بررسی فراوانی جهش‌های مضاعف شدگی ژن HER2/neu در بیماران مبتلا به سرطان معده با استفاده از تکنیک تکثیر پروب وابسته به الحاق چندتایی

دکتر محمد رضا لشکری زاده[۱]، دکتر محمد رضا بذرافشانی[۲]، دکتر علی ایزدی*[۳]، فاطمه السادات حسینی[۴]

۱- دانشیار گروه جراحی، دانشکده پزشکی افضلی پور، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران
۲- استادیار گروه جراحی، دانشکده پزشکی افضلی پور، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران
۳- دانشجوی جراحی عمومی، دانشکده پزشکی افضلی پور، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران
۴- دانشجوی کارشناسی ارشد ژنتیک، دانشکده پزشکی افضلی پور، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران

چکیده

زمینه و هدف: بدخیمی‌های معده به عنوان چهارمین سرطان شایع در جهان مطرح می‌باشند. با آن‌که بیان بیش از اندازه ژن HER2/neu در بسیاری از سرطان‌ها با پیشگویی ضعیفی همراه است اما اطلاعات اندکی در رابطه با تکثیر ژن HER2 در سرطان معده با تکنیک MLPA در دسترس است. مطالعه حاضر با هدف تعیین میزان فراوانی موتاسیون‌های حاصل از مضاعف شدگی ژن HER2/neu با استفاده از تکنیک MLPA در بیماران مبتلا به سرطان معده می‌باشد.

روش بررسی: در این مطالعه‌ی توصیفی تعداد ۶۰ نمونه بلاک بافتی بیماران مبتلا به سرطان معده با سابقه اندوسکوپی یا جراحی، بین سال‌های ۱۳۷۶ تا ۱۳۹۱ در مرکز بهداشتی–درمانی افضلی پور کرمان از نظر جهش‌های حذف و اضافه در ژن HER2/neu بررسی شدند.

نتایج: ۷۳/۳ درصد از نمونه‌های مورد مطالعه متعلق به مردان و ۲۶/۷ درصد زنان بودند. میانگین سنی نمونه‌های مورد بررسی ۶۲/۷۱ سال بود. به طور کلی فراوانی مضاعف شدگی ژن HER2 در بیماران در سطح پایین ۱۰ درصد و در سطح بالا ۳۳/۳ درصد بود.

نتیجه گیری: بطور کلی میزان فراوانی مضاعف شدگی ژن HER2/neu در مردان بیشتر از زنان بوده، با این حال پیشنهاد می‌گردد پژوهش‌های بیشتری در این زمینه بعمل آید.

واژگان کلیدی: مضاعف شدگی، ژن، HER2/neu، سرطان معده، MLPA

*آدرس نویسنده مسئول: کرمان، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، دانشکده پزشکی افضلی پور، دانشجوی جراحی عمومی–۰۹۱۵۵۳۱۶۶۳۵

پست الکترونیکی: dr.ali.izadi4134@gmail.com

[Downloaded from jms.thums.ac.ir on 2025-11-07]

مقدمه

امروزه هنوز مرگ و میر ناشی از سرطان‌های معده و مری در کشورهای پیشرفته مانند ژاپن و امریکا درصد بالایی را به خود اختصاص داده است (۱). اگرچه فاکتورهای مؤثر در هر دو نوع این سرطان‌ها متعدد است، ولی همواره فاکتور تغذیه یکی از عوامل مهم در ایجاد این سرطان‌ها می‌باشد. این نوع سرطان‌ها بیشتر در بین افراد کم درآمد که عادات غذایی خاصی دارند، مشاهده می‌شود (۲).

علی‌رغم آن‌که در کشورهای توسعه یافته در نیم قرن اخیر کاهش چشمگیری در میزان شیوع سرطان معده صورت گرفته، اما در حال حاضر هنوز بدخیمی‌های معده به عنوان چهارمین سرطان شایع در جهان محسوب می‌شود (۳).

بر طبق گزارش انجمن سرطان آمریکا سالانه حدود ۲۱۰۰۰ مورد جدید سرطان معده در جهان تشخیص داده شده و حدود ۱۰۰۰۰ مورد مرگ ناشی از این نوع سرطان گزارش می‌شود (۴). بر اساس مطالعات پیشین تقریباً نیمی از سرطان‌های معده از بخش انتهایی معده منشا می‌گیرند (۴)، در حالی که بر اساس پژوهش‌های انجام شده اخیر در آمریکا اغلب این سرطان‌ها بخش فوقانی معده را مبتلا می‌نمایند (۵). علائم بالینی سرطان معده در مراحل اولیه مشخص نبوده و به علت مبهم و غیر اختصاصی بودن علائم و نشانه‌ها تشخیص آن دشوار می‌باشد (۶). بیماران معمولاً زمانی مراجعه می‌کنند که تومور گسترش پیدا کرده و به مرحله پیشرفته رسیده است که در این مرحله طول عمر کوتاه می‌باشد. به همین جهت ویژگی تشخیص زودرس در سرطان معده بسیار با اهمیت است. لذا در صورت وجود هرگونه احتمال خطا در شرح حال، معاینه دقیق بیمار و عکس معده برای تعیین محل دقیق تومور و نمونه گیری آن ضروری است (۷). ژنوم همه موجودات زنده تحت تاثیر فرایندهای شیمیایی درونی بدن و عوامل خارجی مانند مواد شیمیایی و پرتوهای یونیزه کننده همیشه در معرض آسیب قرار دارد. موجود زنده از اثرات جهش‌زای این عوامل به وسیله ترمیم سرطان حفاظت می‌شود. از این‌رو چنانچه نقصی در ارتباط با سیستم ترمیم به ارث برسد سبب بروز و پیشرفت سرطان می‌گردد (۸).

ابتلاء به عفونت‌ها از جمله عفونت با هلیکوباکتر پیلوری نقش مهمی در بروز التهاب مزمن مخاط معده دارد و این موضوع شرایط را برای بروز زخم پپتیک و آدنوکارسینوم معده فراهم می نماید. با این حال، وجود تفاوت قابل ملاحظه در میزان التهاب معده افراد مختلف آلوده نشان می‌دهد که غیر از هلیکوباکتر پیلوری و عوامل مربوط به آن، فاکتورهای دیگری نیز از جمله فاکتورهای ژنتیکی و ایمونولوژیکی مربوط به میزبان نیز در این راستا نقش دارند. بنابراین ساز و کارهایی که در ایجاد التهاب در مخاط معده نقش دارند، می‌توانند به عنوان محور اصلی مطالعاتی پاتوژنز سرطان معده منظور گردند (۹). با آن که اتیولوژی سرطان معده روشن و مشخص نیست، اما علل غیر ژنتیک نقش مهمی در ایجاد تومور ایفا می‌کنند که از این میان عوامل تغذیه‌ای به ویژه رژیم پرنمک و غذاهای دودی نمکی، بسیار مهم هستند. علاوه بر این، عوامل عفونی نظیر هلیکوباکتر پیلوری بعنوان یک عامل مهم اتیولوژیک، مطرح می‌باشند (۶). سرطان معده در۹۰ درصد موارد تک گیر می‌باشد. اما تعداد اندکی از آنها با سابقه خانوادگی مرتبط هستند. لذا اختلالات ژنتیکی اکتسابی همچنان نقش مهمی در روند تومورزایی در سرطان معده دارند (۷).

امروزه کشف ژن‌هایی مانند HER-2/neu و P53 این احتمال را بوجود آورده که سیر بالینی و پیش آگهی سرطان معده را بتوان بهتر از قبل پیشگویی کرد. از طرفی مشخص شده است که تعداد زیادی از ژن‌ها در بدخیمی‌های انسانی، بیش از پیش تقویت می‌شوند، لذا جهت بررسی موتاسیون ژنی، تاکنون مطالعات فراوانی روی سرطان‌های مختلف بدن انسان انجام شده است (۱۰). پروتو انکوژن HER-2/neu که ژن مربوط به آن بر روی کروموزوم ۱۷ قرار دارد (۴)، یک گلیکوپروتئین بین غشایی تولید می‌کند که با تیروزین کیناز خاصی فعالیت می‌نماید (۵). در مدل‌های تحقیقات کارآزمایی-های بالینی و مطالعات آزمایشگاهی نشان داده شده است که HER-2/neu می‌تواند لنفوسیت‌های T کمکی جهت پاسخ به تولید بیش از آن در تومورها را تحریک نموده و در نتیجه کل سیستم ایمنی جهت از بین بردن آن فعال گردیده و باعث از بین بردن آن گردند (۶).

HER2 یک گلیکوپروتئین درون غشایی ۱۸۵ کیلو دالتونی است با سه دومین مجزا: یک دومین خارج سلولی انتهای آمینی، یک دومین درون غشایی منفرد آلفا هلیکس و یک دومین تیروزین کیناز داخل سلولی می‌باشد. گیرنده‌های این خانواده توسط دوتایی شدن بین دو گیرنده یکسان و یا دو عضو مختلف از خانواده یکسان، فعال می‌شوند (۷). بیش بیانی ژن

[Downloaded from jms.thums.ac.ir on 2025-11-07]

HER2/neu در بسیاری از سرطان‌ها دیده شده و با پیشگویی ضعیفی همراه است (۱۰). برخی از مطالعات اخیر درمان کمکی با آنتی‌بادی منوکلونال ضد HER2 را برای درمان سرطان پستان پیشنهاد نموده‌اند.

در یک مطالعه که در سال ۲۰۰۵ بر روی ۶۶ نمونه بیمار مبتلا به سرطان اسکاموسل کارسینومای مری در ژاپن صورت پذیرفت ۲۶ درصد نمونه‌های مورد مطالعه از نظر ایمونو هیستو شیمیایی (IHC[1]) مثبت گزارش گردیده‌اند. همچنین در مطالعه دیگری که با روش ایمونو هیستو شیمیایی میزان این پروتئو انکوژن مورد بررسی قرار گرفته نشان داده شده است که فراوانی آن در بین اسکاموسل کارسینومای مری از ۰ تا ۵۵/۹ درصد متغیر می‌باشد. وضعیت HER2 معمولا با روش‌هایی مثل IHC و یا تست‌های تکثیر ژنی مثل CISH, FISH مشخص می‌شود (۸). در حالی‌که در برخی از مطالعات با روش IHC، بیش بیانی HER2 را بصورت متفاوت گزارش نموده‌اند. این تفاوت‌ها می‌تواند وابسته به مرحله توموری، بافت شناسی یا تفسیر نتایج IHC باشد (۱۱). از طرف دیگر، آنالیز FISH نیز بسیار دشوار، وقت گیر و نیازمند میکروسکوپ فلوروسنت با فیلترهای مولتی باند، دوربین با کیفیت بالا و شمارش دستی می‌باشد (۱۲). همچنین، این تکنیک‌ها وضعیت HER2 را به صورت نیمه کمی ارزیابی می‌کنند. از این رو تشخیص تکثیر این ژن با تکنیک‌های PCR کمی آسان‌تر و دقیق‌تر بوده و به عنوان یک جایگزین پیشنهاد می‌شود. یکی از این تکنیک‌ها، تکنیک تکثیر پروب وابسته به الحاق چند تایی (MLPA[2]) است (۱۳). تطابق بالای FISH و MLPA, CISH وIHC و MLPA و CISH تایید کرد که MLPA روشی سریع و دقیق برای شناسایی تکثیر ژن HER2 بوده و به همین دلیل می‌تواند یک جایگزین قابل اطمینان باشد (۱۴).

MLPA می‌تواند محدوده وسیعی از تغییرات ژنومیک اعم از انواع جهش‌های نقطه‌ای منفرد تا حذف و اضافه‌های بزرگ کروموزومی را تشخیص دهد (۱۵). تکثیر ژنی نقش مهمی در بسیاری از انواع تومورها به عهده دارد. این فرایند منجر به افزایش بالای بیان mRNA و پروتئین می‌شود. اگر تکثیر ژن‌ها قبل از تغییر شکل به فرم بدخیم رخ دهد می‌توان از پروب‌های مولکولی برای تشخیص محصولات ژن‌های تکثیر شده استفاده و برای درمان سریع بکار برد. ژن HER2 در بافت‌های مختلف به صورت ایزو فرم‌های گوناگون بیان می‌شود. بدین صورت که هر کدام از این محصولات پروتئینی می‌توانند به عنوان نشانگر بافت خاصی عمل کنند. از لحاظ ژنتیکی زمانی که این ژن دارای جهش‌هایی از نوع مضاعف شدگی در نواحی اگزونی شود، باعث افزایش بیان ژنی، پیشگیری از مرگ سلولی و در نتیجه پیدایش سرطان می‌شود. پس می‌توان به جراحان توصیه کرد که یکی از روش‌های کاربردی برای یافتن این جهش‌ها قبل از اینکه به فرم بدخیم درآیند، تعیین میزان تکثیر ژن با روش مولکولی MLPA می‌باشد. تکثیر ژن ERbb2 (HER2) و بیش بیانی آن در سرطان‌های سینه، معده، مری و سرطان‌های اندومتریال دیده شده و با وخامت بیماری در ارتباط است (۱۶). برخی از مطالعات اخیر درمان کمکی با آنتی‌بادی منو کلونال ضد HER2 را برای درمان سرطان پستان پیشنهاد نموده‌اند. بیماران با تومورهای سینه متاستاتیک با HER2 مثبت (تکثیر و بیش بیانی) اولیه، زمانی که با تراستوزوماب[3] (یک آنتی‌بادی منو کلونال ضد HER2) درمان شدند، افزایش میزان بقا را نشان داده‌اند. کارآمدی تراستوزوماب در بیمارانی با سرطان سینه، تحقیقات را به سمت فعالیت ضد توموری آن در بیماران با سایر سرطان‌های HER2 مثبت پیش برده است (۱۷). در سال‌های اخیر تراستوزومب (هرسپتین) در سرطان‌های عود کننده همراه با افزایش بیان ژن HER2/neu، مورد استفاده قرار گرفته است. اگر چه بعضی از بیماران دارای سرطان پستان که دارای ژن HER2/neu بوده‌اند به خوبی به درمان با هرسپتین جواب نداده‌اند (۱۸).

با آن‌که پژوهش در زمینه سرطان معده از طریق بررسی ژنتیکی کل ژن‌های دخیل در ایجاد و مبارزه با سرطان کاملا ضرورت دارد اما مطالعه به روش بررسی مولکولی مبنی بر تکثیر ژن HER2 در سرطان معده با این تکنیک کمتر انجام شده است. با توجه به اهمیت این موضوع، هدف مطالعه حاضر تعیین میزان فراوانی موتاسیون‌های از نوع مضاعف شدگی ژن HER2/neu با استفاده از تکنیک MLPA در بیماران مبتلا به سرطان معده در استان کرمان است.

روش‌ها

این مطالعه یک بررسی توصیفی تعداد ۶۰ بیمار مبتلا به سرطان معده که بین سال‌های ۱۳۷۶ تا ۱۳۹۱ در مرکز بهداشتی-

[1] immunohistochemistry
[2] Multiplex ligation-dependent probe amplification
[3]. Trastuzumab

[Downloaded from jms.thums.ac.ir on 2025-11-07]

درمانی افضلی پور کرمان اندوسکوپی یا جراحی شده بودند، از نظر جهش‌های حذف و اضافه در ژن HER2/neu مورد مطالعه قرار گرفتند.

ابتدا خصوصیات دموگرافیک (جنس و سن بیمار، محل تومور) و اطلاعات پاتولوژی از پرونده‌های بیماران و فایل‌های پاتولوژی موجود در بیمارستان فوق‌الذکر استخراج گردید. سپس بلوک محتوی جزء تومورال را از روی لام‌های مربوطه شناسایی و توسط پاتولوژیست از آن بلوک برش تهیه گردید. جهت تعیین کردن حجم بافت مبتلا به سرطان در یک بلوک پارافینه مورد آزمایش ژنتیک مولکولی، نیاز به لوکالیزاسیون آن توسط یک پاتولوژیست بود. در غیر این صورت احتمال آلودگی بافت مورد نظر با بافت‌های غیر تومورال اطراف تومور وجود داشت. بدین منظور مقداری از بافت موجود در بلوک پارافینه که محتوی تومور بود را به ابعاد ۰/۳×۰/۳×۰/۳ سانتیمتر جهت تعیین موتاسیون ژن HER2/neu در اختیار آزمایشگاه ژنتیک مولکولی قرار داده شد. جهت تعیین موتاسیون‌ها از نوع مضاعف شدگی در ژن HER2/neu از تکنیک MLPA استفاده گردید. لذا بعد از دناتوره کردن DNAی نمونه در ۹۵ درجه سانتی‌گراد عمل هیبریداسیون با استفاده از پروب‌های فلورسنت انجام گرفت و در نهایت جهت تکثیر قطعات DNAی هدف، نمونه‌ها در ترموسایکلر قرار داده شدند.

بعد از خاتمه تکثیر پروب‌ها، نمونه‌های تکثیر یافته توسط دستگاه (DNA Sequencer ABI 3130) الکتروفورز گردیده و در پایان داده‌های خام با استفاده از نرم افزار Marker Gene آنالیز شدند. در صورت وجود مضاعف شدگی در ناحیه‌ای از ژن مورد بررسی در هر یک از نمونه‌ها مقدار محصول تکثیر یافته در آن ناحیه با توجه به اینکه مقدار فلورسانس ساطع شده از هر نمونه در دستگاه Sequencer و متناسب با مقدار محصول بود، بطور کلی چنانچه میزان فلورسانس نمونه‌ای در یک ناحیه مشخص نسبت به میزان مرجع در همان ناحیه بیشتر بود، نشان دهنده جهش افزایشی در آن ناحیه بود.

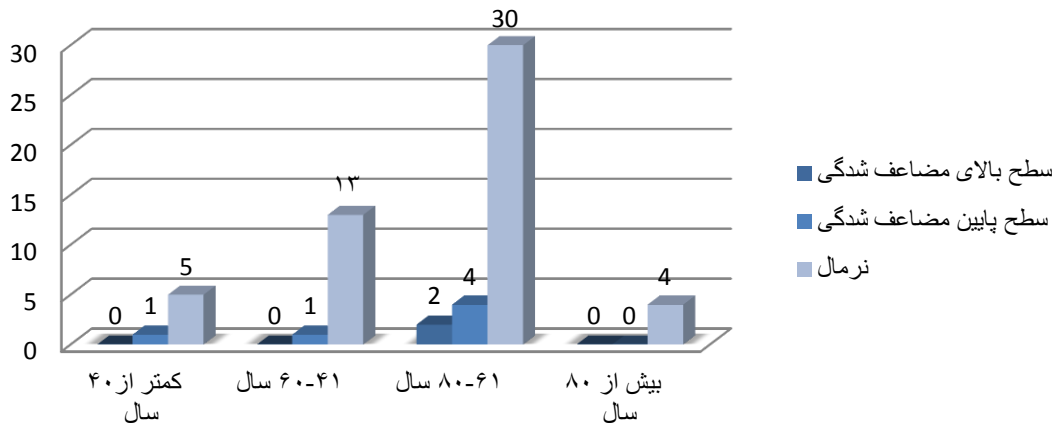
نتایج

در این مطالعه ۷۳/۳ درصد از نمونه‌ها متعلق به مردان و ۲۶/۷ درصد زنان بودند. میانگین سنی نمونه‌های مورد بررسی ۶۲/۷۱ سال بود. همچنین فراوانی مضاعف شدگی ژن HER2 در بیماران در سطح پایین ۱۰ درصد و در سطح بالا ۳/۳ درصد بود (جدول ۱). در این مطالعه میزان فراوانی مضاعف شدگی ژن HER2/neu در بیماران مبتلا به سرطان معده برای سن کمتر از ۴۰ سال: در سطح پایین ۱۶/۷ درصد و در سطح بالا صفر، در سن ۶۰ – ۴۱: در سطح پایین ۱۶/۷ درصد و در سطح بالا صفر، سن ۸۰–۶۱: در سطح پایین ۶۶/۷ درصد و در سطح بالا ۱۰۰ درصد و در سن بالای ۸۰ سال در هر دو سطح صفر بود (نمودار ۱). فراوانی مضاعف شدگی اگزوژن ۷ ژن HER2/neu در بیماران مبتلا به سرطان معده برای سن کمتر از ۴۰ سال در سطح پایین و بالا صفر، در سن ۶۰ – ۴۱ برای سطح پایین ۱۶/۷ درصد و در سطح بالا صفر، سن ۸۰–۶۱ در سطح پایین ۶۶/۷ درصد و در سطح بالا ۱۰۰ درصد و در سن بالای ۸۰ سال در سطح پایین ۱۶/۷ درصد و در سطح بالا صفر بود.

جدول ۱: فراوانی مضاعف شدگی ژن HER2 و انواع اگزوژن‌ها

	سطوح مضاعف شدگی		
	نرمال تعداد (درصد)	سطح پایین مضاعف شدگی تعداد (درصد)	سطح بالای مضاعف شدگی تعداد (درصد)
ژن HER2	۵۲ (۸۶/۷)	۶ (۱۰)	۲(۳/۳)
اگزوژن ۷	۵۲ (۸۶/۷)	۶ (۱۰)	۲(۳/۳)
اگزوژن ۲۲	۵۲ (۸۶/۷)	۴ (۶/۷)	۴ (۶/۷)
اگزوژن ۲۸	۵۲ (۸۶/۷)	۶ (۱۰)	۲(۳/۳)
اگزوژن ۲۹	۵۴ (۹۰/۰)	۴ (۶/۷)	۲(۳/۳)

[Downloaded from jms.thums.ac.ir on 2025-11-07]

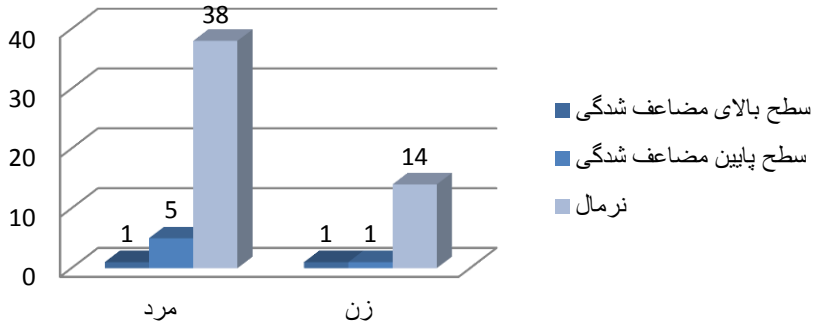


نمودار۱: فراوانی مضاعف شدگی ژن HER2/neu در بیماران مبتلا به سرطان معده برحسب سن

بر اساس یافته‌ها، فراوانی مضاعف شدگی اگزوژن ۲۲ ژن HER2/neu در بیماران مبتلا به سرطان معده برای سن کمتر از ۴۰ سال: در سطح پایین ۲۵ درصد و در سطح بالا صفر، در سن ۶۰ – ۴۱: برای سطح پایین صفر و در سطح بالا ۲۵ درصد، سن ۸۰–۶۱ در سطح پایین و بالا ۲۵ درصد و در سن بالای ۸۰ سال در سطح پایین و در سطح بالا صفر بود.

فراوانی مضاعف شدگی اگزوژن ۲۸ ژن HER2/neu در بیماران مبتلا به سرطان معده برای سن کمتر از ۴۰ سال در سطح پایین ۱۶/۷درصد و در سطح بالا صفر، در سن ۶۰ – ۴۱: برای سطح پایین ۱۶/۷ درصد و در سطح بالا صفر، سن ۸۰–۶۱: در سطح پایین ۶۶/۷ درصد و در سطح بالا ۱۰۰ درصد و در سن بالای ۸۰ سال در سطح پایین و در سطح بالا صفر بود.

فراوانی مضاعف شدگی اگزوژن ۲۹ ژن HER2/neu در بیماران مبتلا به سرطان معده برای سن کمتر از ۴۰ سال: در سطح پایین ۲۵ درصد و در سطح بالا صفر، در سن ۶۰ – ۴۱: برای سطح پایین ۲۵ درصد و در سطح بالا صفر، سن ۸۰–۶۱: در سطح پایین ۵۰ درصد و در سطح بالا ۱۰۰درصد و در سن بالای ۸۰ سال در سطح پایین و در سطح بالا صفر بود. به‌علاوه فراوانی مضاعف شدگی ژن HER2/neu در بیماران مبتلا به سرطان معده بر حسب جنس در مردها: در سطح پایین ۵ نفر و در سطح بالا ۱ نفر و در خانم‌ها در سطح پایین و بالا ۱ نفر بود (نمودار ۲).



نمودار ۲: فراوانی مضاعف شدگی ژن HER2/neu در بیماران مبتلا به سرطان معده بر حسب جنسیت

بحث

در این مطالعه ۶۰ نمونه از مبتلایان به سرطان معده که و تحت عمل جراحی و بیوپسی قرار گرفته بودند، به صورت سرشماری از بیمارستان افضلی پور انتخاب شدند. از بین نمونه‌ها ۴۴ مورد متعلق به مردان مرد و ۱۶ مورد متعلق به زنان بوده است. با توجه به شیوع جنسی ۲ به ۱ برای مردان می‌توان قسمتی از این اختلاف بدست آمده را به تنوع عوامل محیطی موثر در بروز این سرطان در مناطق مختلف جهان دانست و این که مردان در معرض خطر می‌باشند با عوامل محیطی یا سایر فاکتورهای زمینه‌ای ناشناخته می‌باشند. بعلاوه، به نظر می‌رسد که عدم پیگیری برای بررسی‌های اپیدمیولوژیک، تا حدی این اختلاف را قابل توجیه می‌نماید (۱۳). در مطالعه مشابه دیگری که در

[Downloaded from jms.thums.ac.ir on 2025-11-07]

استان خراسان انجام گرفته است حدود ۵۵/۳ درصد از مردان مبتلا به سرطان معده بودند که با نتایج مطالعه حاضر هم‌خوانی دارد. بر اساس منابع مرجع سرطان معده در مردان شیوع بیشتری داشته این نسبت (مرد به زن) ۵-۳/۵ به ۱ گزارش شده است که با نتایج حاصل از این مطالعه تا حدودی سازگاری دارد (۱۹). همچنین در بررسی‌های انجام شده مشخص گردیده است که حدود ۱۰ درصد از بیماران ژن HER/nue2 را در سطح پایین و ۳/۳ درصد در سطح بالا مضاعف نموده‌اند. در بین مطالعاتی که محققان ایرانی جهت بررسی میزان فراوانی این پروتئو انکوژن انجام داده‌اند، مطالعه‌ی قادری و همکارانش نشان داده است که ۱۶/۴ درصد افراد مبتلا به سرطان مری در تهران نیز دارای پروتئو انکوژن HER2/neu بوده‌اند (۱۶). در مطالعه‌ای که توسط یازی و همکارانش در سال ۱۳۸۹ در بیمارستان فیروزگر تهران بر روی ۱۱۵ بیمار بستری مبتلا به سرطان مری و معده از نظر فراوانی پروتئو انکوژن HER2/neu انجام گرفت، مشخص شده است که فراوانی پروتئو انکوژن HER2/neu در ۱۱/۳ درصد بیماران مثبت بوده است ولی بین فاز تومور و محل آن هیچ ارتباط معناداری مشاهده نگردیده است (۱۷). به‌طور کلی سطوح مختلف مضاعف شدگی در بیماران مورد مطالعه بر حسب سن و جنس بیماران، تفاوت معنادار خاصی را نداد.

نتیجه گیری

به طور کلی در این مطالعه شواهدی از مضاعف شدگی ژن HER2/neu و سایر اگزوژن‌های آن در بیماران مبتلا به سرطان معده مشاهده نشد. پیشنهاد می‌شود مطالعات وسیع‌تری با بازه زمانی بیشتری از لحاظ تعیین شیوع، بروز و فراوانی سرطان معده و با حجم نمونه بیشتر انجام شود.

References

1. Engel LS, Chow WH, Vaughan TL, Gammon MD, Risch HA, StanfordJL etal. Population attributable risks of Esophageal and Gastric cancers. J Natl Cancer Inst 2003 Feb; 95(18):1404-1413.
2. Macdonald JS, Smalley SR, Benedetti J, Hundahl SA, Estes NC, Stemmermann GN, et al. Chemoradiotherapy after surgery compared with surgery alone for adenocarcinoma of the stomach or gastroesophageal junction. N Engl J Med 2001 May; 345(10): 725-30.
3. Zilberstein B, Jacob CE, Cecconello I. Gastric cancer trends in epidemiology. Arq Gastroenterol 2012 Sep;49(3):177-8.
4. Kunz PL, Gubens M, Fisher GA, Ford JM, Lichtensztajn DY, Clarke CA. Long-term survivors of gastric cancer: a california population-based study. J Clin Oncol 2012 Oct; 30(28): 3507-15.
5. Fujita H, Kakegawa T, Yamana H, Shima I, Toh Y, Tomita Y, et al. Mortality and morbidity rates, postoperative course, quality of life, and prognosis after extended radical lymphadenectomy for esophageal cancer. Comparison of three-field lymphadenectomy with two-field lymphadenectomy. Ann Surg 1995Jun; 222(5):654-662.
6. Tachibana M, Kinugasa S, Yoshimura H, Shibakita M, Tonomoto Y, Dhar DK. Clinical outcomes of Extended esophagectomy with three-field lymph node dissection for esophageal squamous cell carcinoma. Am J Surg 2005 Apr; 189(1): 98-109.
7. Lemmon MA, Schlessinger J. Regulation of signal transduction and signal diversity by receptor oligomerization. Trends Biochem Sci 1994 Jun; 19:459–63.
8. Moelans C, de Weger A, Ezendam C, van Diest P, HER-2/neu amplification testing in breast cancer by Multiplex Ligation dependent Probe Amplification: influence of manual- and laser Microdissection, BMC Cancer 2009, 9:4 doi: 10.1186/1471-2407-9-4.
9. Stuppia L, Antonucci I, Palka G, Gatta V, Use of the MLPA assay in the molecular diagnosis of gene copy number alterations in human genetic diseases, Int. J. Mol. Sci. 2012 May; 13(2): 3245-3276.
10. Shitara K, Yatabe Y, Matsuo K, Sugano M, Kondo C, Takahari D, et al. Prognosis of patients with advanced gastric cancer by HER2 status and trastuzumab treatment. Gastric Cancer 2012 Sep; 14:360-363
11. Andolfo I, Petrosino G, Vecchione L, Detection of erbB2 copy number variations in plasma of patients with esophageal carcinoma, BMC Cancer 2011 Oct, 11:126
12. Gutierrez M, Schiff R, HER 2: Biology, Detection, and Clinical Implications, Arch Pathol Lab Med. 2011 Jan; 135(1): 55–62.

[Downloaded from jms.thums.ac.ir on 2025-11-07]

13. Moelans C, de Weger A, Ezendam C, van Diest P, HER-2/neu amplification testing in breast cancer by Multiplex Ligation dependent Probe Amplification: influence of manual- and laser Microdissection, BMC Cancer 2009Jun, 9:4.
14. Baselga J, Norton L, Albanell J, Kim YM, Mendelson J. Recombinant humanized anti-HER2 antibody (Herceptin enhances the antitumor activity of paclitaxel and doxorubicin against HER2/neu overexpressing human breast cancer xenografts. Cancer Res 1998 Apr; 5(8): 2825–31.
15. Hanawa M, Suzuki S, Dobashi Y, Yamane T, Kono K, Enomoto N,et al. EGFR Protein overexpression and gene amplification in Squamous Cell Careinomas of the esophagus. Int J Cancer 2006 Des; 118(5): 1173-80 .
16. Tai W, Mahato R, Cheng K, The role of HER2 in cancer therapy and targeted drug delivery, J Control Release. 2010 Sep; 146(3): 264–275.
17. Moelans C, van Diest P, N. A.Milne A, Johan A. Offerhaus A, HER-2/neu testing and therapy in gastroesophageal adenocarcinoma, Pathology Research International, 2011 May;3:10.
18. Zumi Y, Xu L, Di Tomaso E, Fukumura D, Jain RK. Tumour biology. herceptin acts as an anti-angiogenic cocktail. Nature. 2002 Agu; 416(6878): 279-80.
19. Yamada T, Alpers DH, Owyang C. Gastroenterology. First edition. Lipincott Co. Philadelphia. 1998 Des;12: 239-243.

[Downloaded from jms.thums.ac.ir on 2025-11-07]

Evaluation of HER2/neu gene amplification frequency in patients with gastric cancer using MLPA method

Mohammad Reza Lashkarizadeh[1], Mohammad Reza Bazrafshani[2], Ali Izadi[3]*, Fatemesadat Hosseini[4]

[1]Associate Professor of surgery, Afzalipour of Medical School, Kerman university of Medical Sciences, Kerman, Iran
[2] Assistant Professor of surgery, Afzalipour of Medical School, Kerman university of Medical Sciences, Kerman, Iran
[3]Student of General Surgery, Afzalipour of Medical School, Kerman university of Medical Sciences, Kerman, Iran
[4]MSc Student of Medical Genetic, Afzalipour of Medical School, Kerman university of Medical Sciences, Kerman, Iran

***Corresponding address: Kerman, Kerman university of Medical Sciences, Afzalipour of Medical School**
E.mail: dr.ali.izadi4134@gmail.com

Abstract

Background and aims: *Gastric malignancies have the fourth place among the most prevalent cancers. In many cancers, overexpressing of HER2/neu gene has been observed with a poor prediction. Up to now, there is a little information about the duplication of HER2/neu gene in gastric cancer using MLPA method. The present study aimed to investigate the frequency of mutations resulting from amplification of HER2/neu gene using MLPA technique in the patients with gastric cancer.*

Methods: *This is a descriptive study which carried out on 60 samples of tissue block obtained from gastric cancer patients with endoscopic and surgical history between 1376-1391 years in Afzalipoor health centers to investigate the deletion and insertion mutations in HER2/neu.*

Results: *The study population consisted of* 73.3% females and 26.7% males with the mean age of 62.71. *Overall, the frequency of the amplification of HER2/neu gene in the low and high levels was 10% and 3.3%, respectively.*

Conclusion: *It seems that, the amplification frequency of HER2/neu gene in men is more than women. However, it is recommended to conduct further studies.*

Key words: *amplification, gene, HER2/neu, gastric cancer, MLPA method*

[Downloaded from jms.thums.ac.ir on 2025-11-07]