مقاله پژوهشی

GADD45A، یک مارکر مولکولی بالقوه در سرطان اپی تلیال سروزی تخمدان

نازیلا مقترن بناب[۱]، محمدعلی حسینپور فیضی×[۲]، مرتضی بنیادی[۳]، علی دسترنج تبریزی[٤]

تاریخ دریافت ۱۳۹۶/۱۰/۲۱ تاریخ پذیرش ۱۳۹۶/۱۲/۲۸

چکیده

پیش‌زمینه و هدف: سرطان تخمدان چهارمین علت مرگ‌ومیر مرتبط با سرطان در زنان می‌باشد، به‌منظور کاهش مرگ‌ومیر ناشی از آن، شناسایی و ارزیابی بیومارکرهای تشخیصی اولیه که مختص این سرطان هستند ضروری می‌باشد، با توجه به اهمیت نقش ژن GADD45A در بقا و مرگ سلولی، تغییرات بیان آن در انواع مختلف بافت‌های خوش‌خیم، بوردورلاین و بدخیم متعلق به سرطان سروزی اپیتلیال تخمدان در این تحقیق موردبررسی قرار گرفته است.

مواد و روش کار: نمونه‌های تازه مربوط به بافت‌های مختلف سروزی تخمدان شامل ۷۵ نمونه توموری و ۲۰ نمونه بافت نرمال در فاصله زمانی ۹۳ تا خرداد ۹۶ از بیماران مراجعه‌کننده به بیمارستان کوثر ارومیه و بیمارستان الزهرا تبریز جمع‌آوری و در دمای 80- نگهداری شد، پس از تشخیص توسط پاتولوژیست، استخراج RNA توسط کیت تریزول انجام و. cDNA به‌وسیله کیت تاکارا سنتز شد. بیان ژن GADD45A به‌وسیله Real-Time PCR در این نمونه‌ها مورد ارزیابی قرار گرفت.

بحث و نتیجه‌گیری: آنالیز نتایج حاکی از آن است که سطح بیان ژن GADD45A اختلاف قابل‌توجهی بین بافت‌های بدخیم و نرمال نشان داد ($P<0.0001$). همچنین روند کاهش بیان قابل‌توجهی در ژن GADD45A از نمونه‌های خوش‌خیم به‌سوی بدخیم مشاهده شد. بر اساس یافته‌های ما می‌توان چنین بیان نمود که سطح بیان ژن GADD45A در نمونه‌های سرطانی به‌شدت کاهش می‌یابد. بنابراین ممکن است که بتوان از میزان بیان آن برای تشخیص مرحله بیماری استفاده کرد، همچنین در سطوح درمانی سرطان می‌توان سطح بیان آن را مورد هدف قرار داد.

واژه‌های کلیدی: سرطان تخمدان، ژن GADD45A، درمان

مجله پزشکی ارومیه، دوره بیست و نهم، شماره دوم، ص ۱۱۸-۱۱۰، اردیبهشت ۱۳۹۷

آدرس مکاتبه: تبریز، دانشگاه تبریز، دانشکده علوم طبیعی، دپارتمان زیست‌شناسی جانوری، تلفن: ۰۴۱۳۳۳۹۲۲۸۰

Email: pourfeizi@eastp.ir

مقدمه

سرطان تخمدان ازجمله سرطان‌های مختص زنان است که کشنده‌ترین بدخیمی ژنیکولوژیک و چهارمین علت مرگ‌ومیر مرتبط با سرطان در زنان در سطح دنیا می‌باشد. طبق مطالعات صورت گرفته در سال ۲۰۱۴ در ایالات‌متحده، حدود ۲۱۹۸۰ مورد جدید و ۱۴۲۷۰ مرگ در اثر این نوع سرطان گزارش شده است (۱,۲). شناسایی سرطان تخمدان به دلیل علائم غیرواضح و نامشخص آن در مراحل اولیه بسیار دشوار می‌باشد تا جایی که از آن به‌عنوان کشنده خاموش نام‌برده می‌شود (۱,۲)، متأسفانه این بیماری اغلب در مراحل نهایی و به دلیل آسیت فراوان تشخیص داده می‌شود که علیرغم درمان ترکیبی با شیمی‌درمانی بر پایه پلاتینوم و تاکسان بقای پنج‌ساله آن هنوز ۳۰ درصد است (۳). ازلحاظ پاتولوژیکی چهار نوع بافتی متفاوت از سرطان تخمدان توصیف شده است که عبارت‌اند از سروز در ۷۰درصد موارد، اندومتروئید ۱۱درصد موارد، کلیر سل ۱۲درصد موارد و موسینوس ۳درصد. سرطان‌های سروزی رایج‌ترین نوع این نوع سرطان‌ها می‌باشند که به دو نوع سرطان سروزی با درجه بالا (HGSC) و سروزی درجه پایین (LGSC) تقسیم‌بندی می‌شوند، بنابراین مطالعات زیادی روی این نوع سرطان به‌ویژه نوع HGSC در حال انجام است. ازجمله دلایل مرگ‌ومیر بالا در این سرطان، نبود روش تشخیصی مناسب و اختصاصی در مراحل

[۱] دکتری ژنتیک مولکولی، دپارتمان زیست شناسی جانوری، دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

[۲] دکتری رادیوبیولوژی و ژنتیک مولکولی، دپارتمان زیست شناسی جانوری، دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران (نویسنده مسئول)

[۳] دکتری ژنتیک پزشکی، دپارتمان زیست شناسی جانوری، دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

[٤] دکتری پاتولوژی، مرکز تحقیقات سلامت و تولید مثل زنان، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2025-01-15]

اولیه آن است (۳). علیرغم استفاده از روش‌های تشخیصی روتین مانند آزمایش‌های لگنی، اولتراسونوگرافی ترنس واژینال و میزان CA125 سرمی جهت تشخیص این بیماری، شناسایی آن در مراحل اولیه با شکست روبرو شده است، بنابراین پیدا کردن روش‌های جدید در شناسایی سرطان تخمدان بسیار الزامی است (۳). تظاهرات کلینیکی متعدد مانند سن، مرحله و درجه بافت‌شناسی و باقی‌مانده تومور شاخص‌های پیش‌آگهی در بیماران با سرطان تخمدان در نظر گرفته می‌شوند (۴). در این راستا استفاده از ژن‌های هدف بالقوه جهت شناسایی زودهنگام سرطان تخمدان ضروری می‌نماید، مطالعات اخیر حاکی از وجود جهش در ژن مهارکننده تومور p53 در حدود نیمی از سرطان‌های سروزی تخمدان با درجه و شدت بالا هست. ژن GADD45A یکی از ژن‌های قرار گرفته در مسیر سیگنالینگ زیر دست p53 است، که در کنترل چرخه سلولی در گذر از فاز G2/M از طریق واکنش با پروتئین‌های p21 و PCNA که توسط p53 القا می‌شوند دارای نقش اساسی می‌باشد. با توجه به نقش کلیدیGADD45A در چرخه سلولی، هدف از این مطالعه بررسی تغییرات سطح بیان آن در بافت‌های مختلف توموری و سالم می‌باشد. GADD45A اولین ژن شناخته‌شده از خانواده GADD45 می‌باشد که شامل سه ژن مختلف می‌باشد که روی کروموزوم‌های مختلف قرار گرفته‌اند: GADD45A، GADD45B، GADD45G. این سه ژن مجزا اما بسیار مرتبط می‌باشند و پروتئین‌های کوچک و بسیار اسیدی را کد می‌کنند که در ابتدا در هسته قرار گرفته‌اند (۶، ۵). GADD45A عضوی از خانواده متوقف کننده‌های رشد بوده که توسط آسیب به DNA القا و در تنظیم منفی رشد سلولی دارای نقش می‌باشد. محصول کد شده توسط این ژن یک پروتئین پاسخ‌دهنده به استرس است که فرآیندهای متنوع سلولی ازجمله ترمیم DNA، آپوپتوز، توقف چرخه سلولی و پیری را واسطه‌گری می‌کند (۷)، ژن GADD45A روی کروموزوم ۱ بین بازوی P21 و P34 قرار گرفته است (۸). در این مطالعه قصد داریم میزان بیان ژن GADD45A را در بافت‌های توموری مرتبط با سروز اپیتلیال تخمدان را در بیماران مراجعه‌کننده به بیمارستان‌های کوثر ارومیه و الزهرا تبریز موردبررسی قرار دهیم تا بتوانیم گامی هرچند اندک در جهت پیشبرد روش‌های تشخیص زودرس و حتی درمان سرطان تخمدان برداریم.

مواد و روش کار

جمع‌آوری و نگهداری نمونه‌ها:

این مطالعه از نوع مورد- کنترل بوده که شامل 80 نمونه بافت تخمدان زنان مبتلا به سطوح متفاوت سرطان سروزی تخمدان و ۲۳ نمونه بافت گرفته شده از زنان غیر مبتلا به‌عنوان گروه کنترل می‌باشد. به دلیل نقص در اطلاعات اساسی پرونده پزشکی بیماران به تعداد ۵ نمونه از بافت بیمار و ۳ نمونه از بافت نرمال از مطالعه حذف شدند و فقط نمونه‌هایی موردمطالعه قرار گرفتند که اطلاعات پرونده آن‌ها تکمیل بود. نمونه‌ها در بازه زمانی بین اسفند ۱۳۹۳ تا خرداد ۱۳۹۶ از بیماران مراجعه‌کننده به بخش جراحی بیمارستان‌های کوثر ارومیه و الزهرا تبریز، با رعایت موازین اخلاقی (شماره کمیته اخلاقی، 5/4/2259) و دریافت فرم رضایت از بیمار در میکروتیوب‌های عاری از RNase و DNase و حاوی محلول پایدار کننده RNA (RNA Later)جمع‌آوری و سریعاً به فریزر ۸۰- منتقل شدند. تمامی بافت‌ها از نظر نوع و درجه سرطان توسط پاتولوژیست مورد بررسی قرار گرفت، ضمناً جهت کسب اطلاعات بیماران از پرونده پزشکی آن‌ها استفاده شد.

استخراج RNA:

RNA از نظر شیمیایی فعال‌تر از DNA می‌باشد و به سرعت توسط آنزیم RNAase تجزیه می‌شود. لذا کار با RNA به دلیل ناپایداری آن و حضور آنزیم RNAase بسیار حساس می‌باشد. ظرف‌ها و تیپ‌هایی که برای کار با RNA استفاده می‌گردد همه عاری از RNAse و DNAse بوده و محل کار قبل از هر ران کاری با اشعه UV و محلولهای استریل کاملاً استریل گردید. جهت استخراج RNA، در ابتدا ۵۰-۱۰۰ میلی‌گرم از هر بافت با کمک دستگاه هموژنایزر (Benchmark, BS-D1036) کاملاً در محلول استخراج ترایزول (محصول شرکت Invitrogen)حل شدند، پس‌ازآن طبق پروتکل ارائه شده توسط کیت ترایزول بقیه مراحل استخراج انجام شد. جهت تعیین غلظت و کیفیت نمونه‌ی RNA به‌ترتیب از دستگاه نانودراپ (Thermo) و الکتروفورز ژل آگارز ((BioRad استفاده شد.

سنتز DNA از روی RNA:

به‌منظور حذف آلودگی احتمالی ناشی از DNA ژنومی، قبل از تهیه cDNA کلیه نمونه‌ها با آنزیم DNaseI (Fermentase) تیمار شدند. سپس طبق پروتکل ارائه‌شده در کیت تاکارا، ۵۰۰ نانوگرم از RNA هر نمونه به همراه µl ۲ از بافر x۵، l ۰/۵) آنزیم RT، l ۰/۵ پرایمر اولیگو dT و µl ۰/۵ رندوم هگزامر به کمک آب دپس دار به حجم نهایی l) ۱۰ رسانده شد. نمونه‌های آماده شده به دستگاه ترموسایکلر منتقل و به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند، سپس برای غیرفعال کردن آنزیم RT به مدت ۵ ثانیه در دمای ۸۵ درجه در ترموسایکلر قرار گرفتند.

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2025-01-15]

طراحی پرایمرهای اختصاصی برای ژن‌های (β- Actin)[1] و GADD45A:

در این تحقیق، ژن (β- Actin) به‌عنوان کنترل داخلی انتخاب شد. توالی هر دوژن از بانک ژنی سایت NCBI به دست آمد. پرایمرهای اختصاصی توسط برنامه Gene Runner طراحی و اختصاصیت آن‌ها به کمک سایت NCBI Blast موردبررسی قرار گرفت و توسط شرکت تگ کوپنهاگن آلمان (Tag copenhagen company) سنتز شدند، توالی پرایمرها در جدول ۱ آورده شده است.

جدول (۱): توالی پرایمرهای به‌کاررفته برای تکثیر ژن β- Actin و GADD45A

آغازگر β- Actin (NM_001101.3): قطعه حاصل از PCR 151. جفت باز می‌باشد	
آغازگر جلویی	5'- CAGCCATGTACGTTGCTATCCAGG -3´
آغازگر برگشتی	5' -AGGTCCAGACGCAGGATGGCATG -3´
آغازگر GADD45A (NM_001924.3): قطعه حاصل از PCR 235 جفت باز می باشد.	
آغازگر جلویی	5`- CAGGATGTTGATGTCGTTCTC -3`
آغازگر برگشتی	5`- GACCGAAAGGATGGATAAGGT -3`

واکنش Real-Time PCR:

روش مبتنی بر استفاده از رنگ فلورسانس SYBR Green I در تحقیق حاضر مورداستفاده قرار گرفته است، برای این منظور واکنش‌های جداگانه‌ای برای ژن موردنظر و ژن کنترل داخلی در حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر تهیه شد. نمونه‌ها در دستگاه Eco Illumina قرار گرفتند، در هر واکنش از ۱۱،۸ میکرولیتر Syber Green و ۰/۲ میکرولیتر رنگ ROX، ۰/۵ آغازگر فوروارد، ۰/۵ آغازگر ریورس، ۱ میکرولیتر cDNA و ۶ میکرولیتر آب مقطر استریل استفاده شد. واکنش دمایی شامل ۴۰ چرخه کامل ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ ثانیه و ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۶ ثانیه می‌باشد. به‌منظور تأیید قطعه تکثیرشده و اطمینان از عدم وجود محصول غیراختصاصی، پرایمر دایمر و آلودگی از آنالیز منحنی تفکیک استفاده شد. پس از انجام واکنش، داده‌های خام به‌صورت CT از دستگاه استخراج شد و اندازه‌گیری میزان بیان با روش ΔΔct انجام شد.

آنالیز آماری:

به‌منظور انجام آنالیزهای آماری از نرم‌افزار SPSS 22 استفاده شد. در بررسی سطح معنی‌داری تفاوت بیان ژن‌ها میان نمونه‌های مختلف توموری و همچنین میان نمونه‌های توموری و نرمال، آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه (One way Anova) به کار گرفته شد. هم‌چنین از آزمون Student-t-Test برای بررسی همراهی میان تغییرات بیان ژن موردمطالعه و شاخص‌های پاتولوژیکی استفاده شد.

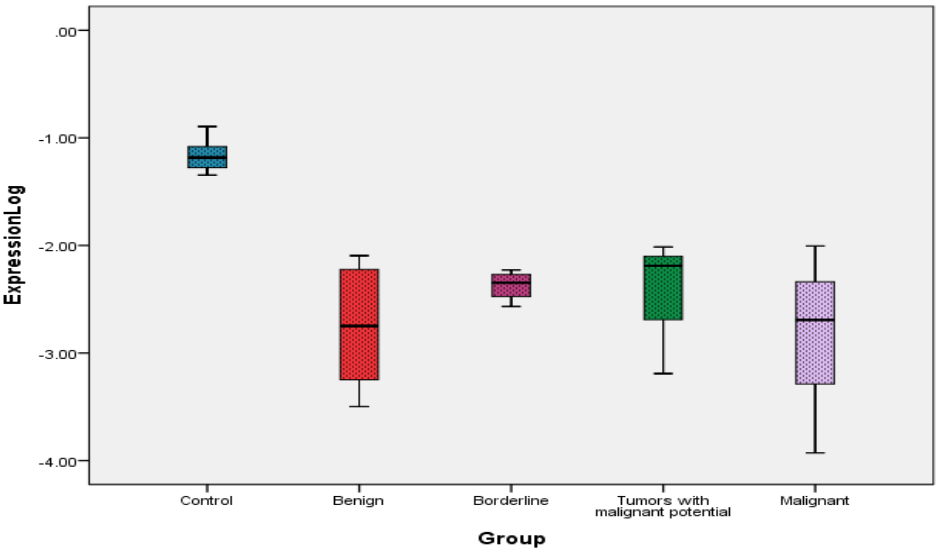
یافته‌ها

در این مطالعه از ژن β- Actin به‌عنوان کنترل داخلی استفاده شد. ازآنجاکه این ژن جزو ژن‌هایی است که بیان دائمی در سلول دارند، لذا هدف مناسبی جهت بررسی به‌عنوان کنترل داخلی به‌حساب می‌آید. آنالیز نتایج حاکی از آن است که بالا رفتن مرحله بیماری ارتباط مستقیم با کاهش بیان ژن GADD45A در نمونه‌های مختلف توموری دارد، به‌این‌ترتیب که با افزایش مراحل بیماری میزان بیان ژن در مراحل بالاتر کاهش می‌یابد (نمودار ۱).

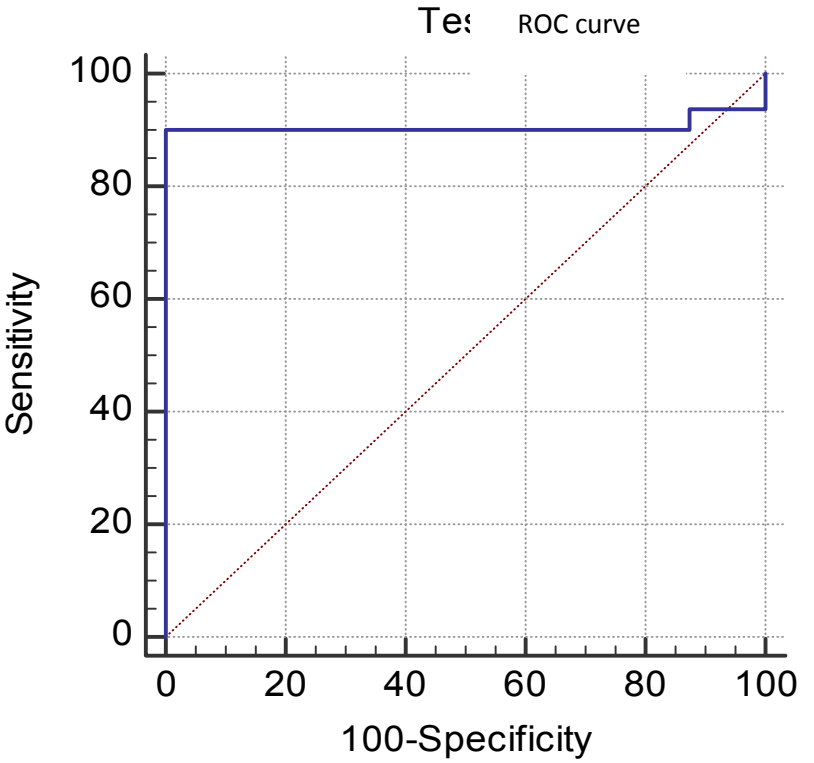
آنالیز منحنی ROC جهت سنجش ارزش تشخیصی سطح بیان ژن GADD45A در تفکیک حالت‌های توموری و غیر توموری نمونه‌ها به کار گرفته شد، نتایج حاکی از ناحیه تقریبی زیر نمودار (AUC) ۰،۹۰۵ با اختصاصیت ۱۰۰درصد و حساسیت ۹۰درصد بود (95% CI) 0.799 to 0.966, p <0.0001 نمودار ۲.

[1]

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2025-01-15]



نمودار (۱): بیان ژن GADD45A در سطوح متفاوت بیماران مبتلا به سرطان اپیتلیال تخمدان در مقایسه با افراد نرمال ($p<0.001$).



نمودار (۲): آنالیز منحنی ROC. منحنی ROC، ارزش تشخیصی سطح بیان ژن GADD45A را در تفکیک حالت‌های توموری و غیر توموری نمونه‌ها نشان می‌دهد، $P<0.0001$.

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2025-01-15]

در بررسی رابطه درجه پاتولوژیکی تومور با سطح بیان ژن GADD45A مشاهده گردید که هر چه درجه پاتولوژیکی تومور افزایش می‌یابد، میزان کاهش بیان این ژن نیز بیشتر می‌شود. به‌این‌ترتیب میزان بیان ژن GADD45A به ترتیب در بافت‌های خوش‌خیم، بوردورلاین و بافت‌های بدخیم (Malignant) کاهش یافته است، تعداد افراد موردبررسی در هر نوع مرحله بیماری در جدول ۲ ذکر شده است. میانگین سنی بیماران ۲۲±۴۹,۱۱ بود. ارتباط معنی‌داری بین انداز ه فیزیکی تومورها و شدت بیان ژن مدنظر مشاهده نگردید. ازلحاظ شاخص‌های پاتولوژیک نیز در برخی موارد بین درصد ابتلا و بعضی از این شاخص‌ها همراهی دیده شد (جدول ۳).

جدول (۲): ویژگی‌های پاتولوژیکی و تعداد نمونه‌های موردبررسی

EOC hystotype	N	EOC hystotype	N
Normal - **Inclusion cyst** - **Follicular cyst** - **Free tumor**	20	Borderline Tumors - Borderline serous tumor with foci of micro papillary proliferation - Borderline mucinous tumor with micro invasion - Borderline serous tumor	14
Benign tumors - **Mucinous cyst adenoma** - **Serous cyst adenoma** - **Ovarian fibroma** - **Sclerosing stromal tumor** - **Leiomyoma** - **Benign Teratoma** - **Endometriotic cyst**	28	Tumors with malignant potential - Granulosa cell tumor (Adult type) - Granulosa cell tumor (well-differentiated) with no invasive in capsule.	3
		Malignant Tumors - High grade ovarian serous carcinoma - Metastatic serous carcinoma of endometrium	30

جدول (۳): شاخص‌های محتمل دخیل در بروز سرطان، در برخی از شاخص‌ها افراد بیمار نسبت به افراد سالم تغییر قابل‌توجهی نشان می‌دهند $p < 0.05$.

Characteristic		N (%)/median (range)	Min/ MAX		Association with malignancy, P value
Age (years)		48.5±28.5	Min: 20	Max: 77	P= 0.034
Average weight		62.26 Kg			P=0.26
(BMI)		26.94 Kg/m^2			P=0.33
CA125 Level		30%<35units/ml 70% > 35 units/ml	Min<16	Max>1000	P=0.024
Tumor Location	Left ovary:	64.7%			P=0.003
	Right ovary:	17.64%			P=0.052
	Both Ovary:	17.64%			P=0.052
Tumor size		8.5*3*1	3*2*1cm^3	20*10*10cm^3	P=0.63

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2025-01-15]

بحث و نتیجه‌گیری

یافته‌های این مطالعه حاکی از وجود تفاوت قابل‌توجهی در میزان سطح بیان ژن GADD45A بین نمونه‌های نرمال بافت اپی‌تلیال تخمدان و نمونه‌های مرتبط با سطوح مختلف سرطان تخمدان ازجمله خوش‌خیم، بوردورلاین و بدخیم می‌باشد. پروتئین GADD45A به‌طور مستقیم در مسیرهای پاسخ به استرس ژنوتوکسیک و آسیب سلولی ازجمله چک پوینت‌های چرخه سلولی، آپوپتوز و ترمیم DNA دخیل بوده و به‌عنوان یک ژن مهارکننده تومور عمل می‌کند (۱۰). مکانیسم عمل GADD45A به این صورت است که القا بیان آن سبب جدا شدن Bim، یک عضو از خانواده Bcl2، از اجزای همراه با میکروتوبول و جابجایی آن به میتوکندری می‌شود. تجمع Bim در میتوکندری برهم‌کنش Bim با Bcl2 را افزایش داده و Bax را از کمپلکس‌های متصل به Bcl-2 آزادکرده، نهایتاً منجر به رهاسازی سیتوکروم C به درون سیتوپلاسم و راه‌اندازی آپوپتوز می‌شود (۱۱). بعلاوه، از سویی دیگر GADD45A با EF-1a، پروتئینی که دارای نقش مهمی در حفظ تمامیت سیتواسکلت سلولی است، برهم‌کنش کرده و از طریق مهار بسته‌بندی مولکولی ایجادشده باEF-1A پایداری سیتواسکلت سلولی را بهم می‌زند. این یافته‌ها اهمیت و ارتباط پروتئین GADD45A را با ماشین آپوپتوزی شناسایی کرده و اهمیت پایداری سیتواسکلت را در پاسخ آپوپتوزی به آسیب DNA را نشان می‌دهند (۱۱).

کاهش بیان GADD45A از طریق چندین مکانیسم می‌تواند صورت بگیرد، به‌عنوان‌مثال چندین فاکتور رونویسی مانند BRCA1، ZBRK1، AP-1، ATF4، NF-YA، Oct-1، WT1، می‌توانند بیان ژن GADD45A را از طریق اتصال به ناحیه اینترونی و یا ناحیه پروموتور در سطح رونویسی تنظیم کنند (۱۲). هم‌چنین عواملی مانند: متیلاسیون پروموتور، جایگاه ژنی GADD45A روی کروموزوم‌ها و بعضی از پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی نیز بر سطح بیان این ژن تأثیرگذار می‌باشند (۱۴-۹). تابه‌حال کاهش بیان GADD45A در اثر متیلاسیون پروموتور در چند نوع سرطان گزارش شده است (۱۰). گو و همکارانش گزارش کردند که ناحیه CPG و ناحیه پروکسیمال ژن GADD45A به‌طور مکرر در توالی GCA متیله می‌شوند و وجود ارتباط احتمالی بین این نوع متیلاسیون و کاهش بیان GADD45A را بیان کردند (۱۳). به‌طور مشابهی متیلاسیون غیرنرمال ژن GADD45A در چندین رده سلولی سرطان سینه هم یافت شده است (۹). هم‌چنین، تعدادی از مطالعات پیشنهاد گر آن هستند که جایگاه ژنی GADD45A که در بازوی کوتاه کروموزوم شماره یک (1P) قرار گرفته است، لنگرگاه ژن‌های مهارکننده تومور برای گلیوما، سرطان ریه و سرطان معده می‌باشد (۱۴). بنابراین احتمال دارد، از دست رفتن عملکرد GADD45A مرتبط با گسترش تعدادی از انواع دیگر سرطان‌ها باشد (۹).

یوآن و همکارانش گزارش کردند که پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی GADD45A (1506T>C) یک جایگاه حساسیت به توموری جدید بوده و می‌تواند مارکر مولکولی مفیدی برای بررسی ریسک سرطان تخمدان و پیش‌بینی پیش‌آگهی به آن باشد (۹). به‌طور مشابه با نتایج ما، در مطالعه انجام‌شده توسط Zho و همکارانش بر روی هپاتوکارسینوما، گزارش شده است که بیان آن در هپاتوکارسینوما کاهش می‌یابد، هم‌چنین مشخص شده است که کاهش بیان GADD45A در چند رده توموری، سلول‌های توموری را قادر به فرار از مرگ برنامه‌ریزی‌شده سلولی می‌کند (۱۵). در مطالعه هیگاشی و همکاران بر روی سرطان NsCLC نیز، کاهش بیان GADD45A در افراد توموری نسبت به افراد سالم گزارش شده است (۱۶).

به‌طور متضاد با نتایج ما، چندین مطالعه سطح بیان افزایش یافته GADD45A در گلیوبلاستوما و سرطان تیروئید را گزارش کرده‌اند و افزایش بیان این ژن را به‌عنوان یک مارکر پیش‌آگهی قوی عنوان کرده‌اند (۱۸-۱۷). عواملی از قبیل تفاوت در روش مطالعه و انتخاب بیماران، همچنین تعداد نمونه موردبررسی و تفاوت‌های ژنتیک جمعیتی می‌توانند دلیلی بر نتایج مختلف بررسی بیان این ژن در سرطان‌های مختلف و یا جوامع هدف مختلف باشند. ازجمله محدودیت‌های طرح حاضر می‌توان عدم وجود دقیق اطلاعات تکمیلی جزئی‌تر بیماران مثل سابقه ابتلا به انواع بیماری‌های دیگر و یا فقدان اشاره کامل به ارگان‌های متاستاز داده شده در پرونده پزشکی بیماران اشاره کرد. با توجه به وجود نقص در استناد کامل به نتایج بررسی ایمونوهیستوشیمیایی بافتی (IHC) جهت مطالعه بیان ژن P53 در جهت تشخیص مرحله سرطان تخمدان، امید است که در مطالعات آینده با استفاده از این فن، بررسی میزان بیان GADD45A. بتواند تأییدی بر صحت نتایج بررسی‌های قبلی باشد.

با توجه به نتایج حاصل از این بررسی و مقایسه این نتایج با نتایج مطالعات قبلی صورت گرفته روی بیان و عملکرد ژن GADD45A و با توجه به نقش تومور سوپرسور بودن آن، مشخص می‌شود که با ایجاد جهش در این ژن و یا در مسیر سیگنالیگ آن و یا از طریق فرآیندهای اپی ژنتیک، بیان آن در سرطان تخمدان دستخوش تغییر شده و با پیشرفت و بدخیمی این سرطان بیان آن نیز کاهش می‌یابد. با توجه به نتایج حاصل چنین استنباط می‌شود که GADD45A یک کاندید درمانی بالقوه در سرطان تخمدان بشمار رفته و نیازمند تحقیقات و مطالعات بیشتر در جهت رویکردهای درمانی است.

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2025-01-15]

تشکر و قدردانی

از تمامی پرسنل و کارکنان و بیمارستان‌های کوثر ارومیه و الزهرا تبریز تشکر و قدردانی می‌شود، همچنین از دانشکده علوم دانشگاه تبریز که ما را در تأمین مالی هزینه‌ها و امکانات آزمایشگاهی یاری نمودند تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

References:

1. Yuan C, Liu X, Liu X, Yang N, Liu Z, Yan S, et al. The GADD45A (1506T>C) Polymorphism Is Associated with Ovarian Cancer Susceptibility and Prognosis. PLoS ONE 2015;10(9): e0138692.
2. Sarojini S, Tamir A, Lim H, Li S, Zhang S, Goy A, et al. Early Detection Biomarkers for Ovarian Cancer. J Oncol [Internet] 2012 [cited 2018 May 19];2012. Available from: https: //www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3540796/
3. Sarojini S, Tamir A, Lim H, Li S, Zhang S, Goy A, et al. Early Detection Biomarkers for Ovarian Cancer. J Oncol [Internet] 2012 [cited 2018 May 19];2012. Available from: https: //www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3540796/
4. Liu, C, Zhang, W, Yang, D, Liu, Y. Molecular Characterization, Polymorphism, and Association of Porcine GADD45G Gene. Animal Biotechnology, (2015),26: 3, 230-236.
5. Tong T, Ji J, Jin S, et al. GADD45A Expression Induces Bim Dissociation from the Cytoskeleton and Translocation to Mitochondria. Mol Cell Bio 2005; (25)11: 4488–500.
6. Smith RA, Jedlinski DJ, Gabrovska PN, Weinstein SR, Haupt L, Griffiths LR. A genetic variant located in miR-423 is associated with reduced breast cancer risk. Cancer Genomics Proteomics 2012;9(3):115–8.
7. Chenglu C, Li J, Guang Y, Setsuko K, Wenxin Z. Tubal origin of ovarian low-grade serous carcinoma, Am J Clin Exp Obstet Gynecol (2013) 15, (1), 13-36.
8. Ishiguro H, Kimura M, Takahashi H, Tanaka T, mizoguchi K, Takeyama H. GADD45A expression is correlated with patient prognosis in esophageal cancer. Oncology Letters 2016; (11): 277-82.
9. Yuan C, Liu X, Liu X, Yang N, Liu Z, Yan S, et al. The GADD45A (1506T>C) Polymorphism Is Associated with Ovarian Cancer Susceptibility and Prognosis. PLoS ONE 2015;10(9):e0138692.
10. Cretu A, Sha X, Tront J, Hoffman B, Liebermann D.A. Stress sensor Gadd45 genes as therapeutic targets in cancer. Cancer Ther 2009; 7(A): 268-76.
11. Tong T, Ji J, Jin S, Li X, Fan W, Song Y, et al. Gadd45a expression induces Bim dissociation from the cytoskeleton and translocation to mitochondria. Mol Cell Biol 2005;25(11):4488–500.
12. Smith RA, Jedlinski DJ, Gabrovska PN, Weinstein SR, Haupt L, Griffiths LR. A genetic variant located in miR-423 is associated with reduced breast cancer risk. Cancer Genomics Proteomics 2012;9(3):115–8.
13. Guo W, Dong Z, Guo Y, Chen Z, Kuang G and Yang Z. Methylation-mediated repression of GADD45A and GADD45G expression in gastric cardia adenocarcinoma. Int J Cancer 2013; (133): 2043-53.
14. Xiao- Feng L, Merchant O, BastJr R, Calin G. The Roles of Micro RNAs in the Cancer Invasion-Metastasis Cascade. Cancer Microenviron 2010; (3)1: 137-47.
15. Zhu N, Shao Y, Xu L, Yu L, Sun L. Gadd45-alpha and Gadd45-gamma utilize p38 and JNK signaling pathways to induce cell cycle G2/M arrest in Hep-G2 hepatoma cells. Mol Biol Rep 2009;36(8):2075–85.

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2025-01-15]

16. Higashi H, Vallböhmer D, Warnecke-Eberz U, Hokita S, Xi H, Brabender J, et al. Down-regulation of Gadd45 expression is associated with tumor differentiation in non-small cell lung cancer. Anticancer Res 2006;26(3A):2143–7.
17. Jia M, Zhu M, Wang M, Sun M, Qian J, Ding F, et al. Genetic variants of GADD45A, GADD45B and MAPK14 predict platinum-based chemotherapy-induced toxicities in Chinese patients with non-small cell lung cancer. Oncotarget 2016;7(18):25291–303.
18. Karger S, Weidinger C, Krause K, SheuS.Y, Aigner T, Gimm O, et al. FOXO3a: a novel player in thyroid carcinogenesis? Endocr Relat Cancer 2009; 16(1): 189–99.

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2025-01-15]

Original Article

GADD45A, A POTENTIAL MOLECULAR MARKER IN SEROUS EPITHELIAL OVARIAN CANCER

Nazila Moghtaran Bonab[1], Mohammad Ali Hosseinpour Feizi[2], Morteza Bonyadi[3], Ali Dastranj Tabrizi[4]*

Received: 11 Jan, 2018; Accepted: 19 Mar, 2018

Abstract

Background & Aims: ovarian cancer is the 4th leading cause of cancer-related death in women. In order to reduce its mortality and morbidity, identification and evaluation of specific diagnostic biomarkers are necessary. Given the importance of the GADD45A role in cell survival and death, its expression changes were investigated in benign, borderline and malignant ovarian serous tumors in the present work.

Materials & Methods: Fresh specimens from different types of ovarian serous tissues including 75 tumors and 20 normal gathered from patients who referred to Urmia Kosar and Tabriz Alzahra hospitals between 2015 and 2017 and stored in -80°C. After making a diagnosis by a pathologist, RNA extraction was performed with TRIzol kit, cDNA was synthesized by Takara kit and then the GADD45A gene expression was evaluated by Real-Time PCR

Results*:* The analysis revealed that GADD45A gene expression level showed a significant difference between malignant and normal tissue ($p<0.0001$). In addition, we found a significant reduction trend in expression of the GADD45A gene from benign to borderline to malignant tumors.

Conclusion: Based on our findings, it has been shown that the GADD45A gene expression level significantly reduced in cancer samples. Therefore, this gene expression level may be used to identify the disease stage in ovarian serous tumors. In addition, its expression level can be considered as a target in cancer therapy.

Keywords*:* Ovarian cancer, GADD45A gene, Treatment

Address: Department of Animal Biology, Faculty of Natural Sciences, University of Tabriz, Tabriz, Iran
Tel: +98 4133392280
Email: pourfeizi@eastp.ir

SOURCE: URMIA MED J 2018: 29(2): 118 ISSN: 1027-3727

[1] *PhD in Molecular Genetics, Tabriz University, Tabriz, Iran*
[2] *PhD in Radiobiology and Molecular Genetics, Department of Animal Biology, Faculty of Natural Sciences, University of Tabriz, Tabriz, Iran Tabriz University, Tabriz, Iran (Correspond Author)*
[3] *PhD in Human Genetics, Tabriz University, Tabriz, Iran*
[4] *PhD in Pathology, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran*

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2025-01-15]