2.1.

جدول ۱ - اطلاعات پایه در مورد miRNAهای مرتبط با مسیر رنین-آنژیوتانسین در بیماری کارسینوم سلول شفاف کلیه

miRNA بالغ	پیش‌ساز شناسه miRNA	جایگاه ژنومی	ژن میزبان	خوشه ژنی (Cluster)
hsa-miR-155-5p	hsa-miR-155	chr21:25573980-25574044[+]	Intergenic	
hsa-miR-200c-3p	hsa-miR-200c	chr12:6963699-6963766[+]	Intergenic	5kb:hsa-miR-141, hsa-miR-200c 10kb:hsa-miR-141, hsa-miR-200c
hsa-miR-1-3p	hsa-miR-1-1	chr20:62554306-62554376(+)	Intergenic	
	hsa-miR-1-2	chr18:21829004-21829088(-)	MIB1:Intronic	5kb:hsa-miR-1-2, hsa-miR-133a-1 10kb:hsa-miR-1-2, hsa-miR-133a-1
hsa-miR-16-1-3p	hsa-miR-16-1	chr13:50048973-50049061[-]	Intergenic	5kb:hsa-miR-15a, hsa-miR-16-1 10kb:hsa-miR-15a, hsa-miR-16-1
hsa-miR-144-3p	hsa-miR-144	chr17:28861533-28861618[-]	Intergenic	5kb:hsa-miR-144, hsa-miR-451a, hsa-miR-451b, hsa-miR-4732 10kb:hsa-miR-144, hsa-miR-451a, hsa-miR-451b, hsa-miR-4732
hsa-miR-125b-5p	hsa-miR-125b-1	chr11:122099757-122099844[-]	Intergenic	
hsa-miR-26a-1-3p	hsa-miR-26a-1	chr3:37969404-37969480[+]	CTDSPL: Intronic	
hsa-miR-335-5p	hsa-miR-335	chr7:130496111-130496204[+]	MEST:Intronic	
hsa-miR-142-3p	hsa-miR-142	chr17:58331232-58331318[-]	Intergenic	5kb:hsa-miR-142, hsa-miR-4736 10kb:hsa-miR-142, hsa-miR-4736
hsa-miR-122-5p	hsa-miR-122	chr18:58451074-58451158[+]	Intergenic	5kb:hsa-miR-122, hsa-miR-122b 10kb:hsa-miR-122, hsa-miR-122b
hsa-miR-215-5p	hsa-miR-215	chr1:220117853-220117962[-]	IARS2:Intronic	5kb:hsa-miR-194-1, hsa-miR-215 10kb:hsa-miR-194-1, hsa-miR-215
hsa-miR-16-5p	hsa-miR-16-1	chr13:50048973-50049061[-]	Intergenic	
hsa-miR-1296-5p	hsa-miR-1296	chr10:63372957-63373048[-]	JMJD1C:Intronic	
hsa-let-7e-5p	hsa-let-7e	chr19:51692786-51692864[+]	SPACA6:Intronic	5kb:hsa-let-7e, hsa-miR-125a, hsa-miR-99b 10kb:hsa-let-7e, hsa-miR-125a, hsa-miR-99b

آنلاین RNAfold، از نوع نرمال و SNP-miRNA بود. علاوه بر این، ما جایگاه دقیق SNP ها و آلل‌های جایگزین را نشان دادیم. جایگاه SNPها با Pre-miRNA، miRNA بالغ یا توالی seed نشان داده می‌شود. چندین فهرست SNPهای در pre-miRNA، miRNA بالغ و ناحیه seed در جدول ۲ نشان داده شده است. hsa-miR-16-1 و hsa-miR-142 به ترتیب

نرمال آلل نشان داده نشود، miRNAهای جهش یافته دارای SNP به یک ژن هدف دست می‌یابند. تجزیه و تحلیل اثر عملکردی بر پردازش پیش‌ساز miRNA (برای تولید miRNA بالغ) از طریق محاسبه  $\Delta G$  انجام شد که تفاوت بین حداقل انرژی آزاد ۱۶ (MFE)، پیش‌بینی شده توسط سرور

<sup>16</sup> Minimal free energy

از آنجایی که مقدار  $\Delta G$  مربوط به واریانت‌های با شناسه COSN23020948 مربوط به hsa-miR-1-1، COSN23020948 مربوط به hsa-miR-125b-1، COSN20056984 مربوط به hsa-miR-142 و COSN23285338 مربوط به hsa-let-7e منفی بود، بنظر می‌رسد این واریانت‌ها اثر مثبت بر پایداری miRNA داشته باشند. این نتایج در جدول ۳ نمایش داده شده است.

### تجزیه و تحلیل غنی‌سازی عملکردی miRNAهای مرتبط با مسیر پیام‌رسانی رنین-آنژیوتانسین در بیماری کارسینوم سلول شفاف کلیه

تجزیه و تحلیل غنی‌سازی عملکردی miRNAهای مرتبط با مسیر پیام‌رسانی رنین-آنژیوتانسین در بیماری کارسینوم سلول شفاف کلیه نشان داد که این مولکول‌ها علاوه بر سرطان کلیه در اکثر سرطان‌ها (سرطان کولورکتال، معده، کبد، پانکراس، لوکمی میلوئیدی حاد) دخیل هستند، همچنین در مسیرهای کلیدی و مهمی از جمله مسیرهای پیام‌رسانی AGE-RAGE در عوارض دیابت، TNF، Prolactin، FoxO، گیرنده سلول T، تنظیم‌کننده پرتوانی سلول‌های بنیادی، پیری سلول، اینترلوکین ۱۷، گیرنده شبه Toll، HIF-1، AMPK، Chagas، تمایز استئوکلاست، PI3K-Akt و غیره نقش مهمی را ایفا می‌کنند (شکل ۴).

### بحث

مطالعات جدید نشان می‌دهند که miRNAها نقش اساسی در شروع، پیشرفت و حتی کنترل انواع سرطان‌ها دارند، بنابراین می‌توانند اهداف درمانی مناسبی برای این بیماری‌ها باشند از طرفی SNPها می‌توانند با تغییر در عملکرد محصول بیان یک ژن سبب بیماری شوند [۲۳، ۲۴]. با تجزیه و تحلیل عملکرد SNPهای موجود در miRNAها و بیان آنها، می‌توان مسیر جدیدی را برای تعیین بیومارکرهایی برای شناسایی، تشخیص و درمان بیماری‌ها مخصوصاً سرطان ایجاد نمود. علی‌رغم تحقیقات سال‌های اخیر در زمینه نقش پلیمرفیسیم‌ها بر بیماری‌ها، مکانیسم‌های مولکولی تاثیر SNP به‌طور کامل شناسایی نشده است اما ابزارهای بیوانفورماتیک الگوها و الگوریتم‌های کارآمدی برای مشخص کردن اثرات این فاکتورهای تنظیمی ارائه داده‌اند. در واقع، نواحی اتصال

دارای بیشترین پلیمرفیسیم در قسمت‌های بالادست و پایین دست miRNAها در حالت pre-miRNA و بالغ هستند، درحالی که برخی از آنها miRNAها فاقد SNP هستند، به‌عنوان مثال hsa-miR-1-3، hsa-miR-26a-1. یک نوع در hsa-miR-1296 (rs1201046688) دارای بیشترین  $\Delta G$  منفی (-۵) با نرخ بیان بالای miRNA بالغ است، درحالی که SNPهای دیگر (rs1466815657) در hsa-miR-200c دارای بیشترین  $\Delta G$  (۶/۹) که بیانگر میزان بیان کم miRNA در حالت بالغ هستند، نتایج بررسی در جدول ۲ آورده شده است.

### فهرست SNPهای موجود در پیش‌ساز miRNAهای مرتبط با مسیر رنین-آنژیوتانسین در بیماری کارسینوم سلول شفاف کلیه دارای اثرگذاری بر ساختار miRNA

با استفاده از ماژول "ClinVAR" از سرور miRNASNPV3 تجزیه و تحلیل اثرات SNPها بر پایداری ساختار ثانویه ۱۴ microRNAها انجام شد و فهرستی از واریانت‌های تک‌نوکلئوتیدی بدست آمد که ممکن است بر پایداری ساختارهای ثانویه بهینه RNA یا توالی DNA تک‌رشته‌ای اثر بگذارند و با بیماری سرطان نیز همراهی داشته باشند. شکل ۳ مثالی از محاسبه پایداری miRNA را نشان می‌دهد. با استفاده از این ماژول ساختار سنجاق سر pre-miR و حداقل انرژی آزاد (MFE) ترمودینامیکی ( $\Delta G$ ) (حاصل تفریق حداقل انرژی آزاد آل‌های ALT (موتانت یا جهش‌یافته) و WT (نرمال) را می‌توان پیش‌بینی کرد: (۱) با آل نوع نرمال و (۲) با آل جهش‌یافته. از آنجایی که انتظار می‌رود ساختار pre-miRNA از نظر ترمودینامیکی با حداقل انرژی آزاد (MFE) کمتر پایدارتر باشد، بنابراین هر چه مقدار  $\Delta G$  بیشتر باشد، نشان‌دهنده این است که حداقل انرژی آزاد (MFE) آل موتانت بزرگتر از آل نرمال است، و اثرات منفی بر پایداری ساختار miRNAها دارد. همانطور که در نتایج قابل مشاهده است، بیشترین تفاوت بین  $\Delta G$  آل‌های WT و ALT با شناسه COSN1342583 به میزان ۶/۶ کیلوکالری بر مول در hsa-miR-335 دیده شد. درحالی که از نظر تئوریک تغییر در  $\Delta G$  آل‌های WT و ALT واریانت‌هایی با شناسه COSN1083056 در hsa-miR-125b-2 و COSN25221675 در hsa-miR-142 ایجاد نمی‌شود.

**جدول ۲-** فراوانی، موقعیت، آلل، ناحیه و آنتالپی miRNA.SNPv3 SNP های مرتبط با مسیر رنین-آنژیوتانسین در بیماری کارسینوم سلول شفاف کلیه، و تاثیر عملکردی SNP ها بر میزان بیان microRNA

Pre-miRNA	SNP ID	Position	Ref/Alt	Region	ΔG	Predict
hsa-miR-155	rs1211177960	chr21:25573994	C/T	Mature	0	mild
hsa-miR-155	rs761506722	chr21:25573995	G/C	Mature	2.3	down
hsa-miR-155	rs761506722	chr21:25573995	G/A	Mature	0	mild
hsa-miR-155	rs1487851625	chr21:25574003	G/A	Mature	-0.9	mild
hsa-miR-200c	rs1555150270	chr12:6963746	A/AC	Seed	3	down
hsa-miR-200c	rs1555150271	chr12:6963750	C/T	Mature	1.6	mild
hsa-miR-200c	rs904135271	chr12:6963752	G/C	Mature	4.3	down
hsa-miR-200c	rs904135271	chr12:6963752	G/A	Mature	4	down
hsa-miR-200c	rs1466815657	chr12:6963753	G/A	Mature	6.9	down
hsa-miR-200c	rs1400433260	chr12:6963758	T/C	Mature	0	mild
hsa-miR-200c	rs1400433260	chr12:6963758	T/G	Mature	-1.1	mild
hsa-miR-1-2	rs1433539698	chr18:21829019	A/G	Mature	4.3	down
hsa-miR-1-2	rs772171181	chr18:21829021	A/G	Mature	4.6	down
hsa-miR-1-2	rs776480338	chr18:21829023	T/C	Mature	0.3	mild
hsa-miR-1-2	rs1395109253	chr18:21829034	C/A	Seed	3.3	down
hsa-miR-1-2	rs1273198863	chr18:21829035	C/T	Seed	4.94	down
hsa-miR-1-1	rs1555902769	chr20:62554362	G/C	Mature	6.2	down
hsa-miR-1-1	rs1399433486	chr20:62554365	G/A	Mature	6	down
hsa-miR-1-1	rs528661852	chr20:62554366	T/C	Mature	4.6	down
hsa-miR-1-1	rs1555902770	chr20:62554367	A/G	Mature	0	mild
hsa-miR-1-1	rs1555902771	chr20:62554371	A/G	Mature	0	mild
hsa-miR-16-1	rs377111580	chr13:50048986	C/T	Mature	0.1	mild
hsa-miR-16-1	rs769728617	chr13:50048992	CA/C	Mature	4.2	down
hsa-miR-16-1	rs1468155921	chr13:50049001	T/C	Seed	0	mild
hsa-miR-16-1	rs1460126106	chr13:50049003	C/A	Seed	3.2	down
hsa-miR-16-1	rs1460126106	chr13:50049003	C/T	Seed	0	mild
hsa-miR-144	rs1463482751	chr17:28861552	C/A	Mature	2.2	down
hsa-miR-144	rs1293385306	chr17:28861553	A/G	Mature	3.6	down
hsa-miR-144	rs760366230	chr17:28861559	T/C	Mature	0.3	mild
hsa-miR-144	rs1218721253	chr17:28861562	A/G	Seed	4.6	down
hsa-miR-144	rs917554219	chr17:28861563	C/T	Seed	6	down
hsa-miR-144	rs947719319	chr17:28861564	T/G	Seed	4.6	down
hsa-miR-125b-2	rs1459840793	chr21:16590263	C/A	Mature	3	down
hsa-miR-125b-2	rs1325186129	chr21:16590264	C/A	Mature	3.3	down
hsa-miR-125b-1	rs1178860098	chr11:122099819	G/A	Mature	2.7	down
hsa-miR-335	rs1554436905	chr7:130496134	A/G	Mature	0.3	mild
hsa-miR-335	rs1554436906	chr7:130496137	A/G	Mature	-0.1	mild
hsa-miR-335	rs371790774	chr7:130496139	C/T	Mature	-4.3	up
hsa-miR-335	rs1393189017	chr7:130496140	G/A	Mature	3.4	down
hsa-miR-335	rs1377015261	chr7:130496142	A/G	Mature	-0.1	mild
hsa-miR-335	rs1302490829	chr7:130496145	A/G	Mature	3	down
hsa-miR-335	rs1448957394	chr7:130496147	G/GT	Mature	0.2	mild
hsa-miR-142	rs1385868660	chr17:58331246	C/A	Mature	2.8	down
hsa-miR-142	rs377637047	chr17:58331248	A/G	Mature	4.3	down

## ادامه جدول ۲.

hsa-miR-142	rs891121951	chr17:58331249	T/C	Mature	0	mild
hsa-miR-142	rs781201763	chr17:58331255	A/G	Mature	4.5	down
hsa-miR-142	rs746909875	chr17:58331256	GGAAACACTA/G	Seed	-	-
hsa-miR-142	rs747963068	chr17:58331259	A/T	Mature	3.1	down
hsa-miR-142	rs747963068	chr17:58331259	A/G	Mature	2.8	down
hsa-miR-142	rs756348475	chr17:58331260	A/G	Seed	-2.4	up
hsa-miR-142	rs1267954074	chr17:58331262	A/G	Seed	3.9	down
hsa-miR-142	rs562696473	chr17:58331264	T/G	Seed	2.7	down
hsa-miR-122	rs1258166649	chr18:58451088	T/C	Mature	3	down
hsa-miR-122	rs1426570658	chr18:58451093	T/A	Seed	4.7	down
hsa-miR-215	rs1201506829	chr1:220117918	C/T	Mature	6.2	down
hsa-miR-215	rs1297925192	chr1:220117923	A/C	Mature	2.7	down
hsa-miR-16-1	rs760368482	chr13:50049028	G/A	Mature	-0.3	mild
hsa-miR-16-1	rs1211671197	chr13:50049032	A/G	Mature	-2.3	up
hsa-miR-16-1	rs754694443	chr13:50049039	C/T	Mature	0.7	mild
hsa-miR-16-1	rs372220237	chr13:50049040	G/A	Mature	1.8	mild
hsa-miR-16-2	rs1254426807	chr3:160404754	T/C	Mature	0.9	mild
hsa-miR-16-2	rs1258574236	chr3:160404762	C/T	Mature	1.8	mild
hsa-miR-16-2	rs1258574236	chr3:160404762	C/A	Mature	1.6	mild
hsa-miR-16-2	rs1193058159	chr3:160404764	TA/T	Mature	-3.8	up
hsa-miR-16-2	rs1258560931	chr3:160404770	T/C	Mature	3.7	down
hsa-miR-16-2	rs756199981	chr3:160404774	C/T	Mature	-3.9	up
hsa-miR-16-2	rs777900452	chr3:160404775	G/A	Mature	2	mild
hsa-miR-1296	rs780933364	chr10:63373017	T/C	Mature	1	mild
hsa-miR-1296	rs1250077750	chr10:63373020	A/G	Mature	-3	up
hsa-miR-1296	rs1347238536	chr10:63373023	CAG/C	Mature	1.1	mild
hsa-miR-1296	rs1201046688	chr10:63373027	G/A	Seed	-5	up
hsa-miR-1296	rs1278272899	chr10:63373031	TA/T	Seed	4.7	down
hsa-let-7e	rs1189776118	chr19:51692814	T/C	Mature	0	mild

سپس لیستی از SNPها در توالی pre-miRNA، miRNA بالغ و ناحیه seed، SNPهای موجود در پیش‌ساز miRNAهای مرتبط با مسیر رنین-آنژیوتانسین تهیه شد، تجزیه و تحلیل اثر عملکردی بر پردازش پیش‌ساز miRNA (برای تولید miRNA بالغ) از طریق محاسبه  $\Delta G$  در آل نوع نرمال و SNP مورد بررسی قرار گرفت و در آخر، تجزیه و تحلیل غنی‌سازی عملکردی miRNAهای مرتبط با مسیر پیام‌رسانی رنین-آنژیوتانسین انجام شد. بطور کلی درک چگونگی تعامل miRNAها با سیستم رنین-آنژیوتانسین در ccRCC می‌تواند مسیرهای موثری را برای درمان‌های هدفمند باز کند.

miRNA، که به جایگاه 3'UTR در mRNA هدفش متصل می‌شود، از نظر تکاملی محافظت شده است، به طوری که چگالی SNP کمتری در محل‌های اتصال miRNA نسبت به مکان‌های تنظیمی وجود دارد. این مطلب نشان می‌دهد که فشار انتخابی منفی بر جهش‌ها در این نواحی از ژنوم وجود دارد، زیرا آن‌ها برای عملکرد و بقای سلولی حیاتی هستند [۲۵].

در مطالعه حاضر، برای اولین بار، SNPهای موجود در ژن‌های مربوط به miRNAهای مرتبط با مسیر پیام‌رسانی رنین-آنژیوتانسین در بیماری کارسینوم سلول شفاف کلیه مورد افتراقی در بیماری کارسینوم سلول شفاف کلیه ارایه گردید،

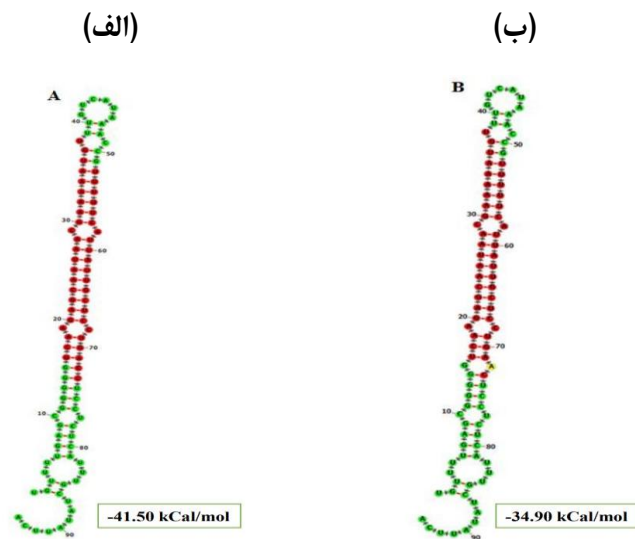
است. بطوری که بیان miR-215 و miR-200c-3p تغییر یافته است. از طرفی نشان داده شده است بیان خانواده miR-200 مثل miR-200c و miR-200 در بافت سرطان کلیه نسبت به بافت‌های غیرنئوپلاستیک به‌طور معنی‌داری کاهش یافت و همچنین مقاومت دارویی در داروهای ضدسرطان، می‌تواند توسط خانواده miR-200 تنظیم شود. بنابراین این خانواده به‌عنوان یک نشانگر تشخیصی و پیش‌آگهی با ارزش در سرطان گزارش شده است [۲۷-۲۹]. در تحقیق دیگری اهمیت miR-215 به‌عنوان مارکر پیش‌آگهی در کارسینوم سلول کلیه روی یک مجموعه داده مستقل از ژنوم سرطان بررسی شد. نتایج نشان داد بیان کمتر miR-215 با کاهش قابل‌توجه زمان بقای بدون بیماری (DFST)<sup>۱۸</sup> همراه است [۳۰]. مشخص شده است که داروهای بلوک‌کننده گیرنده آنژیوتانسین و مهارکننده آنزیم ACE در بیماران، بیان miR-16 و miR-145 را افزایش می‌دهند. از طرفی افزایش بیان miR-16 در سلول‌های میوسیت موجب کاهش سطح آنژیوتانسین II شده است. داده‌های این پژوهش نشان داد که miR-145 به‌عنوان سرکوب‌کننده تومور نقش دارد و یک کاندیدای امیدبخش برای درمان سرطان است [۳۱، ۳۲].

miRNAها مستقیماً سیستم RAS و مسیر سیگنالینگ آنژیوتانسین II را در سطوح مختلفی هدف قرار می‌دهد از جمله آنزیم‌های این مسیر شامل (رنین و ACE) و رسپتورهای آنژیوتانسین (AT1, AT2) است. [۳۳] مطالعه‌ای نشان داد بعضی‌ها بیان ژن رنین را کنترل می‌کنند. بطورمثال، miR-181a-5p به قسمت 3' UTR در mRNA رنین متصل می‌شود و بیان ژن آن را کاهش می‌دهد و میزان زیاد mRNA رنین در افراد مبتلا به فشار خون با بیان کلیوی کمتر miR-181a همراه است [۳۴]. همچنین، بیان رنین توسط miR-663 کنترل می‌شود. مشخص شده است افزایش سنتز رنین ناشی از تحریک سمپاتیک با کاهش miR-181a در یک سوبه ژنتیکی فشار خون موش همراه است. داده‌های اخیر نشان می‌دهد که miR-132 و miR-212 در فشار خون بالا ناشی از اثر آنژیوتانسین II نقش دارند. نقش مهم miR-155 را در تنظیم سیگنالینگ آنژیوتانسین II نشان داده است. ثابت شده که سلول‌های اندوتلیال ورید ناف انسان (HUVECs)،

سیستم رنین آنژیوتانسین یکی از جامع‌ترین محورهای هورمونی و آنزیمی است که در بسیاری از فرآیندهای فیزیولوژیکی و پاتولوژیک مخصوصاً در بافت کلیه نقش بسزایی دارد. گزارشات اخیر حاکی از نقش موثر این سیستم در انواع سرطان می‌باشند [۸، ۷]. اما مطالعات این مسیر بروی سرطان کلیه RCC تاکنون به‌طور کامل و جامع بازنگری نشده است. در همین راستا، در تحقیقی وجود آنزیم ACE در نمونه‌های سرطان کلیه بررسی شد. فعالیت آنزیمی ACE در در نمونه‌های بافت کروموفوب و ccRC به‌طور قابل‌توجهی نسبت به بافت سالم کاهش یافت. همچنین نتایج مشابهی برای فعالیت آنزیم ACE2 مشاهده شد. بطورکلی افزایش یا کاهش فعالیت این آنزیم‌ها به مرحله پیشرفت سرطان بستگی دارد [۹]. فعالیت بیش از حد آنژیوتانسین II همراه با رسپتور AT1 در پیشرفت انواع سرطان کلیه نقش دارند. بطوری که مهارکننده‌های رسپتور آنژیوتانسین و بلوک‌کننده‌های آنزیم ACE نقش مثبتی در کاهش پیشرفت این بیماری دارند. فعالیت پاتولوژیک آنژیوتانسین II در ایجاد سرطان نقش مهمی داشته و مکانیسم آن گسترده است شامل افزایش سیتوکاین‌های التهابی مانند IL-6، TNF $\alpha$ ، TGF- $\beta$ ، نفوذپذیری زیاد ماکروفاژها و اثرات رگ‌زایی آن‌ها، افزایش فاکتورهای رشد، ایجاد فیروز و تولید و مهاجرت سلول‌های سرطانی می‌باشد. لازم بذکر است بیان شود که بازوی وازودیلاتوری ۱۷ و محافظتی RAS اثرات متضادی نسبت به آنژیوتانسین II دارد [۲۶]. نکته قابل‌توجه اینکه اختلال در تنظیم miRNAهای اثرگذار در کارسینوم سلول شفاف کلیه ممکن است با تغییر مسیر سیگنالینگ RAS به‌طور مستقیم بر رفتار سلول‌های سرطانی تأثیر بگذارد که در نهایت منجر به افزایش پیشرفت تومور، افزایش رگ‌زایی و مقاومت در برابر آپوپتوز شود یکی از استراتژی‌های مهم این است که با شناسایی و درک مکانیسم اثر miRNAهای سرکوب‌کننده تومور، که در مسیر رنین آنژیوتانسین هم نقش دارند میتوان در درمان‌های موثر برای بهبود پیش‌آگهی بیمار بکار گرفته شود. در این راستا، مطالعه‌ای نشان داد فعالیت مداوم آنژیوتانسین II باعث اختلال عملکرد اندوتلیال عروق کلیوی، التهاب و استرس اکسیداتیو می‌شود که منجر به آسیب کلیوی می‌شود. یکی از مکانیسم‌های احتمالی نقش MicroRNAها گزارش شده

<sup>18</sup> Dermatofibrosarcoma protuberans

<sup>17</sup> Vasodilatory



**شکل ۳-** (الف) ساختار ثانویه بهینه Pre-miRNA-335 با حداقل انرژی آزاد  $-41.50$  کیلوکالری در مول توسط (ب) ساختار ثانویه بهینه Pre-miRNA-335 جهش یافته در موقعیت 72 C/A (Ref/Alt) دارای حداقل انرژی آزاد  $-34.90$  کیلوکالری در مول است که توسط یک سرور آنالین RNAfold ترسیم شده است.

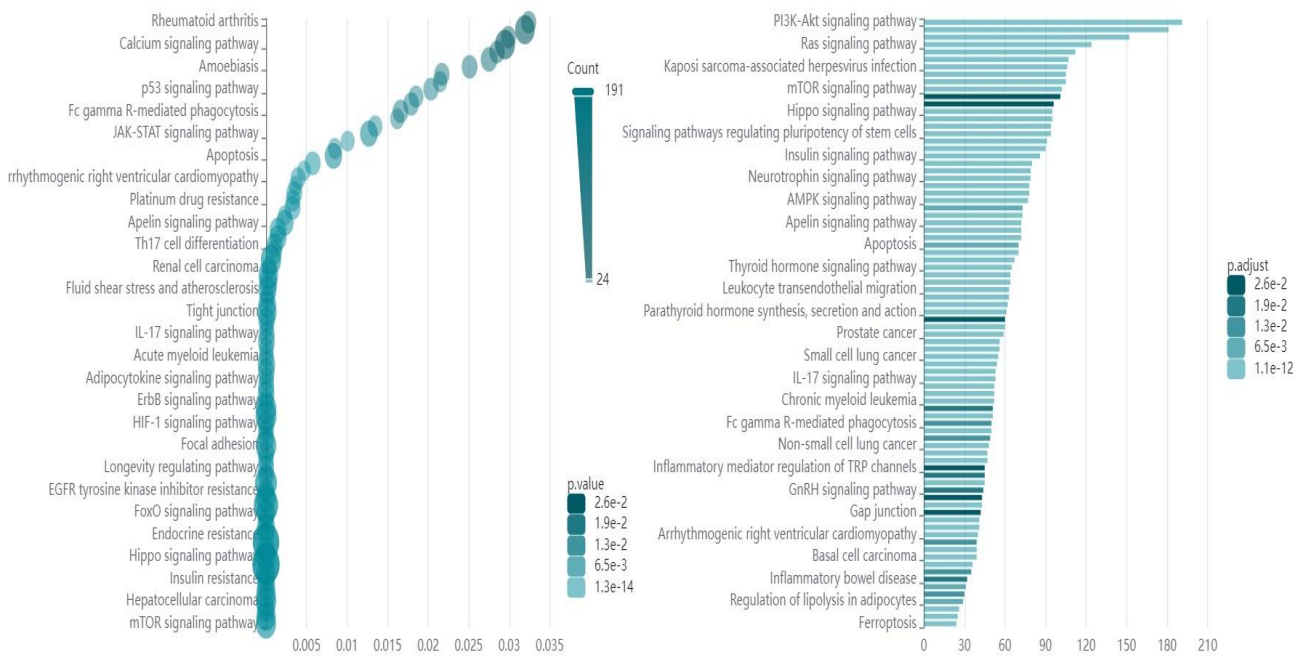
**جدول ۳-** فهرست SNP های موجود در پیش ساز miRNAهای مرتبط با مسیر رنین-آنژیوتانسین در بیماری کارسینوم سلول شفاف کلیه با تاثیرگذاری بر ساختار miRNA

miRNA	شناسه واریانت	جایگاه ژنومی واریانت	آلل نرمال/آلل موتانت	جایگاه واریانت در pre-miRNA	$\Delta G^*$ kCal/mol
hsa-miR-155	COSN28175054	chr21:25574024	C/A	45	5.30
hsa-miR-155	COSN28175054	chr21:25574025	C/T	46	2.70
hsa-miR-1-2	COSN1082093	chr18:21829067	G/T	22	6.20
hsa-miR-1-2	COSN24314687	chr18:21829067	G/C	22	4.10
hsa-miR-1-2	COSN24410622	chr18:21829083	G/C	6	3.90
hsa-miR-1-1	COSN23020948	chr20:62554336	G/A	31	-0.30
hsa-miR-1-1	COSN1083051	chr20:62554351	T/C	46	4.10
hsa-miR-1-1	COSN492996	chr20:62554373	C/T	68	2.50
hsa-miR-16-1	COSN26550619	chr13:50048996	G/T	66	0.20
hsa-miR-16-1	COSN23013799	chr13:50049024	T/G	38	0.30
hsa-miR-16-1	COSN4710420	chr13:50049060	A/G	2	3.20
hsa-miR-144	COSN29513223	chr17:28861572	C/G	47	-0.20
hsa-miR-125b-2	COSN24307254	chr21:16590237	A/G	1	0.30
hsa-miR-125b-2	COSN509417	chr21:16590259	A/T	23	2.40
hsa-miR-125b-2	COSN509418	chr21:16590267	A/C	31	1.40
hsa-miR-125b-2	COSN5854701	chr21:16590267	A/C	31	1.40
hsa-miR-125b-2	COSN1083056	chr21:16590302	C/A	66	0
hsa-mir-125b-1	COSN24409732	chr11:122099766	C/T	79	3.90
hsa-mir-125b-1	COSN2377020	chr11:122099771	C/A	74	2.20
hsa-mir-125b-1	COSN2381377	chr11:122099771	C/A	74	2.20
hsa-mir-125b-1	COSN28641423	chr11:122099823	C/A	22	6.10
hsa-mir-125b-1	COSN8407240	chr11:122099823	C/G	22	6.10
hsa-mir-125b-1	COSN8641008	chr11:122099823	C/G	22	6.10
hsa-mir-125b-1	COSN28177495	chr11:122099833	G/A	12	2.20
hsa-mir-125b-1	COSN20056984	chr11:122099841	C/T	4	-0.40
hsa-miR-335	COSN18719207	chr7:130496136	T/G	26	4.10
hsa-miR-335	COSN1084128	chr7:130496138	A/G	28	0.30

## ادامه جدول ۳.

hsa-miR-335	COSN23016863	chr7:130496140	G/A	30	3.40
hsa-miR-335	COSN1342582	chr7:130496181	A/T	71	3.90
hsa-miR-335	COSN1342583	chr7:130496182	C/A	72	6.60
hsa-miR-142	COSN28198304	chr17:58331250	A/G	69	3.90
hsa-miR-142	COSN25565471	chr17:58331251	A/C	68	3.50
hsa-miR-142	COSN4769862	chr17:58331251	A/T	68	3.50
hsa-miR-142	COSN23238628	chr17:58331255	A/C	64	3.50
hsa-miR-142	COSN5268246	chr17:58331256	G/A	63	1.90
hsa-miR-142	COSN23018310	chr17:58331257	G/GAA	63-64	1.30
hsa-miR-142	COSN23018311	chr17:58331258	A/C	61	0.60
hsa-miR-142	COSN5268247	chr17:58331258	A/G	61	1.20
hsa-miR-142	COSN23018312	chr17:58331259	A/G	60	2.80
hsa-miR-142	COSN23269240	chr17:58331259	A/G	60	2.80
hsa-miR-142	COSN4769863	chr17:58331259	A/T	60	3.10
hsa-miR-142	COSN25149111	chr17:58331260	A/G	59	0.60
hsa-miR-142	COSN187664	chr17:58331261	C/G	58	3.90
hsa-miR-142	COSN23018314	chr17:58331262	A/G	57	3.90
hsa-miR-142	COSN4769865	chr17:58331263	C/G	56	5.70
hsa-miR-142	COSN4769866	chr17:58331263	C/T	56	5.70
hsa-miR-142	COSN187665	chr17:58331264	T/C	55	0.30
hsa-miR-142	COSN8394464	chr17:58331269	C/T	50	0.40
hsa-miR-142	COSN4769867	chr17:58331277	G/T	42	0.40
hsa-miR-142	COSN23285338	chr17:58331278	C/G	41	-1.8
hsa-miR-142	COSN28202018	chr17:58331284	G/A	35	1.49
hsa-miR-142	COSN28201698	chr17:58331286	A/G	33	1.10
hsa-miR-142	COSN23018320	chr17:58331287	G/T	32	4
hsa-miR-142	COSN19303842	chr17:58331290	C/G	29	4.10
hsa-miR-142	COSN25221675	chr17:58331290	C/T	29	0
hsa-miR-142	COSN20118190	chr17:58331292	T/G	27	1.60
hsa-miR-142	COSN19303827	chr17:58331295	T/A	24	4.50
hsa-miR-142	COSN23015190	chr17:58331303	G/T	16	4.30
hsa-miR-122	COSN26602665	chr18:58451075	C/G	2	2.30
hsa-miR-122	COSN16303070	chr18:58451084	G/A	11	6.40
hsa-miR-122	COSN15714664	chr18:58451096	G/T	23	6.20
hsa-miR-122	COSN5847012	chr18:58451105	G/T	32	5.30
hsa-miR-215	COSN495098	chr1:220117931	G/T	32	5.60
hsa-miR-215	COSN19667880	chr1:220117941	C/T	22	2.90
hsa-miR-16-1	COSN26550619	chr13:50048996	G/T	66	0.20
hsa-miR-16-1	COSN23013799	chr13:50049024	T/G	38	0.30
hsa-miR-16-1	COSN4710420	chr13:50049060	A/G	2	3.20
hsa-miR-16-2	COSN500331	chr3:160404774	C/T	30	3.90
hsa-miR-16-2	COSN26995762	chr3:160404775	G/T	31	2
hsa-miR-16-2	COSN23016251	chr3:160404823	G/T	79	0.90
hsa-miR-1296	COSN10104008	chr10:63372972	T/A	77	4
hsa-miR-1296	COSN23013261	chr10:63372979	G/A	70	-0.20
hsa-miR-1296	COSN2377003	chr10:63372979	G/A	70	2.20
hsa-let-7e	COSN17357114	chr19:51692819	A/T	34	-2.70
hsa-let-7e	COSN26979307	chr19:51692826	C/A	41	1
hsa-let-7e	COSN24294801	chr19:51692843	C/T	58	1.60

\* تفاوت حداقل انرژی آزاد (Mfe) بین حالت موتانت و نرمال در پیشساز miRNAها



**شکل ۴-** مصورسازی و تجزیه و تحلیل غنی‌سازی مسیرهای پیام رسانی مجموعه miRNAهای مرتبط با مسیر رنین-آنژیوتانسین در بیماری کارسینوم سلول شفاف کلیه بر پایه اطلاعات استخراج شده از پایگاه داده KEGG و پایگاه داده Ncpath.

بر شروع و پیشرفت سرطان اثر بگذارند. با این هدف مطالعه آزمایشگاهی بر روی سلول‌های فیبروبلاست موش صحرایی انجام شده که نشان داد، افزایش بیان miR-122 باعث تحریک مهاجرت سلولی، استرس اکسیداتیو، التهاب و آپوپتوز شد که یکی از مکانیسم‌های احتمالی تاثیر بر عملکرد آنزیم ACE2 بوده است [۳۸] نتایج تحقیق نشان داد که miR-26a از طریق هدف‌قراردادن مستقیم ژن‌های CTGF و کلاژن موجب مهار فیبروز ناشی از آنژیوتانسین شد. این miRNA یک حلقه فیدبکی منفی با NF-κB تشکیل می‌دهد بدین صورت که فعالیت بیش از حد miR-26a عملکرد NF-κB را کاهش می‌دهد [۳۹]. از طرفی نتایج یک پژوهش مشخص کرد بیان miR-26a-5p در RCC در کاهش می‌یابد که این miRNA آپوپتوز سلول RCC را از طریق هدف‌قراردادن E2F7 افزایش می‌دهد در نتیجه با جلوگیری از تکثیر و تهاجم سلول‌های سرطانی می‌تواند هدف درمانی داشته باشد [۴۰].

در این راستا، گزارش شده است که افزایش بیان ACE2 در کارسینوم آندومتر رحم و بافت‌های کارسینوم سلول پاپیلاری کلیه با نتایج بقای بیماران ارتباط مستقیم دارد. آن‌ها سپس اعلام کردند که این بیماران در معرض خطر بالای عفونت SARS-CoV-2 هستند و COVID-19 ممکن است نتایج

miR-221 و miR-155 را بیان می‌کنند و همچنین miR-155 رسپتور AT1 آنژیوتانسین را هدف قرار می‌دهد [۳۵]. در مطالعه‌ای رابطه احتمالی بین miR-155 و SNP‌های واقع در ژن گیرنده نوع ۱ آنژیوتانسین II بررسی شد. بر اساس این مطالعه، آلل A۱۱۶۶ در مقایسه با آلل C۱۱۶۶ مربوط به SNP rs5186 (A>C) موجود در ناحیه غیرقابل-ترجمه سمت ۳' mRNA AT1R تمایل بیشتری جهت تعامل با miR-155 نشان می‌دهد. این یافته نشان داد که آلل A بیشتر از آلل C با فشار خون اساسی مرتبط است. آلل C۱۱۶۶ در ۳' UTR AT1R باعث از بین رفتن اتصال و در نهایت تعامل با miR-155 می‌گردد، در نتیجه به صورت نسبی منجر به افزایش میزان بیان AT1R می‌شود [۳۶]. خانواده miR-200، به ویژه hsa-miR-200c-3p مستقیماً ۳' UTR در mRNA مربوط به ACE2 را هدف قرار می‌دهد که منجر به کاهش بیان ACE2 می‌شود [۳۷]. همچنین نشان داده شده است که miRNAهایی که AT1R، ACE و TMPRSS2 را در سیستم رنین آنژیوتانسین هدف قرار می‌دهند به ترتیب شامل: hsa-miR-16-5p، miR-335-5p و hsa-let-7e-5p می‌باشند [۳۴]. همانطور که گفته شد miRNAهای تاثیر گذار بر سیستم رنین آنژیوتانسین می‌توانند با مکانیسم‌های متعددی،

مطالعات بالینی روش ارجح برای شناسایی nsSNPهای مضر است، انجام آزمایش‌های مکرر برای همه جهش‌ها می‌تواند زمان‌بر و پرهزینه باشد. برای پرداختن به این موضوع، روش‌های ارزیابی شبیه‌سازی رایانه‌ای مختلفی در دسترس هستند که می‌توانند قبل از انجام مطالعات بالینی سطح خاصی از قابلیت اطمینان را فراهم کنند. این به‌ویژه در مواردی که جهش‌ها تهدیدی برای سلامت ما هستند مفید است. این یافته‌ها به‌طور بالقوه می‌تواند به‌عنوان یک مجموعه داده با ارزش برای یک مطالعه کاربردی که تأثیر تغییرات ژنتیکی بر بیان ژن در بیماری‌های مختلف را بررسی می‌کند باشد. با انجام این کار، می‌توانیم درک بهتری از اینکه چگونه توالی‌های ژنوم منحصر به فرد به تفاوت‌های بین افراد کمک می‌کنند بدست آوریم. با این حال، در حالی که مطالعات بیوانفورماتیک می‌تواند به شناسایی چگونگی تأثیر این جایگزینی بر سطوح miRNA و عملکرد آن‌ها کمک کند، انجام مطالعات آزمایشگاهی برای تأیید پیامدهای عملی ۲۰ این نامزد SNP ضروری است. تعیین اینکه شناسایی SNPهای موثر بر میزان بیان و عملکرد miRNA می‌تواند به یک روش غربالگری معمول برای کارسینوم سلول کلیوی شفاف تبدیل شود، چالش برانگیز است. این به این دلیل است که این روش کم‌تهاجمی است، تنها به یک نمونه خون نیاز دارد و انجام آن نسبتاً آسان است. برای دستیابی به نتایج قابل اطمینان‌تر، مطالعات با استفاده از ابزارهای آماری بهبودیافته و مدل‌های محاسباتی، از جمله حجم نمونه بالا، احتمالاً مؤثرتر خواهند بود. بنابراین، این نتایج ممکن است برای تعیین SNPهای کاندید برای تجزیه و تحلیل عملکردی بیشتر و بررسی SNPهای زمینه‌ساز کارسینوم سلول شفاف کلیه و ایجاد فرضیه‌ها و آزمایش برای پیش‌آگهی و توسعه روش‌های درمانی کارسینوم سلول شفاف کلیه مفید باشد.

### نتیجه‌گیری

به‌طور خلاصه، پس از غربالگری عمیق miRNAهایی که نقش تعیین‌کننده‌ای در کارسینوم سلول شفاف کلیه دارند، منابع متعددی برای بررسی اثر عملکردی SNP در ژن miRNA به کار گرفته شد. برای یک مطالعه جامع، ما جنبه‌های مختلف اثر SNPهای استخراج‌شده را بر روی بیوژن و عملکرد

بالینی آن‌ها را با فرآیندهای مرتبط با ایمنی تشدید کند [۴۱]. میزان بیان miR-1-3p در سلول‌های RCC کم است. اثر مهارى بر فرآیند EMT، توانایی مهاجرت و تهاجم سلول‌های سرطانی در سلول‌های RCC را از طریق مهار کردن فیبرونکتین ۱ انجام می‌دهد. همانطور که در مطالعات گزارش شده بود که فیبرونکتین ۱ در مهاجرت و تهاجم سلول‌های توموری نقش دارد [۴۲]. نتایج حاصل از بررسی همبستگی تغییرات ژنتیکی خاص و بیان miR-1-3p با مرگ‌ومیر بیمارانی که ترمیم آنوریسم آئورت شکمی AAA) را دریافت کردند، نشان داد که واریانت‌های ژنتیکی در pri-miR-1-3p بر بیوژن miR-1-3p بالغ تأثیر می‌گذارد. بیماران با ژنوتیپ‌های خاص (rs2155975 AG + GG یا rs4591246 AG + AA) سطوح پایین‌تری از بیان miR-1-3p را در سرم خود نشان دادند. این ژنوتیپ‌ها در محل‌های اتصال فاکتور رونویسی به ژن کدکننده pri-miR-1-3p قرار داشتند که نشان می‌دهد ممکن است بر اتصال فاکتور رونویسی به پروموتور ژن اثر منفی داشته باشد و بر بیان miR-1-3p تأثیر بگذارند. میزان بیان این miR-1-3p با مرگ‌ومیر طولانی‌مدت در بیماران AAA پس از جراحی همراهی نشان داد. به طور مشابه، سایر miRNA SNPها از طریق تنظیم بیان miRNAهای بالغ بر پیش‌آگهی بیماری تأثیر می‌گذارند [۴۳]. در پژوهشی نشان داده شد که سطح miR-142-3p در تومور کلیوی در مقایسه با بافت‌های طبیعی بالا بوده و این سطح بالا با مرگ‌ومیر بالای بیماران مبتلا به سرطان کلیه همراه می‌باشد. مشخص شده است که miRNA-142-3p با هدف‌قرار دادن RhoBTB3 موجب اثر بر سیگنالینگ HIF-1 و مسیرهای GGT/GSH می‌شود و پیشرفت RCC را افزایش می‌دهد [۴۴]. miR-26a-5p می‌تواند از تکثیر و تهاجم سلول‌های سرطانی جلوگیری کرده و با هدف قرار دادن مستقیم HMGA2، آپوپتوز آن‌ها را تقویت کند. miR-26a-5p می‌تواند یک هدف بالقوه جدید برای درمان‌نوع خاصی از سرطان باشد [۴۵]. از طرفی همانطور که گفته شد این miRNA می‌تواند روی عملکرد آنژیوتانسین اثر بگذارد. تحقیقات اخیر مشخص کردند که hsa-miR-1296، hsa-miR-144-3p، miR-16-1-3p و hsa-miR-200 در انواع سرطان نقش دارند [۴۶، ۴۷]. اگرچه

<sup>19</sup> Abdominal aortic aneurysm (AAA)

## تعارض در منافع

نویسندگان این مقاله تعارض در منافع ندارند.

## نقش نویسندگان

پ.م.ا.د.: انجام مطالعه؛ پ.م.ا.د.س.ت: آنالیز داده‌ها و نگارش؛ پ.م.ا.د.س.ت: نظارت بر حسن اجرای مطالعه؛ پ.م.ا.د.: ایده، طراحی و نگارش مقاله.

miRNA، از جمله سطح پردازش پیش‌ساز miRNA، تعامل miRNA-هدف، میزان بیان بررسی کردیم. این مطالعه از نظر تئوری مجموعه‌ای از SNPهای مهم کاندید را در بخش‌های مختلف ژن miRNA در مسیرهای مرتبط با سیستم رنین-آنژیوتانسین ارائه می‌کند که می‌تواند برای مطالعه عملی آینده در مدیریت کارسینوم سلول شفاف کلیه در نظر گرفته شود.

## سپاسگزاری

این مطالعه بخشی از طرح با شماره ثبت IR.HUMS.REC.1403.213 می‌باشد.

## فهرست منابع

- Ivanova E, Fayzullin A, Grinin V, Ermilov D, Arutyunyan A, Timashev P, Shekhter A, Empowering renal cancer management with AI and digital pathology: Pathology, diagnostics and prognosis. *Biomedicines* 11 (2023) 2875.
- Shuch B, Amin A, Armstrong AJ, Eble JN, Ficarra V, Lopez-Beltran A, Martignoni G, Rini BI, Kutikov A, Understanding pathologic variants of renal cell carcinoma: distilling therapeutic opportunities from biologic complexity. *Eur Urol* 67(2015) 85-97.
- Gray RE, Harris GT, Renal cell carcinoma: diagnosis and management. *Am Fam Physician* 99 (2019) 179-184.
- Laffer CL, Elijevich F, Sahinoz M, Pitzer A, Kirabo A, New insights into the renin-angiotensin system in chronic kidney disease. *Circ Res* 2020 127 (2020) 607-609.
- Dehghani A, Saberi S, Nematbakhsh M, Role of Mas receptor antagonist A799 in renal blood flow response to Ang 1-7 after bradykinin administration in ovariectomized estradiol-treated rats. *Adv Pharmacol Sci* (2015) 801053.
- Saberi S, Dehghani A, Nematbakhsh M, Angiotensin 1-7 administration increases renal blood flow in the absence of bradykinin B2 receptor in ovariectomized estradiol treated rats: the role of mas receptor. *Acta Medica Iranica* (2019) 103-109.
- Ishikane S, Takahashi-Yanaga F, The role of angiotensin II in cancer metastasis: Potential of renin-angiotensin system blockade as a treatment for cancer metastasis. *Biochem Pharmacol* 151 (2018) 96-103.
- Almutlaq M, Alamro AA, Alamri HS, Alghamdi AA, Barhoumi T, The effect of local renin angiotensin system in the common types of cancer. *Front Endocrinol* 12 (2021) 736361.
- Sobczuk P, Szczylik C, Porta C, Czarnicka A, Renin angiotensin system deregulation as renal cancer risk factor. *Oncol Lett* 14 (2017) 5059-5068.
- Lin J, Horikawa Y, Tamboli P, Clague J, Wood CG, Wu X, Genetic variations in microRNA-related genes are associated with survival and recurrence in

- patients with renal cell carcinoma. *Carcinogenesis* 31 (2010) 1805-1812.
- Si W, Shen J, Zheng H, Fan W, The role and mechanisms of action of microRNAs in cancer drug resistance. *Clin Epigenetics* 11 (2019) 25.
  - Karimi E, Dehghani A, Azari H, Zarei M, Shekari M, Mousavi P, Molecular mechanisms of miR-214 involved in Cancer and Drug Resistance. *Curr Mol Med* 23 (2023) 589-605.
  - Wahid F, Shehzad A, Khan T, Kim YY, MicroRNAs: synthesis, mechanism, function, and recent clinical trials. *Biochim Biophys Acta* 1803 (2010) 1231-1243.
  - Femminella GD, Ferrara N, Rengo G, The emerging role of microRNAs in Alzheimer's disease. *Front physiol* 6 (2015) 40.
  - Witkos TM, Koscianska E, Krzyzosiak WJ, Practical aspects of microRNA target prediction. *Curr Mol Med* 11 (2011) 93-109.
  - Györfy B, Surowiak P, Budczies J, Lánczky A, Online survival analysis software to assess the prognostic value of biomarkers using transcriptomic data in non-small-cell lung cancer. *PLoS one* 8 (2013) e82241.
  - Huang HY, Lin YC, Li J, Huang KY, Shrestha S, Hong HC, Tang Y, Chen YG, Jin CN, Yu Y, Xu JT, Li YM, Cai XX, Zhou ZY, Chen XH, Pei YY, Hu L, Su JJ, Cui SD, Wang F, Xie YY, Ding SY, Luo MF, Chou CH, Chang NW, Chen KW, Cheng YH, Wan XH, Hsu WL, Lee TY, Wei FX, Huang HD, miRTarBase 2020: updates to the experimentally validated microRNA-target interaction database. *Nucleic Acids Research* 48 (2020) D148-D154.
  - Huang H-Y, Lin Y-C-D, Cui S, Huang Y, Tang Y, Xu J, Bao J, Li Y, Wen J, Zuo H, miRTarBase update 2022: an informative resource for experimentally validated miRNA-target interactions. *Nucleic Acids Research* 50 (2022) D222-D230.
  - Li R, Qu H, Wang S, Chater JM, Wang X, Cui Y, Yu L, Zhou R, Jia Q, Traband R, CancerMIRNome: an interactive analysis and visualization database for miRNome profiles of human cancer. *Nucleic Acids Research* 50 (2022) D1139-D1146.
  - Xie G-Y, Xia M, Miao Y-R, Luo M, Zhang Q, Guo A-Y, FFLtool: a web server for transcription factor and miRNA feed forward loop analysis in human. *Bioinformatics* 36 (2020) 2605-2607.

- [21] Zito A, Lualdi M, Granata P, Cocciadiferro D, Novelli A, Alberio T, Casalone R, Fasano M, Gene set enrichment analysis of interaction networks weighted by node centrality. *Front Genet* 12 (2021) 577623.
- [22] Li Z, Zhang Y, Fang J, Xu Z, Zhang H, Mao M, Chen Y, Zhang L, Pian C, NcPath: A novel platform for visualization and enrichment analysis of human non-coding RNA and KEGG signaling pathways. *Bioinformatics* 39 (2023) btac812.
- [23] Moraghebi M, Negahi AA, Bazireh H, Abbasi H, Ahmadi M, Sarikhani Z, Mousavi P, The analysis of SNPs' function in miR-21 and miR146a/b in multiple sclerosis and active lesions: an in silico study. *Bioinform Biol Insights* 16 (2022) 11779322221116322.
- [24] Moraghebi M, Maleki R, Ahmadi M, Negahi AA, Abbasi H, Mousavi P, In silico analysis of polymorphisms in microRNAs deregulated in Alzheimer disease. *Front Neurosci* 15 (2021) 631852.
- [25] Preskill C, Weidhaas JB, SNPs in microRNA binding sites as prognostic and predictive cancer biomarkers. *Crit Rev Oncog* 18 (2013) 327-340.
- [26] Ager EI, Neo J, Christophi C, The renin-angiotensin system and malignancy. *Carcinogenesis* 29 (2008) 1675-1684.
- [27] [27] Saleeb R, Kim SS, Ding Q, Scorilas A, Lin S, Khella HW, Boulos C, Ibrahim G, Yousef GM, The miR-200 family as prognostic markers in clear cell renal cell carcinoma. *Urol Oncol* 37 (2019) 955-963.
- [28] Jo H, Shim K, Jeoung D, Potential of the miR-200 family as a target for developing anti-cancer therapeutics. *Int J Mol Sci* 23 (2022) 5881.
- [29] Liu Y, Jiang Y, Li W, Han C, Qi Z, MicroRNA and mRNA analysis of angiotensin II-induced renal artery endothelial cell dysfunction. *Exp Ther Med* 19 (2020) 3723-3737.
- [30] Khella H, Bakhet M, Allo G, Jewett M, Girgis A, Latif A, Girgis H, Von Both I, Bjarnason G, Yousef G, miR-192, miR-194 and miR-215: a convergent microRNA network suppressing tumor progression in renal cell carcinoma. *Carcinogenesis* 34 (2013) 2231-2239.
- [31] Pacurari M, Tchounwou PB, Role of microRNAs in renin-angiotensin-aldosterone system-mediated cardiovascular inflammation and remodeling. *Int J Inflam* 2015 (2015) 101527.
- [32] Ye D, Shen Z, Zhou S, Function of microRNA-145 and mechanisms underlying its role in malignant tumor diagnosis and treatment. *Cancer Manag Res* (2019) 969-979.
- [33] Badi SA, Malek A, Paolini A, Masoumi MR, Seyedi SA, Amanzadeh A, Masotti A, Khatami S, Siadat SD, Downregulation of ACE, AGTR1, and ACE2 genes mediating SARS-CoV-2 pathogenesis by gut microbiota members and their postbiotics on Caco-2 cells. *Microb Pathog* 173 (2022) 105798.
- [34] Marques FZ, Campain AE, Tomaszewski M, Zukowska-Szczechowska E, Yang YHJ, Charchar FJ, Morris BJ, Gene expression profiling reveals renin mRNA overexpression in human hypertensive kidneys and a role for microRNAs. *Hypertension* 58 (2011) 1093-1098.
- [35] Nemezc M, Alexandru N, Tanko G, Georgescu A, Role of microRNA in endothelial dysfunction and hypertension. *Curr Hypertens Rep* 18 (2016) 87.
- [36] Sethupathy P, Borel C, Gagnebin M, Grant GR, Deutsch S, Elton TS, Hatzigeorgiou AG, Antonarakis SE, Human microRNA-155 on chromosome 21 differentially interacts with its polymorphic target in the AGTR1 3' untranslated region: a mechanism for functional single-nucleotide polymorphisms related to
- [37] Abdolahi S, Hosseini M, Rezaei R, Mohebbi SR, Rostami-Nejad M, Mojarad EN, Mirjalali H, Yadegar A, Aghdai HA, Zali MR, Evaluation of miR-200c-3p and miR-421-5p levels during immune responses in the admitted and recovered COVID-19 subjects. *Infect Genet Evol* 98 (2022) 105207.
- [38] Improta-Caria AC, Aras MG, Nascimento L, De Sousa RAL, Aras-Júnior R, Souza BSdF, MicroRNAs regulating renin-angiotensin-aldosterone system, sympathetic nervous system and left ventricular hypertrophy in systemic arterial hypertension. *Biomolecules* 11 (2021) 1771.
- [39] Adamcova M, Kawano I, Simko F, The impact of microRNAs in renin-angiotensin-system-induced cardiac remodelling. *Int J Mol Sci* 22 (2021) 4762.
- [40] Cheng C, Guo L, Ma Y, Wang Z, Fan X, Shan Z, Up-regulation of miR-155-3p inhibits E2F7 to regulate the progression of renal carcinoma cells. *Cancer Manag Res* 12 (2020) 11723.
- [41] Ahmadi M, Pashangzadeh S, Mousavi P, Saffarzadeh N, Habibi MA, Hajiesmaeili F, Rezaei N, ACE2 correlates with immune infiltrates in colon adenocarcinoma: Implication for COVID-19. *Int Immunopharmacol* 95 (2021) 107568.
- [42] Dai S, Li F, Xu S, Hu J, Gao L, The important role of miR-1-3p in cancers. *J Transl Med* 21 (2023) 769.
- [43] Li T, Jiang B, Wu Y, Yang J, Ma C, Yuan Y, Association of Genetic Polymorphisms and Serum Levels of miR-1-3p with Postoperative Mortality following Abdominal Aortic Aneurysm Repair. *J Clin Med* 12 (2023) 946.
- [44] Zhang Y, Ma S, Zhang J, Lou L, Liu W, Gao C, Miao L, Sun F, Chen W, Cao X, MicroRNA-142-3p promotes renal cell carcinoma progression by targeting RhoBTB3 to regulate HIF-1 signaling and GGT/GSH pathways. *Sci Rep* 13 (2023) 5935.
- [45] Zhu W-J, Yan Y, Zhang J-W, Tang Y-D, Han B, Effect and mechanism of miR-26a-5p on proliferation and apoptosis of hepatocellular carcinoma cells. *Can Manag Res* 12 (2020) 3013-3022.
- [46] [Kooshkaki O, Rezaei Z, Rahmati M, Vahedi P, Derakhshani A, Brunetti O, Baghbanzadeh A, Mansoori B, Silvestris N, Baradaran B, MiR-144: a new possible therapeutic target and diagnostic/prognostic tool in cancers. *Int J Mol Sci* 21(2020) 2578.
- [47] Biersack B, Current state of phenolic and terpenoidal dietary factors and natural products as non-coding RNA/microRNA modulators for improved cancer therapy and prevention. *Non-coding RNA Res* 1 (2016) 12-34.

## Review paper

## Single nucleotide polymorphisms in renin-angiotensin pathway-related miRNAs in clear cell renal carcinoma: A bioinformatics study

Pegah Mousavi<sup>1</sup>, Soudabeh Sabetian<sup>2</sup>, Aghdas Dehghani<sup>3\*</sup>*1. Molecular Medicine Research Center, Hormozgan Health Institute, Hormozgan University of Medical Sciences, Bandar Abbas, Iran**2. Infertility Research Center, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran**3. Endocrinology and Metabolism Research Center, Hormozgan University of Medical Sciences, Bandar Abbas, Iran*

Received: 29 July 2024

Accepted: 24 August 2024

## Abstract

Clear cell renal carcinoma (KIRC) is the most common type of kidney cancer and has a poor prognosis with a low overall survival rate, resulting in thousands of deaths per year. There is a critical need to understand the molecular mechanisms of KIRC to identify new biomarkers. The renin-angiotensin system (RAS), known for its regulatory role in cardiovascular, renal, and tissue functions, has been demonstrated in numerous studies to be significantly involved in the pathogenesis of malignant tumors. While microRNA has been studied as a biomarker and prognostic tool for different cancers, it remains challenging to explore its role in kidney cancer because a single miRNA can target multiple genes within biological networks and pathways. The aim of this study is to theoretically analyze the potential impact of single nucleotide polymorphisms (SNPs) in miRNAs related to genes involved in the renin-angiotensin pathway in clear cell renal carcinoma. To accomplish this goal, several online tools, including miRTarBase, CancerMIRNome, miRNASNPV3, UALCAN, and Ncpath were used. This study provides a list of confirmed SNPs that can affect the expression or function of renin-angiotensin pathway-related miRNAs in clear cell renal cell carcinoma disease for a prospective laboratory study in the diagnosis and treatment management of clear cell renal cell carcinoma.

**Keywords:** Clear cell renal carcinoma, Single nucleotide polymorphisms, Renin-angiotensin system, miRNA

Please cite this article as follows Please cite this article as follows:

Mousavi P, Sabetian S, Dehghani A, Single nucleotide polymorphisms in renin-angiotensin pathway-related miRNAs in clear cell renal carcinoma: A bioinformatics study. *Iran J Physiol Pharmacol* 8 (2024) 73-89.

\*Corresponding authors: aghdas.dehghani@yahoo.com (ORCID: 0000-0002-9833-7335)