

Decrease of Inosine Triphosphatase Gene Expression in Human Gastric Adenocarcinoma Tumors

Farzad Soleimani¹, Amir Hosain Ahmadi², Bahram Mohammad Soltani³,
Mehrdad Behmanesh^{4*}

1- M.Sc., Department of Genetics, Faculty of Biological Sciences, Tarbiat Modares University Tehran, Iran

2- Ph.D. Candidate, Department of Genetics, Faculty of Biological Sciences, Tarbiat Modares University Tehran, Iran

3- Assistant Professor, Department of Genetics, Faculty of Biological Sciences, Tarbiat Modares University Tehran, Iran

4- Associate Professor, Department of Genetics, Faculty of Biological Sciences, Tarbiat Modares University Tehran, Iran

*Corresponding Address: P.O.Code: 1411713116, Department of Genetics, Faculty of Biological Sciences, Tarbiat Modares University Tehran, Iran
Email: behmanesh@modares.ac.ir

Received: 19/Jul/2014, Accepted: 19/Oct/2014

Abstract

Objective: A pure nucleotide pool is essential for correct DNA replication in addition to the prevention of mutagenesis and abnormalities in a living cell. Inosine triphosphatase (ITPase) is a critical enzyme for the removal of deaminated rough purine nucleotides such as inosine from the nucleotide pool. It has been shown that abnormal function and expression of the ITPA gene is followed by an increased substitution mutation rate in the genome. This study compares the ITPA gene expression level between human adenocarcinoma tumors and their normal marginal tissues.

Method: We examined ITPA gene expression in 24 pairs of gastric adenocarcinoma tumors and their normal adjacent tissues by quantitative real-time PCR.

Result: There was reduced ITPA gene expression in tumor tissues compared with the adjacent normal tissues. The decline in ITPA gene expression was more significant in the higher grade samples.

Conclusion: ITPA is involved in omitting deaminated purines from the nucleotide pool. Therefore its abnormal function increases the frequency of mutations and causes higher genomic instability. Our data suggest that lower expression of ITPA can be considered a risk factor for the development and progression of gastric cancer.

Keywords: Inosine triphosphatase, Gastric adenocarcinoma, Genetic instability, Gene expression

Modares Journal of Medical Sciences: *Pathobiology*, Vol. 18 (2015-2016), No. 2, Pages: 97-105

کاهش بیان ژن ITPA در نمونه‌های توموری آدنوکارسینومای معده انسان

فرزاد سلیمانی^۱، امیرحسین احمدی^۲، بهرام محمد سلطانی^۳، مهرداد بهمنش^{۴*}

- ۱- کارشناس ارشد، گروه ژنتیک، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
 ۲- دانشجوی دکتری تخصصی، گروه ژنتیک، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
 ۳- استادیار، گروه ژنتیک، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
 ۴- دانشیار، گروه ژنتیک، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

*آدرس نویسنده مسئول: ایران، تهران، کدپستی: ۱۴۱۷۱۳۱۱۶، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده علوم زیستی، گروه ژنتیک
 Email: behmanesh@modares.ac.ir

پذیرش مقاله: ۹۳/۰۷/۲۷

دریافت مقاله: ۹۳/۰۴/۲۸

چکیده

هدف: وجود یک مخزن از نوکلئوتیدهای خالص در سلول پیش‌نیاز همانندسازی صحیح DNA و جلوگیری از جهش‌زایی و اختلال در عملکرد سلول است. آنزیم اینوزین تری فسفاتاز (ITPase) برای پاک‌سازی مخزن نوکلئوتیدی سلول از نوکلئوتیدهای غیر متعارف دامینه پورینی مانند اینوزین ضروری است. اختلال در عملکرد و بیان این ژن می‌تواند عاملی برای ایجاد جهش‌هایی از نوع جابه‌جایی در ژنوم سلول باشد. هدف از مطالعه حاضر مقایسه بیان ژن اینوزین تری فسفاتاز در نمونه‌های توموری آدنوکارسینوما معده با بافت طبیعی مجاور آن است.

مواد و روش‌ها: بیان ژن ITPA در ۲۴ نمونه توموری و ۲۴ نمونه مجاور آن در سطح mRNA با استفاده از روش Real-Time PCR کمی سنجیده و سپس نتایج به دست آمده تجزیه و تحلیل شد.

نتایج: داده‌های حاصل از مقایسه بیان ژن نشان داد که بیان ژن ITPA در نمونه‌های توموری در مقایسه با نمونه‌های حاشیه توموری کاهش معنی‌داری را به‌ویژه در تومورهای با درجه بالا دارد.

نتیجه‌گیری: با توجه به نقش ITPA در حذف نوکلئوتیدهای غیر عادی دامینه پورینی به‌نظر می‌رسد کاهش بیان این ژن در شروع یا در پیشرفت سرطان نقش داشته باشد. کاهش فعالیت این ژن باعث افزایش فراوانی وقوع جهش در ژنوم سلول‌ها شده و زمینه را برای افزایش ناپایداری ماده ژنتیک فراهم می‌کند.

کلیدواژگان: اینوزین تری فسفاتاز، آدنوکارسینومی معده، ناپایداری ژنتیکی، بیان ژن

مجله علوم پزشکی مدرس: آسیب‌شناسی زیستی، دوره ۱۸، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۴، صفحات: ۹۷-۱۰۵

مقدمه

ژنوم سلول‌های زنده به‌صورت مداوم توسط عوامل آسیب‌رسان خارجی و داخلی تحت حمله قرار می‌گیرد. در تمامی سلول‌های زنده پروکاریوت و یوکاریوتی به‌منظور مقابله با اثر عوامل آسیب‌رسان به DNA سیستم‌های ترمیمی به‌وجود آمده‌است. سیستم‌های ترمیمی در دو سطح DNA ژنومی و امر سلول‌ها را مستعد انواع بیماری‌ها و از جمله انواع سرطان‌ها

ژنوم سلول‌های زنده به‌صورت مداوم توسط عوامل آسیب‌رسان خارجی و داخلی تحت حمله قرار می‌گیرد. در تمامی سلول‌های زنده پروکاریوتی و یوکاریوتی به‌منظور مقابله با اثر عوامل آسیب‌رسان به DNA سیستم‌های ترمیمی به‌وجود آمده‌است. سیستم‌های ترمیمی در دو سطح DNA ژنومی و

ارتباط بیان ژن *ITPA* با سرطان معده

اکسو گوانین تری فسفاتاز (-8-Dihydro-7,8 Human Oxoguanine Triphosphatase) (*MTH1*) نام برد [۲]. ژن ارتولوگ *ITPA* انسانی، در اشریشیا کلی (*E. coli*) *RdgB* و در مخمر ساکارومایسس سرویسه (*Saccharomyces cerevisiae*) *Ham1* نام دارد. ژن *ITPA* روی بازوی کوتاه کروموزوم شماره ۲۰ قرار گرفته است و در عمده بافت‌های انسانی بیان می‌شود. آنزیمی که توسط ژن *ITPA* در انسان کد می‌شود، *ITPase* نام دارد و به صورت همو دایمر دارای فعالیت زیستی است. آنزیم *ITPase* واکنش تبدیل *d/ITP* و *d/XTP* به نوکلئوتیدهای منو فسفات آن‌ها را کاتالیز می‌کند و مانع از ورود آن‌ها به ساختمان *DNA* و *RNA* سلول‌های زنده می‌شود.

اینوزین مونوفسفات (*IMP*) در مسیرهای ساخت بازهای پورین تولید شده و در متابولیسم آن‌ها نقش اساسی دارد. *IMP* در سلول‌های هسته‌دار از طریق تبدیل به آدنوزین مونوفسفات (*AMP*) و گوانوزین مونوفسفات (*GMP*) تبدیل به *ATP* و *GTP* می‌شود. با این وجود *IMP* می‌تواند مستقیماً فسفریله و به *ITP* تبدیل شود. نقش *ITPase* بازبایی پورین‌های دامینه شده و حفاظت از سلول در برابر تجمع نوکلئوتیدهای غیر متعارف مانند *d/ITP* و *d/XTP* است که می‌توانند وارد *DNA* یا *RNA* شوند [۷، ۸]. اهمیت *ITPA* در انسان به واسطه حذف همولوگ آن در باکتری، مخمر و موش شناخته شده است. حذف آن در این موجودات منجر به آثار فنوتیپی شدیدی می‌شود. حذف *ITPA* باکتریایی به همراه ژن *RecA* باعث نقص در نوترکیبی ژنتیکی و کشنده است. حذف *ITPA* در مخمر سبب بالا رفتن قابل توجه میزان جهش‌زایی می‌شود. بیشترین آثار فنوتیپی ناشی از حذف *ITPA* در موش دیده شده است. اکثر موش‌های که *ITPA* در آن‌ها حذف شده است قبل از تولد سقط می‌شوند و موش‌هایی هم که زنده می‌مانند قبل از این که از شیر گرفته شوند بر اثر نارسایی قلبی می‌میرند. این موش‌ها که *ITPA* در آن‌ها حذف شده دارای میزان زیادی شکست تک رشته‌ای *DNA* و ناهنجاری کروموزومی هستند

و همچنین بیماری‌های تحلیل برنده عصبی می‌کند [۱، ۲]. یکی از عوامل آسیب‌رسان به *DNA* با منشأ داخلی وجود نوکلئوتیدهای غیر متعارف اکسید شده یا دامینه شده در مخزن نوکلئوتیدی است که منجر به کاهش درستی عملکرد دستگاه همانندسازی می‌شود [۳].

از مهم‌ترین این نوکلئوتیدها اینوزین (*ITP/dITP*)، گزانتین (*XTP/dXTP*) و ۸-اکسو گوانین هستند که می‌توانند در حین متابولیسم سلولی یا به واسطه تأثیر عوامل خارجی همچون رادیکال‌های آزاد اکسیژن (*Reactive oxygen species: ROS*) و نیتروژن (*RNS*) یا اشعه ماورای بنفش به واسطه دامیناسیون و اکسیداسیون نوکلئوتیدهای طبیعی در سلول تولید شوند. نوکلئوتیدهای سه فسفاته پورینی غیر متعارف اینوزین و گزانتین در حین همانندسازی می‌توانند با توان بالا در رقابت با نوکلئوتیدهای سه فسفاته طبیعی، با بازهای معمول جفت شده و وارد رشته *DNA* شوند [۲، ۴]. ورود این بازهای غیر عادی سبب افزایش فراوانی جهش‌ها از نوع جابه‌جایی بازها و تغییر کد اطلاعاتی ماده ژنتیکی می‌شود. علاوه بر این؛ بررسی‌ها نشان داده که ورود باز اینوزین در ساختار *mRNA* باعث تغییر در ساختمان و پایداری و توانایی ساخت پروتئین از آن می‌شود [۵، ۶].

سلول‌ها برای محافظت از ژنوم در برابر آثار مضر تداخل نوکلئوتیدهای غیر متعارف، سیستم‌های آنزیمی را توسعه داده‌اند. این سیستم‌ها در دو سطح عمل می‌کنند؛ سطح اول شامل رهگیری نوکلئوتیدهای سه فسفاته غیر متعارف در مخزن نوکلئوتیدی و تبدیل آن‌ها به شکل مونو یا دی فسفاته آن‌ها است و سطح دوم شامل تشخیص بازهای نامناسب در *DNA* و حذف مستقیم آن‌هاست.

نوکلئوزید تری فسفاتازها (*NTPases*) از دسته آنزیم‌هایی هستند که در حذف نوکلئوتیدهای غیر متعارف دخیل است. از مهم‌ترین این *NTPase*ها که به صورت حفاظت شده در تمامی موجودات وجود دارد می‌توان از ژن‌های اینوزین تری فسفاتاز (*Inosine triphosphate: ITPA*) یا ۷ و ۸ دی هیدرو ۸

۸۰- درجه سانتی گراد نگهداری شد. نمونه‌های مورد استفاده در این طرح پس از دریافت رضایت‌نامه کتبی از بیماران اخذ شد. انجام این تحقیق توسط کمیته اخلاق پزشکی تربیت مدرس تأیید شده است.

جدول ۱ اطلاعات بالینی مربوط به بیماران

ویژگی‌های بالینی	تعداد
تعداد بیمار	۲۴
سن	
<۶۴	۱۱
>۶۴	۱۳
جنس	
مرد	۱۴
زن	۱۰
درجه نمونه‌ها	
درجه پایین	۱۲
درجه بالا	۱۲
عمق تهاجم	
T1-T2	۸
T3-T4	۱۶

استخراج RNA کل از نمونه‌ها

RNA کل با استفاده محلول RNX-plus (سیناژن، ایران) استخراج شد. کیفیت و کمیت RNAهای استخراج شده با استفاده ژل الکتروفورز و اسپکتروفتومتری سنجیده شد و برای حذف هرگونه آلودگی به DNA ژنومی، RNAهای کل با استفاده از DNase I (Fermentas، لیتوانی) در ۳۷ سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه تیمار شد.

سنتز cDNA

برای ساختن کتابخانه cDNA به میزان ۳ میکروگرم از RNA کل استفاده شد. ساخت cDNA با استفاده از آنزیم رونوشت‌بردار معکوس MLV (Fermentas، لیتوانی) و آغازگر Oligo(dT)₁₈ (MWG، آلمان) به مدت ۶۰ دقیقه و مطابق با پروتکل شرکت سازنده انجام شد.

عملکرد دقیق سلولی ITPase در انسان هنوز به‌طور کامل مشخص نشده است. اما شواهدی در مورد کاهش بیان ژن کدکننده ITPase در بیماران مبتلا به لوسمی میلویید مزمن (Chronic myeloid leukemia) و در رده سلولی K562 در دسترس است [۱۱، ۱۲]. با توجه به اطلاعات موجود به‌نظر می‌رسد که حذف یا کاهش بیان این ژن می‌تواند منجر به افزایش نوکلئوتیدهای غیر متعارف و به دنبال آن افزایش جهش و ناپایداری ژنومی شود.

در این مطالعه با توجه به نقش زیستی ژن *ITPA*، بیان آن در سرطان معده ارزیابی شد. سرطان معده شایع‌ترین سرطان در ایران و اولین عامل مرگ بر اثر سرطان در کشورمان است. بر طبق یک برآورد جهانی در سال ۲۰۰۸، ۹۸۹۸۰۰ نفر که به تازگی به سرطان معده مبتلا شده‌اند شناسایی شده و ۷۳۸۰۰۰ بیمار نیز بر اثر این سرطان فوت کرده‌اند [۱۱، ۱۶]. با توجه به میزان بالای شیوع این سرطان در کشورمان برای این مطالعه این سرطان انتخاب شد. تاکنون مطالعه‌ای در مورد عملکرد ژن *ITPA* در سرطان معده انجام نشده است.

مواد و روش‌ها

آماده‌سازی نمونه‌ها

۴۸ نمونه که شامل ۲۴ نمونه توموری و ۲۴ نمونه طبیعی حاشیه توموری مجاور آن به‌صورت جفت بود، از بانک تومور ایران واقع در بیمارستان امام خمینی (تهران-ایران) پس از طی مراحل اداری تهیه شد. نمونه‌ها دریافت شده حاوی نمونه‌هایی از مراحل و درجه‌های مختلف توموری بود (جدول ۱). مشخصات پاتولوژیکی نمونه‌ها توسط دو متخصص پاتولوژی و بر مبنای تعیین درجه و مرحله براساس طبقه‌بندی TNM انجام شده توسط WHO بررسی شد (TNM Classification of Malignant Tumors). نمونه‌ها در تانک حاوی نیتروژن به آزمایشگاه منتقل شد و تا زمان استخراج RNA در دمای

طراحی آغازگر

برای طراحی آغازگر (Primer) از توالی کد کننده mRNA (NM_033453) ایزوفرم I از ژن *ITPA* که کد کننده پروتئین عملکردی آن بود استفاده شد. برای طراحی آغازگر از نرم افزار PRIMER EXPRESS (Applied Biosystems، آمریکا) استفاده شد. به عنوان ژن کنترل داخلی از ژن *GAPDH* (NM_001289745) استفاده شد. برای اطمینان از یکتا بودن جایگاه اتصال آغازگرهای طراحی شده از برنامه رایانه‌ای BLAST موجود در سایت NCBI استفاده شد (جدول ۲).

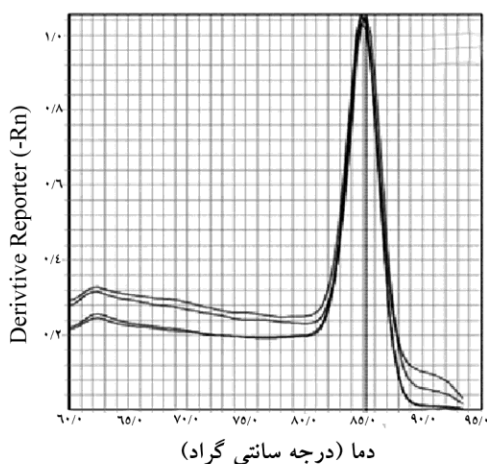
جدول ۲ توالی آغازگرهایی که برای مطالعه بیان ژن *ITPA* در این تحقیق استفاده شد

نام ژن	آغازگر	توالی آغازگر
<i>ITPA</i>	رفت	AAGAAGCTGGAGGAGGT CG
	برگشتی	TCCAAGGGCATTGAAGCACA
<i>GAPDH</i>	رفت	CCATGAGAAGTATGACAAC
	برگشتی	GAGTCTTCCACGATACC

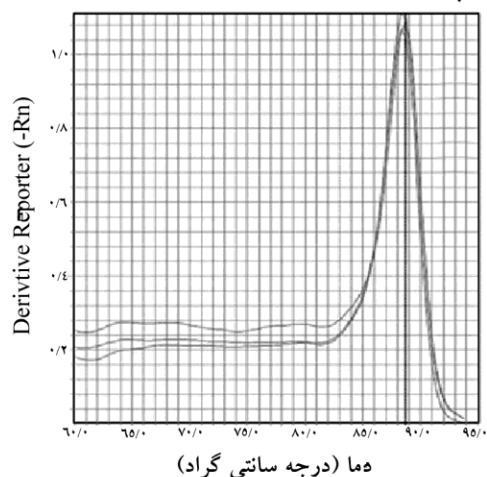
Real-Time PCR

بررسی بیان ژن *ITPA* با روش Real-Time PCR با استفاده از دستگاه ABI 7500 (Applied Biosystem، آمریکا) انجام شد. واکنش در حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر با ۱۵ نانوگرم از کتابخانه cDNA، ۴ میکرولیتر Eva green (5X) (Amplicon) و ۵ پیکومول از هر کدام از آغازگرهای رفت و برگشتی (MWG، آلمان) انجام شد. برای تکثیر رونوشت ژن واکنش PCR به صورت واسرشت سازی اولیه در دمای ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۳ دقیقه انجام شد و سپس در برنامه دمایی ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۲۰ ثانیه و ۶۰ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ ثانیه به منظور اتصال و تکثیر و به تعداد ۴۰ چرخه انجام شد. در انتها برای اطمینان از تکثیر اختصاصی محصولات PCR منحنی ذوب در بازه دمایی ۶۰ تا ۹۵ درجه سانتی گراد برای هر نمونه رسم شد (شکل ۱).

الف



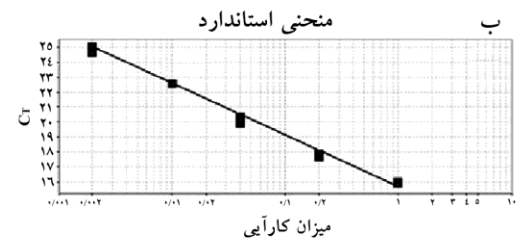
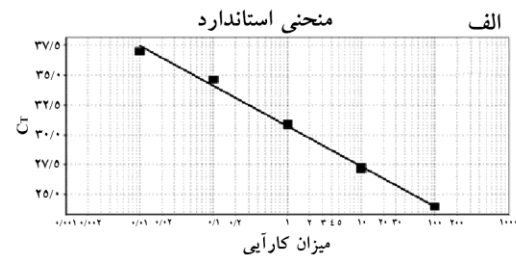
ب



شکل ۱ منحنی ذوب حاصل از Real Time PCR: الف) ژن کنترل داخلی *GAPDH*، ب) ژن مورد مطالعه *ITPA*

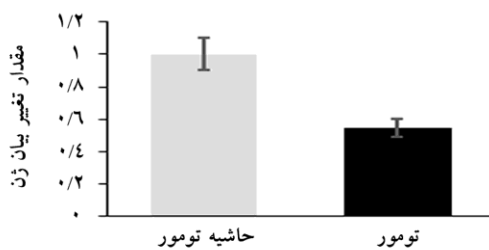
تعیین کارایی تکثیر (Efficiency) برای آغازگرها با استفاده از غلظت‌های متفاوت از cDNA ساخته شده در تحقیق انجام شد و مقدار آن برای ژن هدف *ITPA* و کنترل داخلی *GAPDH* ۹۸ درصد تعیین شد (شکل ۲). برای تعیین مقدار بیان ژن هدف مقدار ΔCT از کم کردن Ct ژن کنترل داخلی از ژن هدف برای هر کدام از بافت‌های توموری و حاشیه طبیعی آن محاسبه شد. پس از محاسبه $\Delta\Delta CT$ برای هر کدام از نمونه‌ها تعیین و تغییرات نسبی بیان ژن در بافت

توموری نسبت به بافت بیعی حاشیه آن با استفاده از فرمول $-\Delta\Delta CT$ به دست آمد.

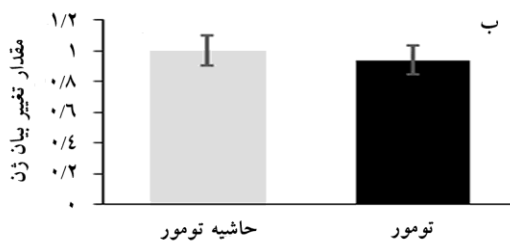
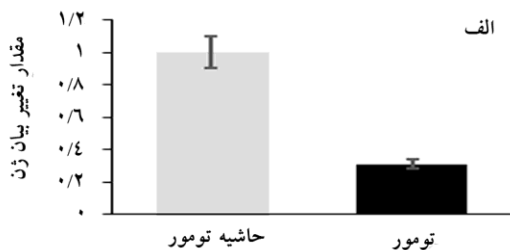


شکل ۲ منحنی استاندارد و میزان کارآبی آغازگرا؛ نمودار الف نمایش دهنده منحنی استاندارد برای ژن *ITPA* با کارآبی ۹۸ درصد و نمودار ب نمایش دهنده منحنی استاندارد برای کنترل داخلی *GAPDH* با کارآبی ۹۸ درصد است.

حاشیه تومور بر طبق شکل ۳ به میزان ۰/۵۴ (با $P.value=0/047$) کاهش پیدا کرده است (شکل ۳). همچنین با تجزیه و تحلیل بیشتر مشخص شد، که بیان ژن *ITPA* در نمونه‌های با درجه پایین نسبت به بافت حاشیه توموری تغییر معنی داری نشان نمی‌دهد، اما در نمونه‌های با درجه بالا کاهش معنی داری در بیان ژن *ITPA* در مقایسه با بافت حاشیه توموری (با $P.value=0/028$) مشاهده شد (شکل ۴).



شکل ۳ تجزیه و تحلیل بیان *ITPA* در نمونه‌های آدنوکارسینومای معده و بافت طبیعی مجاور آن؛ بیان ژن *ITPA* با استفاده از Real-Time PCR بررسی و بعد از به کار بردن فرمول تجزیه و تحلیل آماری شد و مشخص شد در نمونه‌های توموری بیان نسبت به بافت طبیعی مجاور کاهش یافته است.



شکل ۴ تجزیه و تحلیل بیان ژن *ITPA* در مراحل مختلف تهاجم بافتی؛ الف) تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان داد که میزان بیان ژن *ITPA* در نمونه‌های مربوط به درجه‌های بالاتر کاهش معنی داری را نشان می‌دهد. ب) در نمونه‌های با درجه پایین کاهش معنی داری در بیان ژن *ITPA* مشاهده نشد.

تجزیه و تحلیل آماری

برای بررسی معنی داری تغییر بیان ژن *ITPA* در نمونه‌های توموری در مقایسه با حاشیه توموری از آزمون آماری paired t-test استفاده شد و همچنین برای بررسی معنی دار تغییر بیان در درجه‌های مختلف از آزمون آماری Wilcoxon استفاده شد. مقدار $P-value \leq 0/05$ به عنوان معیار ارزیابی تفاوت از نظر آماری انتخاب شد. برای آزمون آماری از نرم‌افزار SPSS (Version 20; SPSS Inc, Chicago, IL) استفاده شد.

نتایج

تجزیه و تحلیل بیان ژن *ITPA* در نمونه‌های توموری و حاشیه توموری با استفاده از روش Real-Time PCR انجام شد. تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل از بررسی بیان نشان داد که بیان ژن *ITPA* در نمونه‌های توموری نسبت به نمونه‌های

بحث

آدنوکارسینوما عمده‌ترین نوع سرطان معده است که حدود ۹۰ تا ۹۵ درصد کل بدخیمی‌های معده را شامل می‌شود [۱۲]. ناپایداری ژنومی از جمله ناپایداری کروموزومی و ناپایداری ریز ماهواره‌ها یکی از عمده‌ترین اتفاقات در مسیر پیشرفت سرطان‌ها و از جمله آدنوکارسینوما معده است [۱۵]. شناسایی مکانیسم بروز ناپایداری‌های کروموزومی می‌تواند در فهم چگونگی پیشرفت بیماری و یا درمان آن نقش مهمی ایفا کند. یکی از مکانیسم‌های احتمالی بروز این ناپایداری‌ها وقوع شکست‌های DNA و عدم توانایی سلول در ترمیم این شکست‌ها است. به این منظور در این مطالعه بیان ژن *ITPA* که اختلال در آن می‌تواند سبب تحمیل شکست‌های DNA و بروز ناپایداری کروموزومی شود بررسی شد [۱۶]. در مطالعه حاضر مشخص شد که در بافت‌های توموری بیان ژن *ITPA* نسبت به بافت‌های حاشیه توموری کاهش نشان می‌دهد. به علاوه؛ در این مطالعه مشاهده شد که بیان ژن *ITPA* در مراحل اولیه سرطان تغییر معنی‌داری نشان نمی‌دهد اما در نمونه‌های با حالت تهاجمی بیشتر کاهش محسوسی در بیان این ژن مشاهده می‌شود. به این ترتیب به نظر می‌رسد که کاهش بیان ژن *ITPA* احتمالاً به‌عنوان یک نیروی محرک در پیشرفت آدنوکارسینوما به واسطه افزایش میزان وقوع جهش و ناپایداری‌های ژنومی عمل نماید. این نتیجه‌گیری با داده‌های منزس (Menezes) و همکارانش تطابق دارد که نشان داده‌اند مهار بیان ژن *ITPA* سبب تجمع نوکلئوتیدهای نامتعارف و شکست‌های کروموزومی در سلول‌های HeLa می‌شود [۲]. همچنین در مطالعه‌ای دیگر نشان داده شده است پلی‌مورفیسم‌هایی که سبب کاهش فعالیت *ITPA* می‌شود شکست DNA تحت تأثیر داروهای تیوپورینی را افزایش می‌دهد [۱۶]. در سال ۲۰۱۰ ژیانگ (Xiong) و همکارانش مشاهده کردند که در افراد گیرنده پیوند به‌دلیل مصرف داروهای تیوپورینی که منجر به افزایش نوکلئوتیدهای نامتعارف می‌شود، استعداد ابتلا به لوکمی و کارسینوما سلول‌های سنگ

ارتباط بیان ژن *ITPA* با سرطان معده

فرشی افزایش می‌یابد. به علاوه کاهش فعالیت *ITPA* در افرادی که داروهای تیوپورینی را مصرف می‌کنند با شروع و پیشرفت کارسینوما در ارتباط است [۱۷]. از طرفی؛ مشخص شده است که میزان رادیکال‌های اکسیژن و نیتروژن آزاد در آدنوکارسینوما معده افزایش می‌یابد. در واقع ROSها یکی از دلایل اصلی ایجاد نوکلئوتیدهای نامتعارف است و منجر به افزایش شکست‌های کروموزومی می‌شود [۱۸]. کاهش بیان *ITPA* که در نتایج بررسی حاضر نشان داده شده است می‌تواند یکی از دلایل مشاهده شکست‌های کروموزومی باشد چرا که در غیاب عملکرد *ITPase* میزان نوکلئوتیدهای نامتعارف در مخزن نوکلئوتیدی افزایش پیدا می‌کند. این نوکلئوتیدها می‌تواند طی همانندسازی وارد DNA شود. ترمیم این بازهای آنالوگ منجر به افزایش شکست تک رشته‌ای و در نهایت شکست‌های دو رشته‌ای در DNA طی همانندسازی می‌شود. شکست دو رشته‌ای خود می‌تواند منجر به حذف، جابه‌جایی و دیگر شکل‌های ناپایداری کروموزومی می‌شود. در صورت ترمیم نشدن، بازهای آنالوگ در DNA باقی می‌ماند و می‌تواند منجر به خطا در همانندسازی شود. این امر باعث تجمع جهش می‌شود که به نوبه خود می‌تواند عاملی برای پیشرفت سرطان شود [۲، ۱۹-۲۲]. از سوی دیگر؛ با توجه به کاهش بیان ژن در درجات بالا در نمونه‌های سرطان معده شاید بتوان اختلال در عملکرد این ژن را با تفاوت در سرعت پیشرفت بیماری و افزایش میزان ناپایداری ژنومی مرتبط دانست. لازم است تا در تحقیقات آینده عملکرد این ژن در سایر نمونه‌های سرطانی از بافت‌های مختلف ارزیابی شود.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله مراتب تشکر و قدردانی خود را از تمامی بیمارانی که با اهدای نمونه زمینه را برای انجام این تحقیق مهیا کردند اعلام می‌نمایند. هزینه این کار تحقیقاتی از سوی معاونت محترم پژوهشی دانشگاه تربیت مدرس و ستاد سلول‌های بنیادی تأمین شده است.

منابع

- [1] Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* 2011; 144(5): 646-74.
- [2] Menezes MR, Waisertreiger IS, Lopez-Bertoni H, Luo X, Pavlov YI. Pivotal role of inosine triphosphate pyrophosphatase in maintaining genome stability and the prevention of apoptosis in human cells. *PLoS One* 2012; 7(2): e32313.
- [3] Galperin MY, Moroz OV, Wilson KS, Murzin AG. House cleaning, a part of good housekeeping. *Mol Microbiol* 2006; 59(1): 5-19.
- [4] Friedberg EC, McDaniel LD, Schultz RA. The role of endogenous and exogenous DNA damage and mutagenesis. *Curr Opin Genet Dev* 2004; 14(1): 5-10.
- [5] Bradshaw JS, Kuzminov A. RdgB acts to avoid chromosome fragmentation in *Escherichia coli*. *Mol Microbiol* 2003; 48(6): 1711-25.
- [6] Burgis NE, Brucker JJ, Cunningham RP. Repair system for noncanonical purines in *Escherichia coli*. *J Bacteriol* 2003; 185(10): 3101-10.
- [7] Sumi S, Marinaki AM, Arenas M, Fairbanks L, Shobowale-Bakre M, Rees DC, Thein SL, Ansari A, Sanderson J, De Abreu RA, Simmonds HA, Duley JA. Genetic basis of inosine triphosphate pyrophosphohydrolase deficiency. *Hum Genet* 2002; 111(4-5): 360-7.
- [8] Lin S, McLennan AG, Ying K, Wang Z, Gu S, Jin H, Wu C, Liu W, Yuan Y, Tang R, Xie Y, Mao Y. Cloning, expression, and characterization of a human inosine triphosphate pyrophosphatase encoded by the itpa gene. *J Biol Chem* 2001; 276(22): 18695-701.
- [9] Behmanesh M, Sakumi K, Abolhassani N, Toyokuni S, Oka S, Ohnishi YN, Tsuchimoto D, Nakabeppu Y. ITPase-deficient mice show growth retardation and die before weaning. *Cell Death Differ* 2009; 16(10): 1315-22.
- [10] Abolhassani N, Iyama T, Tsuchimoto D, Sakumi K, Ohno M, Behmanesh M, Nakabeppu Y. NUDT16 and ITPA play a dual protective role in maintaining chromosome stability and cell growth by eliminating dIDP/IDP and dITP/ITP from nucleotide pools in mammals. *Nucleic Acids Res* 2010; 38(9): 2891-903.
- [11] Hasannia B, Behmanesh M, Akbari M. Comparison expression of inosine triphosphate pyrophosphatase in CML and healthy individuals. *Modares Journal of Medical Sciences: Pathobiology* 2008; 11(1): 45-55. (Persian)
- [12] Danai Y, Behmanesh M, Sadeghizadeh M. expression evaluation of inosine triphosphate pyrophosphorylase in K562. *Modares Journal of Medical Sciences: Pathobiology* 2007; 10(2): 1-10. (Persian)
- [13] Kelley JR, Duggan JM. Gastric cancer epidemiology and risk factors. *J Clin Epidemiol* 2003; 56(1): 1-9.
- [14] Crew KD, Neugut AI. Epidemiology of gastric cancer. *World J Gastroenterol* 2006; 12(3): 354-62.
- [15] Sadjadi A, Nourai M, Mohagheghi MA,

ارتباط بیان ژن *ITPA* با سرطان معده

- Mousavi-Jarrahi A, Malekezadeh R, Parkin DM. Cancer occurrence in Iran in 2002, an international perspective. *Asian Pac J Cancer Prev* 2005; 6(3): 359-63.
- [16] Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 2011; 61(2): 69-90.
- [17] Uppal DS, Powell SM. Genetics/genomics/proteomics of gastric adenocarcinoma. *Gastroenterol Clin North Am* 2013; 42(2): 241-60.
- [18] Waisertreiger IS, Menezes MR, Randazzo J, Pavlov YI. Elevated Levels of DNA Strand Breaks Induced by a Base Analog in the Human Cell Line with the P32T *ITPA* Variant. *J Nucleic Acids* 2010; 2010.
- [19] Xiong H, Xin HW, Wu XC, Li Q, Xiong L, Yu AR. Association between inosine triphosphate pyrophosphohydrolase deficiency and azathioprine-related adverse drug reactions in the Chinese kidney transplant recipients. *Fundam Clin Pharmacol* 2010; 24(3): 393-400.
- [20] Kamiya H. Mutagenic potentials of damaged nucleic acids produced by reactive oxygen/nitrogen species: approaches using synthetic oligonucleotides and nucleotides: survey and summary. *Nucleic Acids Res* 2003; 31(2): 517-31.
- [21] Simone PD, Pavlov YI, Borgstahl GE. *ITPA* (inosine triphosphate pyrophosphatase): from surveillance of nucleotide pools to human disease and pharmacogenetics. *Mutat Res* 2013; 753(2): 131-46.
- [22] Caldecott KW. Single-strand break repair and genetic disease. *Nat Rev Genet* 2008; 9(8): 619-31.
- [23] Kuzminov A. Single-strand interruptions in replicating chromosomes cause double-strand breaks. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001; 98(15): 8241-6.
- [24] Shrivastav M, De Haro LP, Nickoloff JA. Regulation of DNA double-strand break repair pathway choice. *Cell Res* 2008; 18(1): 134-47.