

Association between *HOTAIR* rs1899663 G>T Gene Polymorphism and Thyroid Cancer Susceptibility

R. Madadi Rad (MSc)¹, N. Pouladi (PhD)^{*1}, A. Nemati Bosharani (MSc)¹,
M. Alizadeh (MSc)¹

1. Department of Cellular and Molecular Biology, Faculty of Basic Sciences, Azarbaijan Shahid Madani University, Tabriz, I.R.Iran.

Article Type ABSTRACT

Research Paper

Background and Objective: Studies show that single nucleotide polymorphisms of the *HOTAIR* gene are associated with a variety of cancers, including colorectal, breast, and thyroid cancers. The product of the *HOTAIR* gene is a long non-coding RNA that is involved in regulating gene expression, cell cycle and apoptosis and is considered an oncogene. The present study was conducted to investigate the association between *HOTAIR* rs1899663 G>T gene polymorphism and thyroid cancer susceptibility in northwestern Iran.

Methods: In this case-control study, peripheral blood was obtained from 90 patients with thyroid cancer referred to Tabriz hospitals as well as 198 healthy individuals. After DNA extraction by saturated salt and proteinase K method, single nucleotide polymorphism of *HOTAIR* rs1899663 gene was examined by tetra-primers ARMS PCR. Then, allelic and genotypic frequencies of control and case groups were calculated and compared.

Received:

May 17th 2021

Revised:

Aug 8th 2021

Accepted:

Sep 18th 2021

Findings: In this study, the genotypic frequencies of GG, GT and TT in the case group were 23.3%, 49% and 27.7%, and in the control group were 20.2%, 41% and 38.8%, respectively. Allele frequencies of G and T were 48% and 52.2% in the case group and 41% and 59% in the control group, respectively. Allelic and genotypic comparisons between case and control groups showed no significant relationship.

Conclusion: The results of the study showed that *HOTAIR* rs1899663 gene polymorphism is not associated with any of the clinicopathological features of thyroid cancer.

Keywords: Cancer, Thyroid, *HOTAIR*, Polymorphism.

Cite this article: Madadi Rad R, Pouladi N, Nemati Bosharani A, Alizadeh M. Association between *HOTAIR* rs1899663 G>T Gene Polymorphism and Thyroid Cancer Susceptibility. *Journal of Babol University of Medical Sciences*. 2022; 24(1): 95-102.



© The Author(S).

Publisher: Babol University of Medical Sciences

*Corresponding Author: N. Pouladi (PhD)

Address: Department of Cellular and Molecular Biology, Faculty of Basic Sciences, Azarbaijan Shahid Madani University, Tabriz, I.R.Iran.

Tel: +98 (41) 31452103. E-mail: Srna52@gmail.com

بررسی همراهی پلی مورفیسم ژن *HOTAIR* rs1899663 G>T در استعداد ابتلا به تومورهای

تیروئیدی

رعنا مددی راد (MSc)^۱، ناصر پولادی (PhD)^{۱*}، آسان نعمتی بوشارانی (MSc)^۱، مریم علیزاده (MSc)^۱

۱. گروه زیست شناسی سلولی و مولکولی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه شهید مدنی آذربایجان، تبریز، ایران

نوع مقاله	چکیده
مقاله پژوهشی	سابقه و هدف: مطالعات حاکی از آن است که چندشکلی های تک نوکلئوتیدی ژن <i>HOTAIR</i> در انواع سرطان ها نظیر سرطان کولورکتال، پستان و تیروئید همراهی دارد. محصول ژن <i>HOTAIR</i> یک RNA غیر کد کننده طویل است که در تنظیم بیان ژن، چرخه سلولی و آپوپتوز دخالت دارد و یک آنکوژن محسوب می شود. این مطالعه با هدف بررسی چندشکلی rs1899663 G>T در استعداد ابتلا به تومور تیروئید در شمال غرب ایران انجام گرفت. مواد و روش ها: در این مطالعه موردی- شاهدی خون محیطی از ۹۰ بیمار مبتلا به سرطان تیروئید مراجعه کننده به بیمارستان های تبریز و ۱۹۸ فرد سالم تهیه شد. پس از استخراج DNA به روش نمک اشباع و پروتئیناز K، چندشکلی تک نوکلئوتیدی ژن <i>HOTAIR</i> rs1899663 به روش تترا- آرمز مورد بررسی قرار گرفت. سپس فراوانی آللی و ژنوتیپی گروه سالم و بیمار محاسبه و مقایسه گردید. یافته ها: در این مطالعه، فراوانی ژنوتیپی GG، GT و TT در گروه بیمار به ترتیب ۳۳/۳٪، ۴۹٪ و ۲۷/۷٪ و در گروه کنترل، ۲۰/۲٪، ۴۱٪ و ۳۸/۸٪ به دست آمد. فراوانی آللی G و T به ترتیب در گروه بیمار، ۴۸٪ و ۵۲/۲٪ و در گروه کنترل ۴۱٪ و ۵۹٪ محاسبه شد. مقایسه آللی و ژنوتیپی بین دو گروه بیمار و کنترل فاقد هرگونه ارتباط معنی داری بود. نتیجه گیری: نتایج مطالعه نشان داد که چندشکلی ژن <i>HOTAIR</i> rs1899663 با هیچ یک از ویژگی های کلینیکوپاتولوژیکی سرطان تیروئید همراهی ندارد. واژه های کلیدی: سرطان، تیروئید، <i>HOTAIR</i>، پلی مورفیسم.

استناد: رعنا مددی راد، ناصر پولادی، آسان نعمتی بوشارانی، مریم علیزاده. بررسی همراهی پلی مورفیسم ژن *HOTAIR* rs1899663 G>T در استعداد ابتلا به تومورهای تیروئیدی. مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی بابل، ۱۴۰۱؛ ۲۴(۱): ۹۵-۱۰۲.



© The Author(S).

Publisher: Babol University of Medical Sciences

این مقاله مستخرج از پایان نامه رعنا مددی راد دانشجوی کارشناسی ارشد رشته زیست شناسی سلولی و مولکولی دانشگاه شهید مدنی آذربایجان می باشد.

* مسئول مقاله: دکتر ناصر پولادی

رایانامه: Srna52@gmail.com

آدرس: تبریز، دانشگاه شهید مدنی آذربایجان، دانشکده علوم پایه، گروه زیست شناسی سلولی و مولکولی. تلفن: ۰۴۱-۳۱۴۵۲۱۰۳

مقدمه

سرطان تیروئید یکی از شایع ترین بدخیمی های غدد درون ریز است (۱). بر اساس سایت GLOBOCAN، قاره آسیا بیشترین میزان شیوع سرطان تیروئید را در هر دو جنس و در همه سنین داشته است (۲). مطالعات نشان می دهند بیان ژن *HOTAIR* در بسیاری از سرطان ها و به ویژه در بدخیمی ها به طور قابل ملاحظه ای افزایش می یابد، افزایش بیان این ژن و میزان درگیری غدد لنفاوی نیز با هم مرتبط است (۳). ژن *HOTAIR* یک آنکوژن است و نقش مهمی در تنظیم بیان ژن و همچنین پویایی کروماتین دارد. این ژن که به نام های *HOXC-AS4* و *HOXC11-AS1* نیز شناخته می شود، روی بازوی بلند کروموزوم شماره ۱۲ در منطقه ۱۳q۱۳ و بین کلاسترهای ژن *HOXC* واقع شده است که در خلاف جهت این ژن ها نسخه برداری می شود (۴). رونوشت این ژن، یک RNA غیر کد کننده طویل (lncRNA) است که به عنوان یک داربست مولکولی عمل می کند (۵) با دمین ۵' خود به کمپلکس پروتئینی PRC2 و با دمین ۳' خود به LSD1 متصل می شود (۶). PRC2 یک مهارکننده نسخه برداری است و ژن *HOX-D* را تری متیله می کند. LSD1 نیز با متیلاسیون *HOXD*، در نهایت سلول را به سمت سرطانی شدن پیش می برد (۷و۶).

هدف از انجام این پژوهش مقایسه فرکانس های آلی و ژنوتیپی پلی مورفیسم ژن *HOTAIR* rs1899663 در دو گروه شاهد و بیمار برای بررسی احتمال ارتباط بین استعداد ابتلا به تومور تیروئید و این ژن در منطقه شمال غرب ایران می باشد.

مواد و روش ها

این مطالعه مورد شاهدهی پس از تصویب در کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی تبریز با کد اخلاق شماره IR.TBZMED.REC.1399.1163 بر روی ۹۰ نفر از بیماران مراجعه کننده به بیمارستان نورنجات تبریز انجام شد. ۴ سی سی خون محیطی به همراه ماده ضد انعقاد خون (EDTA) از نمونه خون افراد مبتلا به سرطان تیروئید و ۱۹۸ نمونه کنترل از افرادی که هیچ گونه سابقه سرطان در اقوام درجه یک و دو آنها وجود نداشت، پس از اخذ رضایت نامه کتبی گرفته شد. تشخیص نوع و درجه بندی تومور در افراد بیمار توسط پاتولوژیست صورت گرفت.

استخراج DNA ژنومی از خون محیطی: در این پژوهش از روش نمک اشباع و پروتئیناز K جهت استخراج DNA از خون محیطی استفاده شد. DNA استخراج شده هم از نظر کیفی و هم از نظر کمی به روش الکتروفورز بر روی ژل آگارز ۲٪ در آزمایشگاه زیست شناسی سلولی و مولکولی دانشگاه شهید مدنی آذربایجان مورد بررسی قرار گرفت.

تکنیک واکنش زنجیره ای پلیمرز: در این پژوهش از تکنیک TETRA-ARMS-PCR با چهار پرایمر به صورت هم زمان برای یک واکنش استفاده شد. توالی پرایمرها، مشخصات دمایی و غلظت واکنش PCR در جداول ۱ تا ۳ آورده شده است.

جدول ۱. توالی های پرایمری

نام پرایمر	توالی پرایمر	نوع پرایمر
FO (مستقیم بیرونی)	TGAAAGCCACGATCATTTAACATAACCA	پرایمر عمومی
RO (معکوس بیرونی)	TATCTACGGAGGACTTACCTTATTCCTG	پرایمر عمومی
FI (مستقیم داخلی)	CCATTATTCCAGTTGAGGAGGGTGAA	پرایمر اختصاصی T
RI (معکوس داخلی)	CCAAAAGCCTCTAATTGTTGTCGCC	پرایمر اختصاصی G

جدول ۲. اجزای واکنش PCR

اجزای واکنش	مقدار	شرکت تولید کننده
مستر میکس	۵ μl	(شرکت AMPLIQON ایران)
پرایمرهای خارجی	۰/۷ μl	شرکت ژن فن آوران ایران
پرایمرهای داخلی	۰/۳ μl	شرکت ژن فن آوران ایران
ddH ₂ O	۵ μl	شرکت داروسازی اکسیر
DNA	۱ μl	استخراج شده از خون افراد

جدول ۳. مشخصات دمایی و زمان

مرحله سیکل	دما (سانتی گراد)	زمان (ثانیه)	تعداد سیکل
واسرشت اولیه	۹۴	۳۰۰	۱
واسرشت	۹۴	۳۰	۴۰
اتصال	۵۹	۴۵	۴۰
گسترش	۷۲	۳۰	۴۰
گسترش نهایی	۷۲	۲۴۰	۱
نگهداری	۴	۳۰	۱

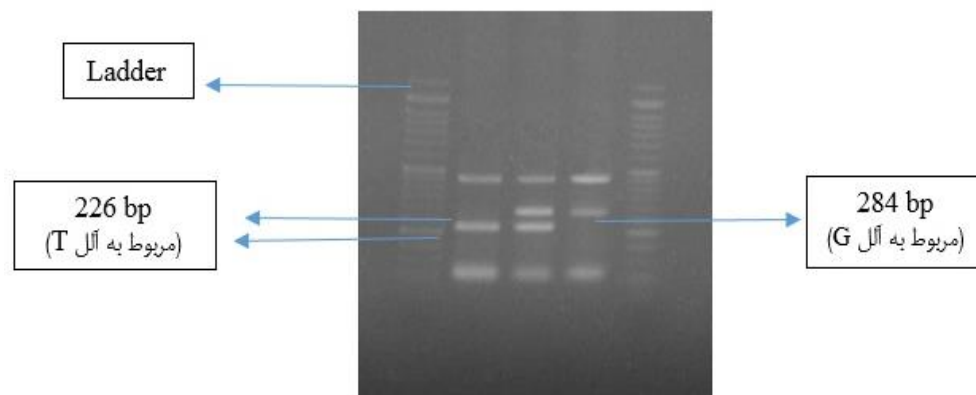
سیکل های واکنش PCR: در حجم کل ۱۳ میکرولیتر، در ترموسایکلر (شرکت Techne Biometra انگلستان - آلمان) انجام گردید. در نهایت نتایج حاصل بر روی ژل آگارز (پودر آگارز LE شرکت SinaClon ایران) ۲٪ مشاهده شد.

بررسی آماری: ارتباط بین ژنوتیپ ها و آلل ها بین گروه شاهد و بیمار با استفاده از آزمون مربع کای پیرسون و آزمون دقیق فیشر با نسبت شانس (OR) و فاصله اطمینان (CI) ۹۵٪ محاسبه گردید. برای محاسبه آزمون های آماری ژنوتیپ ها و آلل ها از برنامه javastat online statistics استفاده شد. برای بررسی ارتباط بین ژنوتیپ ها و مشخصات بالینی بیماران و همین طور شاخص میانگین از نرم افزار SPSS نسخه ۲۵ استفاده شد و $p < 0.05$ معنی دار در نظر گرفته شد.

آنالیز Insilico: آنالیز این مطالعه با استفاده از وب سایت و نرم افزارهای آنالیز نظیر rSNPBase، rNASnp و SpliceAid 2 انجام گردید.

یافته ها

محصولات تکثیری حاصل از PCR به وسیله الکتروفورز در ژل آگارز ۲٪ رویت گردید و افراد بر اساس قطعات ایجاد شده، در سه ژنوتیپ GG، TT و GT طبقه بندی شدند (شکل ۱).



شکل ۱. الکتروفورز محصولات PCR افراد بیمار و مارکرهای ۵۰ جفت بازی بر روی ژل آگارز ۲٪. ژنوتیپ ها از چپ به راست به ترتیب TT، GT و GG می باشند.

ارتباط ژنوتیپی و ویژگی های کلینیکوپاتولوژیکی بیماران: بیماران از نظر مشخصات بالینی از قبیل جنسیت، سن، نوع تومور، درجه تومور، اندازه تومور، درگیری غدد لنفاوی و سمت درگیر مورد ارزیابی قرار گرفتند (جدول ۴) و ارتباط معنی داری بین ژنوتیپ ها و ویژگی های کلینیکوپاتولوژیکی بیماران مشاهده نشد.

فراوانی ژنوتیپ و آلل: فراوانی آلل G در ۴۸٪ بیماران و ۴۱٪ از افراد سالم و آلل T در ۵۲٪ از بیماران و ۵۹٪ از افراد سالم تشخیص داده شد. ژنوتیپ GT بیشترین میزان فراوانی را در هر دو گروه بیمار و کنترل به خود اختصاص داده است. فرکانس های آللی و ژنوتیپی در دو گروه کنترل و بیمار تفاوت معنی داری بین بیماران و گروه کنترل در جمعیت مورد مطالعه نداشت (جدول ۵).

جدول ۴. ارتباط ژنوتیپی rs1899663 با ویژگی های کلینیکی پاتولوژیکی بیماران

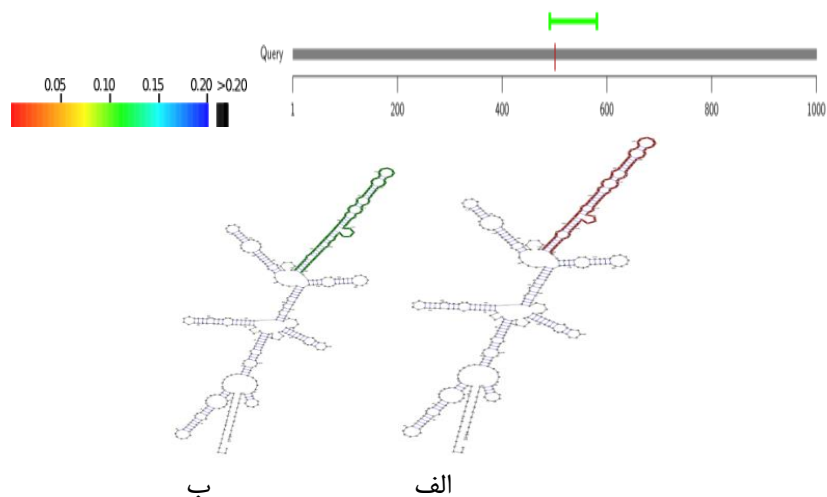
p-value	ژنوتیپ ها			ویژگی های بالینی و آسیب شناختی
	TT	GT	GG	
۰/۹۳۹	۱۸	۳۴	۱۶	جنسیت
	۷	۱۰	۱۶	زن مرد
۰/۵۳۳	۱۳	۲۴	۸	سن
	۱۲	۲۰	۱۳	>۳۸ ≤۳۸
۰/۸۶۷	۶	۱۱	۶	نوع تومور
	۱	۱	۰	فولیکولار آدنوما
	۱	۰	۱	فولیکولار کارسینوما
	۱۷	۲۹	۱۳	مدولاری کارسینوما پاپیلاری کارسینوما
۰/۶۳۳	۱۱	۱۴	۵	درجه تومور
	۶	۱۳	۹	I
	۱	۲	۰	II
	۰	۱	۱	III IV
۰/۴۳۹	۱۰	۲۳	۱۰	اندازه تومور
	۸	۹	۸	>۲/۵ ≤۲/۵
۰/۵۵۱	۱۱	۱۲	۴	درگیری غدد لنفی
	۳	۷	۲	N0
	۱۱	۱۲	۱۰	N1 Nx
۰/۹۸۹	۱۰	۱۳	۸	سمت درگیر
	۷	۱۱	۴	راست
	۲	۴	۲	چپ هر دو سمت

جدول ۵. توزیع آللی و ژنوتیپی در دو گروه کنترل و بیمار در پلی مورفیسم ژن *HOTAIR*

ژنوتیپ / آلل	کنترل (n=۱۹۸) تعداد(درصد)	بیمار (n=۹۰) تعداد(درصد)	*Pearson's p-value	OR (CI 95%) (ضریب اطمینان)
GG	۴۰(٪۲۰/۲)	۲۱(٪۲۳/۳)	۰/۵۴۷	۱/۲۰۲ (۰/۶۶۰-۲/۱۸۹)
GT	۸۱(٪۴۱)	۴۴(٪۴۹)	۰/۲۰۵	۱/۳۸۲ (۰/۸۳۷-۲/۲۸۰)
TT	۷۷(٪۳۸/۸)	۲۵(٪۲۷/۷)	۰/۰۶۸	۰/۶۰۴ (۰/۳۵۱-۱/۰۴۰)
G	۱۶۱(٪۴۱)	۸۶(٪۴۸)	۰/۱۰۹	۱/۳۳۵ (۰/۹۳۷-۱/۹۰۴)
T	۲۳۵(٪۵۹)	۹۴(٪۵۲/۲)	۰/۱۰۹	۰/۷۴۹ (۰/۵۲۵-۱/۰۶۸)

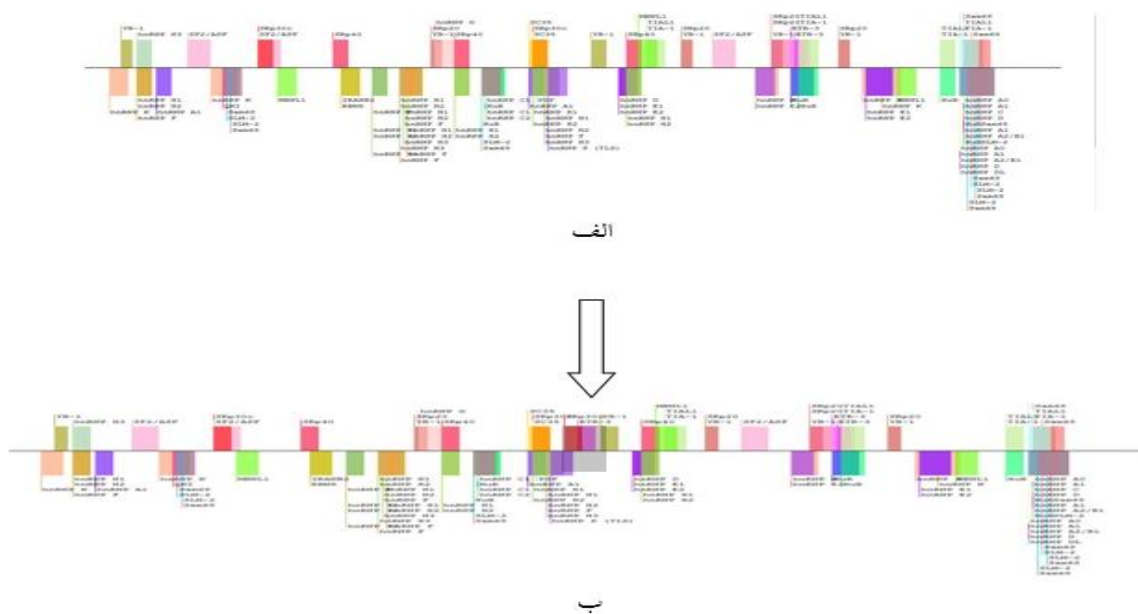
*p<۰/۰۵ قابل قبول است.

نتایج insillico: نرم افزار آنالین RNAsnp نشان می دهد در صورت تغییر آل وحشی G به T، در ساختار دوم RNA تغییر معنی داری ایجاد می شود ($p < 0.05$) (شکل ۲).



شکل ۲. نتیجه حاصل از نرم افزار RNAsnp: مقایسه شماتیکی ساختار دوم RNA در حالت وحشی (الف) و حالت پلی مورف (ب)

آنالیز دیگری با نرم افزار SpliceAid2 نشان می دهد در حالت پلی مورف، دو پروتئین SRP30C و ETR-3 به ناحیه SNP متصل می شوند این در حالی است که با وجود آل وحشی (G) این دو پروتئین توانایی اتصال ندارند (شکل ۳).



شکل ۳. نتیجه حاصل از نرم افزار SpliceAid2: الف: اتصال پروتئین ها و فاکتورهای رونویسی مختلف در حضور آل وحشی (G). ب: اتصال دو پروتئین SRP30C و ETR-3 در حالت پلی مورف و بروز SNP.

نرم افزار rsSNOBase نشان می دهد این پلی مورفیسم در تنظیم بیان ژن *HOTAIR* تنها دارای نقش تنظیمی پروکسیمال بوده و هیچ گونه فعالیتی در تنظیمی دیستال (دور) این ژن ندارد (شکل ۴).

SNP_ID	rSNP	LD-proxy of rSNP($r^2>0.8$)	Proximal regulation	Distal regulation	miRNA regulation	RNA binding protein mediated regulation	eQTL
rs1899663	yes	yes	yes	no	no	no	yes

شکل ۴. نتایج نرم افزار rsSNOBase: rs1899663 نزدیک به پروموتور ژن *HOTAIR* قرار دارد و فاقد نقش تنظیمی دور بر نقاط بالا دست و پایین دست است.

بحث و نتیجه گیری

در این مطالعه هیچ گونه ارتباط آلی و ژنوتیپی ژن *HOTAIR* rs1899663 با استعداد ابتلا به تومور تیروئید در جمعیت آماری منطقه شمال غرب ایران مشاهده نشد اما نتایج حاصل از بررسی SNP در نرم افزار آنالین RNAsnp که در آن معیار معنی داری کوچکتر از ۰/۲ بیان شده است نشان می دهد در صورت تغییر آل وحشی G به T، در ساختار دوم RNA تغییر معنی داری ایجاد می شود. بر روی ژن *HOTAIR* پلی مورفیسم های زیادی وجود دارد که در تغییر بیان این ژن موثر هستند (۸). پلی مورفیسم rs1899663 که در این مطالعه به آن پرداخته شده است در اینترون ۲ ژن *HOTAIR* واقع شده و نقش تشدید کننده دارد (۹). نتایج حاصل از متا-آنالیزی که در سال ۲۰۱۹ انجام شده نشان می دهد بین احتمال ابتلا به سرطان و ژن *HOTAIR* ارتباط معنی داری وجود دارد اما در آن به اهمیت پیش آگهی این ژن در استعداد ابتلا به انواع سرطان پرداخته نشد (۱۰).

در مطالعه دیگری که در سال ۲۰۱۸ صورت گرفت ارتباط بین پلی مورفیسم ژن *HOTAIR* rs1899663، rs920778، rs4759314 و میزان ارتباط آن ها با سرطان مورد ارزیابی قرار گرفت (۱۱). با بررسی ۷۱۵۱ نمونه سرطانی و ۸۷۴۰ کنترل ارتباط معنی داری بین پلی مورفیسم ژن *HOTAIR* و احتمال خطر ابتلا به سرطان در آن ها مشاهده نشد اما آنالیزهای تکمیلی آن ها نشان داد بین *HOTAIR* rs920778 ممکن است با احتمال ابتلا به سرطان های مختلف مرتبط باشد (۱۲). بر اساس مطالعات صورت گرفته، افزایش میزان بیان ژن *HOTAIR* در سلول های سرطانی نسبت به سلول های طبیعی غده تیروئید باعث ارتباط این ژن و کارسینومای پاپیلاری می شود (۱۳). برخی از پلی مورفیسم های این ژن همراهی متوسطی را در ابتلا به کارسینومای پاپیلاری نشان دادند (۱۴) اما نکته جالب توجه این بود که در rs920778 این همراهی تنها در زنان مشاهده شد اما در مردان ارتباط معنی داری نداشته است (۱۵). در مطالعه ای دیگر، پلی مورفیسم های مختلف ژن *HOTAIR* مورد بررسی قرار گرفت که G>T rs1899663 با افزایش خطر سرطان پستان ارتباط مثبت داشت اما همراهی معنی داری با سایر سرطان ها دیده نشد (۱۶).

به جز دو مورد از مطالعات ذکر شده، در بیشتر مطالعات انجام گرفته ارتباط معنی داری بین بیماری های مختلف و پلی مورفیسم های مختلف ژن *HOTAIR* دیده نمی شود. در مطالعه حاضر نیز همسو با اکثر مطالعات قبلی، ارتباط معنی داری بین پلی مورفیسم مورد مطالعه و ریسک ابتلا به سرطان تیروئید یافت نشد. علت نتایج متناقض در مطالعات مختلف در این زمینه را می توان با تفاوت در زمینه ژنتیکی جمعیت های مورد مطالعه توجیه نمود. همچنین نوع سرطان مورد مطالعه در پژوهش ها متفاوت است. اختلافات نژادی و عوامل محیطی مانند اختلاف در منطقه جغرافیایی و به دنبال آن تفاوت در نوع تغذیه نیز می توانند از عوامل تأثیرگذار در این مسئله باشند. به طور کلی در پروژه تحقیقاتی حاضر فراوانی آلی و توزیع ژنوتیپ های مختلف پلی مورفیسم *HOTAIR* rs1899663 در جمعیت آذری- ایرانی گزارش می شود. با توجه به نتایج حاصل، فراوانی ژنوتیپ های مختلف و فراوانی آلی این پلی مورفیسم در جمعیت مورد مطالعه همراهی معنی داری با خطر ابتلا به سرطان تیروئید ندارد، بنابراین نمی توان این پلی مورفیسم را به عنوان عامل مستعد کننده برای سرطان تیروئید در نظر گرفت. در بررسی ارتباط علایم بالینی و ژنوتیپ، ارتباط معنی داری بین این پلی مورفیسم و تومور وجود ندارد، بررسی های دیگر با تعداد نمونه های بیشتر می تواند نتایج این مطالعه را تکمیل نماید.

با توجه به ردیابی این ژن در سایر سرطان ها، بررسی این ژن در جوامع آماری بزرگتر و مقایسه نتایج حاصل از بررسی پلی مورفیسم های این ژن با سایر مناطق ایران و جهان برای مطالعات بیشتر توصیه می شود.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از حمایت های معاونت پژوهشی دانشگاه شهید مدنی آذربایجان قدردانی می گردد.

References

1. Grimm D. Current Knowledge in Thyroid Cancer-From Bench to Bedside. *Int J Mol Sci.* 2017;18(7):1529.
2. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin.* 2018;68(6):394-424.
3. Hosseinpourfeizi MA, Dianati S, Samir A, Dastmalchi N, Pouladi N. Investigation of Mutations of Exon 11-A of BRCA1 Gene in Women with Breast Cancer in the Northwest of Iran. *J Babol Univ Med Sci.* 2018;20(7):28-32. [In Persian]
4. Noori-Daloii MR, Eshaghkhani Y. lncRNAs: significance and function mechanisms. *Med Sci J Islam Azad Univ, Tehran Med Branch.* 2015;25(2):79-94. [In Persian]
5. Saenko VA, Rogounovitch TI. Genetic Polymorphism Predisposing to Differentiated Thyroid Cancer: A Review of Major Findings of the Genome-Wide Association Studies. *Endocrinol Metab (Seoul).* 2018;33(2):164-74.
6. Zhu H, Lv Z, An C, Shi M, Pan W, Zhou L, et al. Onco-lncRNA HOTAIR and its functional genetic variants in papillary thyroid carcinoma. *Sci Rep.* 2016;6:31969.
7. Li J, Cui Zh, Li H, Lv X, Gao M, Yang Z, et al. Long non-coding RNA HOTAIR polymorphism and susceptibility to cancer: an updated meta-analysis. *Environ Health Prev Med.* 2018;23(1):8.
8. Santos LS, Silva SN, Gil OM, Ferreira TC, Limbert E, Rueff J. Mismatch repair single nucleotide polymorphisms and thyroid cancer susceptibility. *Oncol Lett.* 2018;15(5):6715-26.
9. Xu B, Shao Q, Xie K, Zhang Y, Dong T, Xia Y, et al. The Long Non-Coding RNA ENST00000537266 and ENST00000426615 Influence Papillary Thyroid Cancer Cell Proliferation and Motility. *Cell Physiol Biochem.* 2016;38(1):368-78.
10. Yu F, Wang L, Zhanng B. Long non-coding RNA DRHC inhibits the proliferation of cancer cells in triple negative breast cancer by downregulating long non-coding RNA HOTAIR. *Oncol Lett.* 2019;18(4):3817-22.
11. Obaid M, Udden SMN, Deb P, Shihabeddin N, Zaki MH, Mandal SS. LncRNA HOTAIR regulates lipopolysaccharide-induced cytokine expression and inflammatory response in macrophages. *Sci Rep.* 2018;8(1):15670.
12. Abdel-Qadir H, Austin PC, Lee DS, Amir E, Tu JV, Thavendiranathan P, et al. A Population-Based Study of Cardiovascular Mortality Following Early-Stage Breast Cancer. *JAMA Cardiol.* 2017;2(1):88-93.
13. Hossein Pour Feizi MA, Ravanbakhsh Gavvani R, Pourahmad R, Pouladi N, Azarfam P, Montazeri V. Association of p53 Arg/Pro Polymorphism at Codon 72 with Risk of Breast Cancer in East Azerbaijani Women. *J Babol Univ Med Sci.* 2012;14(2):31-8. [In Persian]
14. Jendrzewski J, Thomas A, Liyanarachchi S, Eiterman A, Tomsic J, He H, et al. PTCSC3 Is Involved in Papillary Thyroid Carcinoma Development by Modulating S100A4 Gene Expression. *J Clin Endocrinol Metab.* 2015;100(10):E1370-7.
15. Rogozinski A, Furioso A, Glikman P, Junco M, Laudi R, Reyes A, et al. Thyroid nodules in acromegaly. *Arq Bras Endocrinol Metabol.* 2012;56(5):300-4.
16. Pan W, Zhou L, Ge M, Zhang B, Yang X, Xiong X, et al. Whole exome sequencing identifies lncRNA GAS8-AS1 and LPAR4 as novel papillary thyroid carcinoma driver alternations. *Hum Mol Genet.* 2016;25(9):1875-84.