بررسی ارتباط چند شکلی کدون ۶۵۵ ژن *her2* با ابتلاء به سرطان تخمدان در استان آذربایجان‌شرقی

رقیه تیزمغز[۱] و ابوالفضل قربانی[۲]*

[۱] **ایران، اهر، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اهر، دانشکده علوم پایه، گروه زیست شناسی**

[۲] **ایران، شبستر، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شبستر، دانشکده علوم دامی و دامپزشکی، گروه علوم دامی**

تاریخ دریافت: ۹۶/۹/۵ تاریخ پذیرش: ۹۶/۱۱/۱۶

چکیده

سرطان تخمدان ششمین سرطان شایع در زنان است که برخی از عوامل محیطی و ژنتیکی در بروز این سرطان نقش دارند. تحقیقات بالینی نشان داده‌اند که بیان بیش از حد ژن *her2* باعث سرطان‌زایی می شود که دربرگیرنده ۲۰ الی ۳۰ درصد سرطانهای پستان و تخمدان می‌باشد. بنابراین در پژوهش حاضر ارتباط چند شکلی بخشی از کدون ۶۵۵ ژن *her2* که با تغییر در فرم فعال گیرنده همراه است با ابتلاء به سرطان تخمدان مورد بررسی قرار گرفت. در مواد و روشهای این مطالعه، چندشکلی ژن فوق در ۷۰ خانم مبتلا به سرطان تخمدان و ۷۰ خانم سالم استان آذربایجان شرقی توسط روش *PCR-RFLP* با استفاده ازآنزیم *BSMI* مورد بررسی قرار گرفت. نتایج توزیع چندشکلی جایگاه مورد بررسی در دوگروه سالم و بیمار بیشترین تفاوت را در ژنوتیپ *AA* نشان داد (۴۰ در برابر ۳). بررسی تفاوت فراوانی ژنوتیپها در دو گروه با استفاده از آزمون کای مربع، اختلاف آماری معنی داری را بین دو گروه نشان داد *(P<0/0001)* که بیانگر ارتباط احتمالی این جایگاه با بروز بیماری است. نتیجه‌گیری حاصل از این مطالعه نشان داد که چندشکلی ژن *her2* در جایگاه فوق، ریسک ابتلاء به سرطان تخمدان را افزایش می دهد.

واژه های کلیدی: سرطان تخمدان– *HER2 –PCR- RFLP*

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۴۳۰۰۲۱۹۱، پست الکترونیکی: abolfazlgorbani@gmail.com

مقدمه

سرطان تخمدان ششمین سرطان شایع است که در میان زنان کشورهای توسعه یافته باعث مرگ می‌شود. تقریباً سالانه ۱۹۰ هزار مورد سرطان تخمدان گزارش می‌شود (۹) و بیشترین شیوع این بیماری، در کشورهای صنعتی و غربی می‌باشد (۱۸). این سرطان در اکثر موارد به دلیل نداشتن علایم و نشانه‌های خاص و نبود غربالگری صحیح جهت تعیین و تشخیص سریع نارساییهای تخمدان، دیر شناسایی می‌گردد (۲۹).

سابقه فامیلی سرطان تخمدان، اندومتریوزیس، کاهش قرار گیری در معرض نور خورشید، استفاده از درمانهای هورمونی و ژنتیک از عوامل خطر مهم ابتلاء به سرطان تخمدان در زنان می‌باشد. به طوری‌که در حدود ۱۰ درصد سرطانهای بدخیم اپیتلیایی تخمدان به دلیل وجود جهش‌های ارثی در ژنهای با نفوذپذیری بالا رخ می‌دهد (۴، ۱۳، ۱۴، ۱۶ و ۳۶).

تقریباً ۹۰ درصد سرطانهای تخمدان را سرطان اپیتلیال تخمدان تشکیل می‌دهد که هتروژن بوده و رده‌بندی آن براساس نوع سلول درگیر است (۵). هر یک از این تومورها به نوبه خود به سه گروه خوش‌خیم، بینابینی و بدخیم تقسیم می‌شوند (۲۶). بیان بیش از حد و جهش در

برخی از ژنها نظیر فاکتور رشد شماره ۲ ایپیدرمال (*her2*) نقش مهمی در ابتلاء به سرطان تخمدان دارد. این ژن که روی بازوی بلند کروموزوم ۱۷ *(17q12)* انسان قرار دارد عضوی از خانواده گیرنده فاکتور رشد اپیدرمال است که به خانواده گیرنده تیروزین کینازها تعلق داشته (۷، ۱۹ و ۳۰) و شامل چهار گیرنده همسان می‌باشد. *her2* شامل یک پروتئین با ۱۲۵۵ اسید آمینه و یک گلیکو پروتئین تراغشایی ۱۸۵ کیلو دالتون است (۳). گیرنده *her2* در اکثر بافتها بیان می‌شود و نقش مهم و کلیدی در عمل‌کردهای مختلف از قبیل رشد و تکثیر و تمایز سلولی دارد (۳۳). تحقیقات بالینی نشان داده است بیان یا تولید بیش از حد *her2* با بیش از ۳۰ درصد سرطانهای تخمدان همراه است (۶، ۲۰، ۲۱، ۳۴ و ۳۹). همچنین افزایش بیان ژن *her2* در افراد مبتلا به سرطان معده (۸ و ۲۰) و سرطان روده بزرگ، مشاهده شده است (۱۷ و ۳۷) و مشخص شد این افزایش بیان ارتباط نزدیکی با کاهش بقا دارد (۴).

علاوه بر نقش کلیدی بیان بیش از حد ژن *her2* در ابتلاء به سرطان، تغییر در ترکیبات آمینواسیدی گیرنده نیز ممکن است موجب ایجاد فرم فعال آن و خطر ابتلاء به سرطان گردد (۲۵). در حمایت از این مطلب چندشکلی نوکلئوتیدی موجود در تراغشا که توسط بخشی از کدون ۶۵۵ ژن *her2* کد می‌شود، شناسایی شد که منجر به جایگزینی والین *(GTC)* به جای ایزولوسین *(ATC)* می‌شود (۳۲). چندین مطالعه در رابطه با ارتباط بین این چندشکلیهای ژنتیکی *her2* کدون ۶۵۵ در نژادهای مختلف انجام شده است (۲۸).

در حالت طبیعی وجود ایزولوسین در کدون ۶۵۵ در ناحیه تراغشایی باعث دیمری شدن ناقص پروتئینهای *her2* فعال و کاهش انتقال سیگنالی در مقایسه با گونه‌های تغییر یافته ژنتیکی که والین در کدون ۶۵۵ دارند، می گردد (۱۰ و ۳۰).

چندین تحقیق ارتباط چندشکلی این جایگاه را با ابتلاء به سرطانهای تخمدان و سینه تأیید کرده و ژنوتیپ هموزیگوت لوسین را به عنوان ژنوتیپ مستعد ژنتیکی در بروز سرطان معرفی نمودند (۱۵، ۲۲، ۲۷ و ۳۵).

استفاده از نشانگرهای مولکولی از جمله *PCR-RFLP* در سالهای اخیر جهت تعیین تنوع ژنتیکی بین جمعیتها کاربرد گسترده‌ای یافته است. به کمک این چندشکلیها می‌توان ارتباط بین ژنوتیپها و صفات مختلف و تفاوتهای ژنتیکی بین جمعیتها را بررسی نمود (۱۱، ۱۲، ۳۱ و ۳۸). این روش مبتنی بر هضم الگو توسط اندونوکئازهای اختصاصی بوده و با تفسیر باندها روی ژل چندشکلیها شناسایی می‌گردد و بیشترین کاربرد را در بررسی و دریافتهای کروموزومی و نقشه برداری از چند شکلیهای مرتبط با بیماریها از جمله سرطان دارد. اولین گزارش قطعی از کاربرد آن برای شناسایی کم خونی می‌باشد (۲۳، ۲۴ و ۳۹). اطلاعات کمی در مورد ارتباط پلی مورفیسم کدون ۶۵۵ ژن*her2* با سرطان تخمدان وجود دارد.

به‌طور کلی با توجه به مطالب یاد شده و به‌دلیل اینکه تاکنون ارتباط چند شکلی کدون ۶۵۵ ژن *her2* با سرطان تخمدان در استان آذربایجان شرقی بررسی نشده است و از سوی دیگر چندشکلی این ناحیه در جمعیتهای مختلف متفاوت است. از این رو پژوهش حاضر با هدف بررسی ارتباط چند شکلی ژن *(A/G)* کدون ۶۵۵ ژن با ابتلاء به سرطان تخمدان در منطقه طرح ریزی گردید.

مواد و روشها

افراد مورد مطاله شامل زنان در گروه سنی ۲۵ تا ۸۰ سال از جمعیت استان آذربایجان شرقی بودند. حجم نمونه براساس تحقیقات قبلی و همچنین روابط آماری مناسب ۱۴۰ نفر در کل انتخاب شد که شامل دو گروه کنترل با ۷۰ خانم سالم (جواب پاتولوژی منفی نمونه تخمدان از نظر سرطان تخمدان) و گروه بیمار با ۷۰ خانم مبتلا به سرطان

تخمدان (جواب پاتولوژی مثبت) بود. تمام نمونه‌ها از بخش پاتولوژی بیمارستان الزهراء تبریز در مدت ۸ ماه با اخذ مجوزهای لازم تهیه شد. بلوک پاتولوژی تمام افراد مورد نظر جدا شده و برش داده شد و *DNA* آنها با استفاده از کیت استخراج *DNA* یکتا تجهیز *(cat numi 9030)* خالص‌سازی شد. *DNA* استخراج شده در میکروتیوبها و در دمای ۲۰- درجه نگهداری گردید.

قطعه ۱۴۸ جفت بازی از کدون ۶۵۵ ژن *her2* توسط آغازگرهای پیش رو

(5`AGAGCGCCAGCCCTCTGACGTCCAT3`) و

پس رو

(5`TCCGTTTCCTGCAGCAGCAGTCTCCGCA3`)

و برنامه دمایی پنج دقیقه در ۹۵ درجه برای دناتوراسیون اولیه و برای تکثیر در ۳۵ سیکل یک دقیقه در ۹۵ درجه سانتی‌گراد، یک دقیقه در ۶۲ درجه سانتی‌گراد و یک دقیقه در ۷۲ درجه سانتی‌گراد و در نهایت ۱۰ دقیقه در ۷۲ درجه سانتی‌گراد تکثیر گردید. بعد از اطمینان ازصحت تکثیر قطعه مورد نظر با استفاده از آنزیم *BSMI* و روش *RFLP* مورد هضم قرار گرفت و محصولات حاصل از هضم بعد از بارگذاری روی ژل ۳ درصد مورد شناسایی قرار گرفتند. برای محاسبه فراوانی و آزمون هاردی واینبرگ از نرم افزار *Popgene S2* و برای بررسی ارتباط چند شکلی ژن مورد بررسی با احتمال ابتلاء به سرطان تخمدان در بین زنان استان آذربایجان شرقی از آزمون کای مربع در سطح احتمال ۵ درصد و نرم افزار *spss* نسخه ۲۴ استفاده شد. چنانچه ارزش *p* مقایسه فراوانی ژنوتیپها بین دو گروه بیمار و سالم کمتر از ۵ درصد به دست می آمد این اختلاف به عنوان اختلاف معنی دار در نظر گرفته می شد و احتمال ارتباط معنی دار بین جایگاه مورد بررسی با بروز بیماری در بین زنان استان آذربایجان شرقی وجود داشت.

نتایج

در مطالعه حاضر میانگین سنی زنان مبتلا به سرطان تخمدان ۱۴/۹۱ ± ۴۹/۶۸ سال و میانگین سن زنان سالم ۹/۹۴±۵۲/۹۹ سال بود که اختلاف آماری معنی داری نداشت ($p\geq0.1$). بعد از برش و آشکارسازی قطعات، آلل *A* با طول ۱۴۸ جفت باز و آلل *G* با طول ۱۱۶ و۳۲ جفت باز مشاهده گردید در نتیجه سه ژنوتیپ *AA* با اندازه ۱۴۸ جفت باز، *AG* بااندازه ۱۴۸، ۱۱۶ و ۳۲ جفت باز و *GG* با اندازه ۱۱۶ و ۳۲ جفت باز مشاهده شد. فراوانی ژنوتیپی و آللی دو گروه از نظر جایگاه مورد نظر مورد بررسی قرار گرفت (جدول ۱ و شکل ۱). نتایج نشان داد که در گروه بیمار ژنوتیپ *AA* با فراوانی ۰/۶۳۵ درصد و آلل *A* با ۰/۸۰۲ درصد بیشترین و ژنوتیپ *GG* با فراوانی ۰/۲۱۷ درصد و آلل *G* با فراوانی ۰/۱۹۸ درصد کمترین فراوانی را داشتند. در حالی که در گروه سالم ژنوتیپ *AG* و آلل *G* دارای بیشترین فراوانی بود. در بررسی کل جمعیت نیز ژنوتیپ *AG* با فراوانی ۰/۵۷۸ درصد و آلل *A* با فراوانی ۰/۶۰۷ درصد بیشترین فراوانی را داشتند. بررسی تعادل هاردی-واینبرگ در جمعیت مورد مطالعه به تفکیک گروههای سالم و بیمار نشان داد که گروه بیمار در تعادل می‌باشد در حالی‌که گروه سالم و کل جمعیت در تعادل هاردی واینبرگ نمی‌باشند که دلیل این امر می‌تواند کوچک بودن جمعیت مورد مطالعه باشد.

بر اساس نتایج، توزیع چند شکلی جایگاه کدون ۶۵۵ ژن *her2* در دو گروه سالم و بیمار بیشترین تفاوت را در ژنوتیپ *AA* نشان داد (۴۰ در برابر ۳) و بررسی تفاوت فراوانی ژنوتیپها در دو جمعیت با آزمون کای مربع اختلاف آماری معنی داری را بین دو گروه نشان داد *(P<0/0001)* که بیانگر ارتباط احتمالی این جایگاه با بروز بیماری است.

برای مقایسه بهتر ژنوتیپها و یافتن ژنوتیپ احتمالی دخیل در بیماری مقایسه بین دو گروه سالم و بیمار به ترکیبات صفحه بعد انجام گرفت.

جدول ۱- جدول توزیع فراوانی، آزمون کای مربع تعادل هاردی واینبرگ، فراوانی اللی، ارزش p مقایسه دو گروه سالم بیمار و برآورد *odd ratio* و دامنه اطمینان برای جایگاه کدون ۶۵۵ ژن *her2* درگروه در زنان استان آذربایجان شرقی

	فراوانی ژنوتیپ‌ها			فراوانی الل‌ها		تعادل هاردی واینبرگ	مقایسه فراوانی دو گروه سالم و بیمار
	AA	*AG*	*GG*	*A*	*G*	ارزش کای مربع	ارزش *P*
بیمار	۴۰(۰/۶۳۵)	۲۱(۰/۳۳۳)	۲(۰/۰۲۲)	۰/۸۸۰	۰/۱۲	۰/۱۴	
سالم	۳(۰/۰۴۲)	۵۷(۰/۷۹۲)	۱۲(۰/۱۶۷)	۰/۴۳۶	۰/۵۶۲	۲۶/۶۶*	۰/۰۰۰۱
کل	۴۳(۰/۳۱۹)	۷۸(۰/۵۷۹)	۱۴(۰/۱۰۲)	۰/۶۰۷	۰/۳۹۳	۶/۴۰*	
Odd ratio(CI)	۰/۱۳ (۹۵-۲)	۰/۶۰(۳۸/۹۶-۱۶)	۱				
ارزش p	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	---				

الف) ژنوتیپهای حاول آلل *A* در مقابل ژنوتیپ هموزیگوت *GG*: این مقایسه با استفاده از آزمون کای مربع مورد بررسی قرار گرفت و نتایج حاکی از آن بود که ژنوتیپهای حاوی آلل *A* در بروز بیماری نسبت به ژنوتیپهای *GG* اختلاف معنی داری را نشان می‌دهد و مقدار *OR* حاکی از آن است که احتمالاً ژنوتیپهای حاوی *A* تا شش برابر در بروز بیماری بیشتر از ژنوتیپهای *GG* نقش دارند. (جدول ۲).

جدول ۲- مقایسه ترکیبی ژنوتیپهای حاوی آلل *A* در مقابل ژنوتیپ *GG* در زنان سالم و بیمار استان آذربایجان شرقی

گروه	ترکیب ژنوتیپی		سطح معنی دار	*OR(CI)*
	AA+AG	*AG*		
بیمار	۶۱	۲	٪۱	۶/۱(۱/۳۰۹، ۲۸/۴۲۹)
سالم	۶۰	۱۲		

ب)ژنوتیپهای حاوی آلل *G* در مقابل ژنوتیپ هموزیگوت *AA* : نتایج این مقایسه نشان می‌دهد که اختلاف معنی‌داری بین دوگروه وجود دارد و مقدار *OR* حاکی از تأثیر ۴۰ برابری ژنوتیپ *AA* در بروز بیماری می‌باشد و به نظر می‌رسد که افراد دارای این ژنوتیپ حساسیت بالایی نسبت به بروز بیماری نشان می‌دهند (جدول۳).

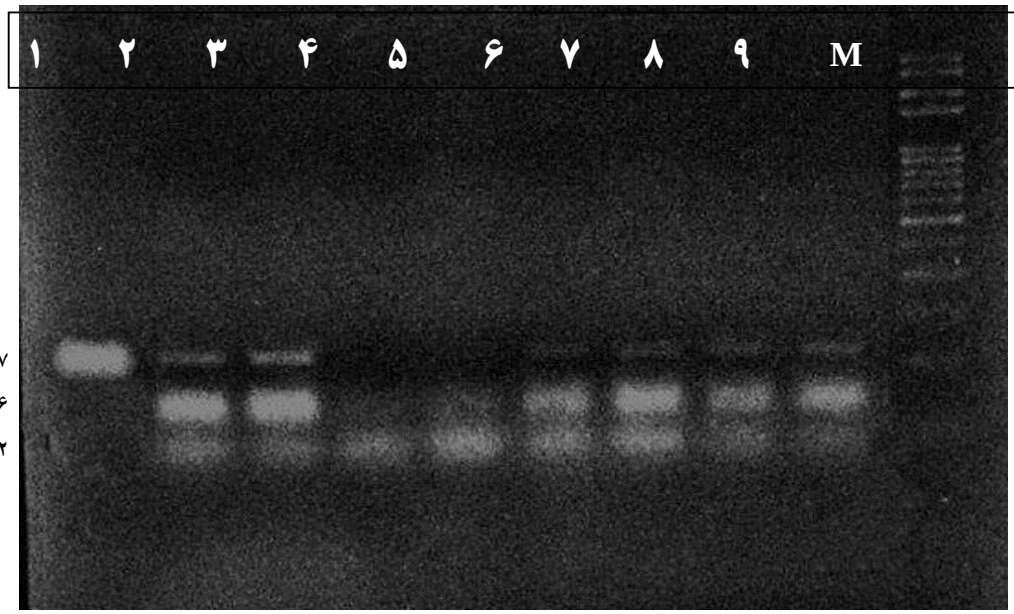
جدول ۳ - مقایسه ترکیب ژنوتیپهای حاوی آلل *G* در مقابل ژنوتیپ *AA* درزنان سالم و بیمار استان آذربایجان شرقی

گروه	ترکیب ژنوتیپی		سطح معنی دار	*OR(CI)*
	AA	*GG+AG*		
بیمار	۴۰	۲۳	۰/۰۰۰۱	۴۰ (۱۱/۲۹، ۱۴۱/۹۷)
سالم	۳	۶۹		

ج) مقایسه افراد دارای آلل *A* در مقابل افراد دارای آلل *G*: این مقایسه به منظور تأثیر آلل تأثیرگذار در بروز افزایش حساسیت بیماری انجام گرفت و نتایج به دست آمده مطابق جداول قبلی نشان داد که دو آلل در بروز بیماری اختلاف معنی داری دارند و آلل *A* نسبت به آلل *G* خطر ابتلاء به بیماری را احتمالاً حدود پنج برابر افزایش می‌دهد که می تواند به عنوان نشانگر خطر در پیش بینی ابتلاء افراد مورد نظر قرار گیرد. (جدول ۴).

جدول ۴- مقایسه افراد دارای آلل A در مقابل افراد دارای آلل G در دو گروه سالم و بیمار زنان استان آذربایجان شرقی

گروه	آللی		سطح معنی داری	*OR(CI)*
	A	*G*		
بیمار	۱۰۱	۲۵	۰/۰۰۰۱	۵/۱۹۴(۳/۰۰۳ ،۸/۹۸۳)
سالم	۶۳	۸۱		



شکل ۱- بررسی چند شکلی کدون ۶۵۵ ژن *her2* با از روش *RFLP* با استفاده از آنزیم *BSMI* روی ژن آگارز ۳ درصد. نتیجه هضم دو آلل A با طول ۱۴۸ جفت باز و آلل G با طول ۱۱۶ و۳۲ جفت باز مشاهده گردید . شماره ۱ ژنوتیپ AA، شماره های ۳،۲، ۶، ۷ و۸ و۹ ژنوتیپ AG و شماره های ۴ و ۵ ژنوتیپ GG و شمار M مارکر ۱۰۰ جفت بازی را نشان می دهند

بحث

بیماری سرطان دومین عامل مرگ و میر بعد از بیماریهای قلبی و عروقی در کشورهای صنعتی و کشورهای درحال توسعه می‌باشد. بنابراین امروزه توجه زیادی به تشخیص و درمان این بیماری معطوف شده است. ایران نیز در کمربند سرطانی دنیا قرار دارد (۲). با وجود اینکه فاکتورهای خطر متعددی در بروز سرطان شناسایی و معرفی گشته ولی علت دقیق آن هنوز مبهم باقی مانده است (۱). در بین همه سرطانهای دستگاه تناسلی زنان، بدخیمیهای تخمدان، بررسیهای بسیار گسترده بالینی را به خود اختصاص داده‌اند. سرطانهای اپیتلیال تخمدان به دلیل آن که تا هنگام متاستاز معمولاً بدون علامت باقی می‌ماند، رایج ترین بدخیمیهای تخمدان هستند که در بیش از دو سوم بیماران در هنگام تشخیص در مراحل پیشرفته بیماری هستند. سرطان تخمدان یکی از مباحث عمده در حیطه جراحی است، که نیاز به درمان جدی و غالباً پیچیده دارد و انرژی روانی و فیزیکی بیمار را تحلیل می‌برد. این سرطان، در مقایسه با سایر بدخیمیهای دستگاه تناسلی زنان، از بالاترین موارد مرگ و میر برخوردار است(۹). اطلاعات کمی در مورد ارتباط پلی مورفیسم کدون ۶۵۵ ژن *her2* با سرطان تخمدان وجود دارد .پینتو و همکاران هیچ توجیه قابل توجهی در توزیع ژنوتیپهای کدون ۶۵۵ ژن*her2* و آلل بین بیماران مبتلا به سرطان تخمدان و افراد سالم در پرتغال گزارش نکردند (۲۱).

شامکوپریا و همکاران (۲۰۱۳) در بررسی ارتباط چند شکلی *her2* با ابتلاء به سرطان تخمدان در زنان هندی، استعداد ژنتیکی ابتلاء به سرطان تخمدان در زنانی که برای الل*G* ژن *her2* هموزیگوت بودند بالا بود (۲۷). در این بررسی فراوانی ژنوتیپهای هموزیگوت در گروه بیمار و کنترل اختلاف معنی‌داری داشت که فراوانی ژنوتیپ *GG* در گروه بیمار ۱۳/۸ و در گروه کنترل ۱/۱ و فراوانی ژنوتیپهای *AA* در گروه بیمار ۶۵/۳ و در گروه کنترل ۸۲/۶ درصد و *(P<0/001)* بود که در مقایسه آماری گروههای مورد این مطالعه نیز فراوانی ژنوتیپهای هموزیگوت و دو گروه بیمار و کنترل اختلاف معنی داری داشت در این مطالعه فراوانی ژنوتیپهای *AA* در گروه بیمار ۰/۶۳۴۹ و در گروه کنترل ۰/۴۱۷ و فراوانی ژنوتیپهای *GG* در گروه بیمار ۰/۲۱۷ و در گروه کنترل ۰/۱۶۶۷ بود و نتایج حاضر در مورد ژنوتیپهای هموزیگوت هماهنگ با نتایج حاصله از مطالعه شانموگاپریا و همکاران (۲۰۱۳) (۲۷) می باشد.

مجتهدی و همکاران (۲۰۱۳) ارتباط میان چندشکلی کدون ۶۵۵ ژن *her2* را در بیماران مبتلا به سرطان تخمدان در استان شیراز بررسی و گزارش نمودند که این چندشکلی با ریسک سرطان تخمدان در زنان ایرانی مرتبط نیست (۱۵). که در فراوانی ژنوتیپهای هموزیگوت برای گروه بیمار و کنترل اختلاف معنی‌داری وجود نداشت فراوانی ژنوتیپهای *AA* در گروه بیمار ۷۵/۵ درصد و فراوانی در گروه کنترل۷۶/۶ درصد و فراوانی ژنوتیپ *GG* در گروه بیمار یک درصد گروه کنترل ۲/۴ درصد بود در حالی که در مقایسه آماری گروههای مورد مطالعه در این بررسی بین فراوانی ژنوتیپهای هموزیگوت برای دو گروه بیمار و کنترل اختلاف معنی‌دار بود همچنین ژنوتیپهای *AA* در گروه بیمار ۰/۶۳۴۹ و در گروه کنترل ۰/۴۱۷ و فراوانی ژنوتیپهای *GG* در گروه بیمار ۰/۲۱۷ و در گروه کنترل ۰/۱۶۶۷ بود که با نتایج حاصل از مطالعه مجتهدی و همکاران (۲۰۱۳) (۱۵) متناسب نیست البته لازم به ذکر است که عوامل متعددی از قبیل اندازه جامعه آماری، نژاد، قومیت و زمینه ژنتیکی می تواند در تفاوت داده‌های به دست آمده مؤثر باشد. مطالعات بیشتری لازم است تا اهمیت اختلاف آللهای آلل این جایگاه در بافت سرطان تخمدان مشخص شود.

منابع

۱- متولی باشی م.، کوه کن ف. و حجتی ز. (۱۳۹۲). نقش سلولهای بنیادی سرطانی در افزایش ریسک ابتلاء به متاستاز و کاهش میزان بقای افراد مبتلا به سرطان پستان مجله پژوهشهای سلولی و مولکولی. ۲۶ (۳). ۳۶۵- ۳۷۷.

۲- محمدگنجی ش.، مهبودی ص. و رستگار جزی ف. (۱۳۹۴). مطالعه مولکولی متیلاسیون پروموتر ژن های p14, p15 و p16 در بیماران ایرانی مبتلا به سرطان بافت سنگفرشی مری. مجله پژوهش‌های سلولی و مولکولی. ۲۸ (۳) ۴۰۳-۴۱۲.

3- Akiyama, T, C. Sudo, H. Ogawara H, K. Toyoshima and T. Yamamoto (1986) The product of the human c-erbB-2 gene: a 185-kilodalton glycoprotein with tyrosine kinase activity. Science 232:1644-1646.

4- Berchuck, A., J.M. Schildkraut, J.R. Marks and P.A. Futreal. (1999). Managing hereditary ovarian cancer risk. Cancer 86, 2517–2524.

5- Berek, S.J. (2002) Novaks Gynecology. 2:1065-1129.

6- Camilleri-Broët, S., AC. Hardy-Bessard, A. Le Tourneau, D. Paraiso, O. Levrel, B. Leduc, S. Bain, H. Orfeuvre, J. Audouin, E. Pujade-Lauraine and GINECO group.(2004) HER-2 overexpression is an independent marker of poor prognosis of advanced primary ovarian carcinoma:a multicenter study of the GINECO group. Ann Oncol. 15: 104-112.

7- Demir, L, S. Yigit, C. Sadullahoglu, M. Akyol, S. Cokmert, Y. Kucukzeybek, A. Alacacioglu, F. Cakalagaoglu, MO.Tarhan MO. (2014) Hormone receptor, HER2/NEU and EGFR expression in ovarian carcinoma—is here a prognostic phenotype?Asian Pac J Cancer Prev.15:9739-9745.

8- Ferretti G, A. Felici, P. Papaldo, A. Fabi and F. Cognetti F. (2007) HER2/neu role in breast

characteristics and prognosis in resectable gastric cancer. Anticancer Res. 35: 2441-2446.

18- Parazzini, F, S. Franceschi, C. La Vecchia and M. Fasoli. (1991) The epidemiology of ovarian cancer. Gynecol Oncol 43:9 –23.

19- Parsons, R. (2004) Human cancer, PTEN and the PI-3 kinase pathway. Semin Cell Dev Biol 15: 171-176.

20- Pils, D, A. Pinter, J. Reibenwein, A. Alfanz, P. Horak, BC. Schmid, L. Hefler, R. Horvat, A. Reinthaller, R. Zeillinger and M. Krainer. (2007) In ovarian cancer the prognostic influence of HER2/neu is not dependent on the CXCR4/SDF-1 signalling pathway. Br J Cance. 96:485-491.

21- Pinto D., D. Pereira, C. Portela, JL. da Silva, C. Lopes and R. Medeiros. (2005) The influence of HER2 genotypes as molecular markers in ovarian cancer outcome. Biochem Biophys Res Commun. 335:1173–8.

22- Puputti, M., H. Sihto, J. Isola,R. Butzow, H. Joensuu and NN. Nupponen. (2006). Allelic imbalance of HER2 variant in sporadic breast and ovarian cancer. Cancer genetics and cytogenetics 167(1): 32-38.

23- Rasmussen, HB. (2012) Restriction Fragment Length Polymorphism Analysis of PCR-Amplified Fragments (PCR-RFLP) and Gel Electrophoresis – Valuable tool for Genotyping and Genetic Fingerprinting. Institute of Biological Psychiatry, Mental Health Centre Sct. Hans, Copenhagen University Hospitals, Roskilde, Denmark. www.intechopen.com.

24- Saiki, RK, S. Schaff, F. Faloona, KB. Mullis, HA. Erlich and N. Arnhem. (1985) Enzymatic amplification of beta-globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. Sci; 230 (4732): 1350-1354.

25- Samuels, Y., Z. Wang, A. Bardelli, N. Silliman, J. Ptak, S. Szabo, H. Yan, A. Gazdar, SM. Powell and GJ. Riggins (2004). High frequency of mutations of the PIK3CA gene in human cancers. Science 304: 554.

26- Seidman, JD., P. Russell and RJ. Kurman. (2002). Surface epithelial tumors of the ovary. In: Kurman RJ, editor. Blaustein's Pathology of the Female Genital Tract. 5th ed. New York: Springer Verlag; pp. 791–904.

27- Shanmughapriya, S., G. Senthilkumar, Arun, Vinodhini K., S. Sudhakar and K. Natarajaseenivasan (2013). Polymorphism

cancer: from a prognostic foe to a predictive friend. Curr Opin Obstet Gynecol.19:56-62.

9- Gadducci, A., S .Cosio, A. Gargini and AR. Genazzani (2004). Sex-steroid hormones, gonadotropin and ovarian carcinogenesis: a review of epidemiological and experimental data. Gynecol Endocrinol 19: 216–228.

10- Hishida, A., N. Hamajima, H. Iwata, K. Matsuo, K.H. Nobuhiko and EK. Tajima. (2002) Re: population based, case–control study of HER2 genetic polymorphism and breast cancer risk. J Natl Cancer Inst. 94: 1807-1808.

11- Kharrati Koopaei, H, MR. Mohammad Abadi, S. Ansari Mahyari, AR Tarang, P. Potki and AK Esmailizadeh. (2012). Effect of DGAT1 variants on milk composition traits in Iranian Holstein cattle population. Animal Science Papers and Reports 30: 231-240.

12- Kharrati Koopaei, H, MR. Mohammadabadi, S. Ansari Mehyari, AK. Esmailizadeh, A Tarang and M. Nikbakhti (2011). Genetic Variation of DGAT1 Gene and its Association with Milk Production in Iranian Holstein Cattle Breed Population. Iranian Journal of Animal Science Research 3: 185-192 .

13- Lefkowitz, E.S. and C.F. Garland. (1994). Sunlight, vitamin D, and ovarian cancer mortality rates in US women. Int. J. Epidemiol. 23: 1133–1136.

14- Lichtenstein, P., N.V. Holm, P.K. Verkasalo, A. Iliadou, J. Kaprio, M. Koskenvuo, E. Pukkala, A. Skytthe and Hemminki, K. (2000). Environmental and heritable factors in the causation of cancer – analyses of cohorts of twins from Sweden, Denmark, and Finland. N. Engl. J. Med. 343: 78–85.

15- Mojtahedi, Z, N. Erfani, Malekzadeh M, MR. Haghshenas, A. Ghaderi and A. Samsami Dehaghani. (2013). HER2 Ile655Val single nucleotide polymorphism in patients with ovarian cancer. Iranian Red Cres. Med. J. 15(1):1.

16- Ness, R.B., (2003). Endometriosis and ovarian cancer: thoughts on shared pathophysiology. Am. J. Obstet. Gynecol. 189: 280–294.

17- Otsu H, E. Oki, A. Ikawa-Yoshida, H. Kawano, K. Ando, S. Ida, Y. Kimura, S. Aishima, H. Saeki, M. Morita, S. Kohnoe, Y. Oda and Y Maehara (2015) Correlation of HER2 expression with clinic-pathological

and overexpression of HER2/neu among ovarian carcinoma women from Tiruchirapalli, Tamil Nadu, India." Archives of gynecology and obstetrics 288(6):1385-1390.

28- Teplinsky, E and F. Muggia. (2014) Targeting HER2 in ovarian and uterine cancers: challenges and future directions. Gynecol Oncol.135:364-370.

29- Tingulstad, S., FE. Skjeldestad, TB. Halvorsen and B. Hagen (2003) Survival and prognostic factors in patients with ovarian cancer. Obstet Gynecol 101:885–891.

30- Tuefferd, M, J. Couturier, F. Penault-Llorca, A. Vincent-Salomon, P. Broët, JP. Guastalla, D. Allouache, M. Combe, B. Weber, E. Pujade-Lauraine and S. Camilleri-Broët. (2007) HER2 status in ovarian carcinomas: a multicenter gineco study of 320 patients. PLoS One; 2:1138.

31- Vajed Ebrahimi, MT, MR. Mohammad Abadi and AK. Esmailizadeh (2017). Using microsatellite markers to analyze genetic divesity in 14 sheep types in Iran. Archiv fuer Tierzucht (Arch. Anim. Breed) 60: 183-189.

32- Vanhaesebroeck, B. and MD. Waterfield. (1999). Signaling by distinct classes of phosphoinositide 3-kinases. Exp Cell Res 253: 239-254.

33- Vivanco I. and CL. Sawyers. (2002). The phosphatidylinositol 3-kinase AKT pathway in human cancer. Nat Rev Cancer 2: 489-501.

34- Wang Y, D. Wang and M. Ren. (2014) Prognostic value of HER-۲/neu expression in epithelial ovarian cancer: a meta-analysis. Tumour Biol.35:33-38. Doi: 10/1007/s13277-013-1003-9.

35- Watrowskil, R., DC. Castillo-Tong, E. Schuster, MB Fischer, P. Speiser and R Zeillinger. (2016). Association of HER2 codon 655 polymorphism with ovarian cancer." Tumor Biology 37(6): 7239-7244.

36- Whittemore, A.S., R. Harris, and J. Itnyre. (1992). Characteristics relating to ovaria cancer risk: collaborative analysis of 12 US case–control studies. II. Invasive epithelial ovarian cancers in white women. Collaborative Ovarian Cancer Group. Am. J. Epidemiol. 136: 1184–1203.

37- Wu S., CC. Ma and Y. Yang. (2014) The prognostic value of HER-2/neu overexpression in colorectal cancer: evidence from 16 studies. Tumour Biol.35:10799-10804.

38- Zamani, P, M. Akhondi and MR Mohammadabadi (2015). Associations of Inter-Simple Sequence Repeat loci with predicted breeding values of body weight in sheep. Small Ruminant Research 132: 123-127.

39- Zawacka-Pankau J., J. Nakonieczna and M. Grinholc (2011) Nucleic acid techniques in molecular diagnosis of human diseases and pathogens. Intercollegiate Faculty of Biotechnology UG&MUG 2011.

The study of her2 codon 655 gene polymorphism relationship with ovarian cancer in East Azarbaijan Province

Tizmaghz S.R.[2] and Ghorbani A.[1]

[1] Dept. of Biology, Ahar Branch, Islamic Azad University, Ahar, I.R. of Iran

[2] Dept. of Animal Science, Faculty of Animal Science and Veterinary, Shabestar -Branch, Islamic Azad University, Shabestar, I.R. of Iran

Abstract

Ovarian cancer is the most common cancer among women that some environmental and genetic factors contribute to this cancer. Clinical research has shown that excessive expression of HER2 gene leads to carcinogenesis, which includes 20-30% of ovarian and breast cancers. In this study, the polymorphism of a part of codon of 655 HER2(rs1136201) gene associated with ovarian cancer was studied. in this study, the polymorphism of HER2 (1136201) was studied gene in 70 women with ovarian cancer and 70 healthy women in East Azerbaijan province using of BSMI enzyme by PCR-RFLP method. The distribution of polymorphism of HER2 (rs1136201) site provided the most differences in AA genotype between healthy group and unhealthy one (40 against 3); that is, there was a significant difference in the frequency of homozygote genotypes between healthy and patient groups. Chi-Square test used for studying the difference of genotype frequency between two population indicates that there is a significant difference between two population in terms of abundance ($p<0/0001$), which is the indicator of probable relation of this site with the incidence of disease. The results of this study showed that the polymorphism of HER2 gene increases the risk of ovarian cancer.

Key words: ovarian cancer, HER2, PCR-RFLP