

## بررسی وجود چندشکلی ژن جایگاه تیروزین کینازی گیرنده فاکتور رشد اپیدرمال در سرطان معده در شمال ایران

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۰/۰۷/۰۳ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۰/۰۸/۰۷

### چکیده

**زمینه و هدف:** سرطان معده از شایع‌ترین سرطان‌های دستگاه گوارش با بقای پنج ساله پایین می‌باشد که عوامل متعددی از قبیل تغییر مسیرهای مولکولی، بد تنظیمی‌های سلولی در پیشرفت بیماری دخیل می‌باشند و متاستاز به عنوان مهم‌ترین عامل مرگ محسوب می‌شود. لذا هدف از این مطالعه بررسی چندشکلی جایگاه تیروزین کینازی رسپتور فاکتور رشد اپیدرمال در سرطان معده می‌باشد. **روش بررسی:** در این مطالعه تجربی، ۸۳ فرد مبتلا به سرطان معده و ۴۰ فرد سالم از نظر وجود چندشکلی در ژن جایگاه تیروزین کینازی رسپتور فاکتور رشد اپیدرمال مورد ارزیابی قرار گرفتند. DNA ژنومی با استفاده از کیت استخراج DNA از سلول‌های سفید خون محیطی افراد بیمار و شاهد استخراج شده و با استفاده از روش PCR-SSCP به بررسی چندشکلی جایگاه تیروزین کینازی رسپتور فاکتور رشد اپیدرمال در دو گروه پرداخته شد. **یافته‌ها:** در این مطالعه ۱۲۳ (۷۹ مرد و ۴۴ زن) نفر بررسی شدند که همگی از ناحیه جغرافیایی و نژاد یکسان انتخاب شدند. نتایج این مطالعه وجود چندشکلی را در آگزون ۱۸ ژن جایگاه تیروزین کینازی رسپتور فاکتور رشد اپیدرمال نشان داد. چندشکلی‌های مشاهده شده در این آگزون، شامل ۱۰٪ کل جمعیت مورد مطالعه بوده است که در اشکال آلی متفاوت بوده‌اند. در این مطالعه آگزون ۱۹ این ژن تنها یک شکل آلی را نشان داد. **نتیجه‌گیری:** به نظر می‌رسد که غربالگری چندشکلی این ژن در بین بیماران مبتلا سرطان معده و استفاده از آنتاگونیست‌های این گیرنده می‌تواند در پیشگیری از متاستاز و پیشبرد فرآیند درمانی و هم‌چنین افزایش طول عمر این بیماران مفید باشد.

**کلمات کلیدی:** رسپتور فاکتور رشد اپیدرمال، سرطان معده، چند شکلی ژنی، PCR-SSCP.

فرشته جیواد،<sup>۱</sup> سعید عابدیان کناری،<sup>۲\*</sup> محمد شکرزاده،<sup>۱</sup> مریم قاسمی،<sup>۳</sup> ترنگ تقوایی،<sup>۴</sup> زربخت انصاری،<sup>۵</sup> مجتبی نجفی،<sup>۵</sup> هادی حسن نیا،<sup>۲</sup> مینو سیاری مازندرانی،<sup>۶</sup> الهام بیرانوند<sup>۲</sup>

۱- گروه سم‌شناسی و فارماکولوژی ۲- گروه ایمنی‌شناسی و میکروبی‌شناسی دانشگاه علوم پزشکی مازندران، مازندران، ایران.

۳- گروه پاتولوژی، بیمارستان بوعلی سینا ساری، ساری، ایران. ۴- گروه گوارش، بیمارستان امام خمینی (ره) ساری، ساری، ایران.

۵- گروه ژنتیک و اصلاح دام، دانشکده کشاورزی ساری، ساری، ایران. ۶- گروه هماتولوژی، مرکز پزشکی قانونی استان مازندران، ساری، ساری، ایران.

\* نویسنده مسئول: مازندران، خیابان خزر، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، گروه ایمنولوژی

تلفن: ۰۱۵۱-۳۳۴۷۸۰۵

E-mail: abedianlab@yahoo.co.uk

### مقدمه

Growth Factor Receptor (EGFR) یک پروتئین بین‌غشایی با فعالیت تیروزین‌کینازی است که در عملکردهای مختلف از قبیل رشد و تکثیر و تمایز سلولی نقش دارد.<sup>۵</sup> مطالعات زیادی چندشکلی ژن EGFR را با مراحل پیشرفته در سرطان‌های مختلف مرتبط دانستند،<sup>۶</sup> که وجود جهش در ژن EGFR سبب فعال شدن گیرنده در سطح سلول می‌شود.<sup>۸</sup> به‌علاوه این گیرنده با مهار مسیرهای آپوپتوز باعث بقا سلول می‌شود.<sup>۹</sup> هم‌چنین جهش‌های موجود در این ژن با میزان پاسخ‌دهی به آنتاگونیست‌های این گیرنده (Gefitinib, Erlotinib) در بیماران مبتلا به Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC) مرتبط است.<sup>۱۱،۱۲</sup> گزارشات نشان دادند که فرم‌های آلی ژن در سرطان ریه

سرطان معده (Gastric cancer) دومین عامل مرگ ناشی از سرطان‌ها در سراسر جهان با بقای پنج ساله پایین می‌باشد.<sup>۱</sup> این بیماری اغلب در مرحله پیشرفته بیماری تشخیص داده می‌شود<sup>۲</sup> و متاستاز به عنوان مهم‌ترین عامل مرگ محسوب می‌شود.<sup>۳</sup> عوامل متعددی از قبیل فاکتورهای محیطی و مسیرهای مولکولی در پیشرفت بیماری دخیل می‌باشند لذا در سال‌های اخیر تلاش‌ها در جهت توسعه روش‌های درمانی مولکولی و بیان نقش این عوامل در پیشرفت سرطان تمرکز یافته است.<sup>۴</sup> رسپتور فاکتور رشد اپیدرمال Epidermal

۹۵ °C جهت واسرشته‌سازی اولیه DNA به مدت سه دقیقه، واسرشته‌سازی ثانویه در دمای ۹۵ °C به مدت ۴۰ ثانیه، دمای ۶۲/۵ °C برای اتصال آغازگرها به مدت ۴۵ ثانیه، دمای ۷۲ °C جهت بسط آغازگرها به مدت ۴۰ ثانیه به تعداد ۳۵ چرخه و بسط نهایی به مدت ۱۰ دقیقه در ۷۲ °C انجام شد. برای آزمون صحت قطعه به دست آمده و هم‌چنین تعیین کیفیت محصول PCR از ژل آگارز ۱ درصد و رنگ‌آمیزی اتیدیوم بروماید به همراه نشان‌گر وزنی M100 (Fermentase, Italy) استفاده شد (شکل ۱).

بررسی چندشکلی: جهت تعیین چندشکلی موجود در اگزون‌های ۱۸ و ۱۹ ژن EGFR از روش Single Strand Conformation Polymorphism (PCR-SSCP) که PCR اختصاصی جهت تعیین جهش است استفاده شد به طوری که واکنش PCR به صورت جداگانه و به شرح فوق برای هر اگزون انجام شد و سپس محصول PCR هر اگزون و بافر بارگذاری (Formamide loading dye) به نسبت ۱:۱ با هم مخلوط شده و در دمای ۹۵ °C به مدت پنج دقیقه دناتوره شده و بلافاصله بر روی یخ قرار داده شد، الکتروفورز بر روی ژل اکریل آمید ۱۰٪ به مدت ۱۶ ساعت با ولتاژ ۲۰۰ در دمای اتاق انجام شده است در نهایت از رنگ‌آمیزی نیترات نقره جهت آشکارسازی باندها استفاده شده است. در این پژوهش با مشاهده و شمارش مستقیم الگوهای باندها، فراوانی آلی و ژنوتیپی تعیین شد. مقایسه فراوانی آلی و ژنوتیپی جایگاه مورد مطالعه بین دو گروه شاهد و مورد به ترتیب از روش دقیق Fisher exact test و روش آزمون  $\chi^2$  و با استفاده از برنامه آنالیز آماری SPSS ویراست ۱۶ انجام گرفت.

## یافته‌ها

در مطالعه حاضر ۱۲۳ فرد در دو گروه سالم و بیمار شامل ۷۹ مرد و ۴۴ زن مورد ارزیابی قرار گرفتند. گروه کنترل شامل ۴۰ فرد سالم و گروه بیماران شامل ۸۳ فرد مبتلا به سرطان معده بوده‌اند که بررسی چندشکلی ژن رسپتور فاکتور رشد با روش PCR-SSCP در دو اگزون ۱۸ و ۱۹ از این ژن که کد کننده دامین‌های تیروزین‌کینازی می‌باشند انجام شد جدول ۲ نشان‌دهنده برخی از متغیرهای مورد پژوهش در دو گروه کنترل و بیمار می‌باشد. بررسی PCR-SSCP اگزون ۱۸ ژن EGFR، سه نوع چند شکلی را در این اگزون نشان داد

نقش دارد.<sup>۱۳</sup> ولی در سرطان معده هنوز مورد بحث است.<sup>۱۳</sup> در مطالعه‌ای که روی ۷۷ بیمار مبتلا به سرطان معده انجام شد جهش‌های موجود در ژن EGFR با اندازه تومور مرتبط بود<sup>۷</sup> ولی وجود این جهش‌ها را در سرطان معده نادر می‌دانند.<sup>۹،۱۴</sup> هم‌چنین چندشکلی ژن این رسپتور وابسته به نژاد بوده و در جمعیت‌های مختلف متفاوت می‌باشد به طوری که میزان چندشکلی در جمعیت آمریکایی ۲٪ و در جمعیت ژاپنی ۲۶٪ می‌باشد.<sup>۹،۱۴</sup> لذا به منظور پی‌بردن به مکانیسم‌های مولکولی مرتبط با بیماری برای اولین بار در کشور پژوهش حاضر طراحی شده است تا چندشکلی ژن EGFR را در جمعیت شمال ایران (مازندران) در بین بیماران مبتلا به سرطان معده در مقایسه با گروه شاهد بررسی نماییم.

## روش بررسی

انتخاب گروه کنترل و بیمار: این مطالعه تجربی شامل ۸۳ بیمار مبتلا به سرطان معده، مراجعه‌کننده به بخش اندوسکوپی بیمارستان امام خمینی (ره) و کلینیک طبوبی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، از مهر ۱۳۸۹ تا مرداد ۱۳۹۰ می‌باشد هم‌چنین ۴۰ نمونه کنترل سالم که توسط پزشک متخصص تایید شده و هیچ سابقه خانوادگی و علائم بیماری نداشته نیز از این مراکز تهیه شده است برای جلوگیری از تاثیر فاکتورهای محیطی همه افراد از یک منطقه جغرافیایی (شمال ایران) انتخاب شدند.

استخراج DNA: از هر نفر ۵ml خون محیطی پس از کسب رضایت آگاهانه اخذ و سپس DNA ژنومی با استفاده از کیت استخراج DNA (سیناژن، ایران) طبق دستورالعمل شرکت از لکوسیت‌های خون محیطی استخراج شد.

واکنش زنجیره‌ای پلیمرز اختصاصی: در این مطالعه بخشی از اگزون ۱۸ و ۱۹ از جایگاه ژنی EGFR انتخاب و با یک جفت آغازگر اختصاصی قطعه‌ای به طول ۲۸۳ و ۲۴۱ جفت باز تکثیر شد. توالی آغازگر و توالی برگشت در جدول ۱ نشان داده شد. واکنش زنجیره‌ای پلی‌مرز در حجم ۲۵µl شامل ۲/۵µl بافر PCR 10x، dNTPs ۱/۵µl، DNA polymerase Taq (Fermentase, Italy) ۱۰۰ng، DNA ژنومی و ۲µl Mgcl2 که در نهایت با آب مقطر استریل به حجم ۲۵µl رسید، انجام گرفت. سپس چرخه‌های PCR با برنامه حرارتی شامل:

چندشکلی این ژن را نشان نمی‌دهد.<sup>۹،۲۰</sup> بیش‌ترین چندشکلی مشاهده شده در مطالعات قبلی توسط Marchetti، در بررسی خود روی ۸۶۰ بیمار مبتلا به NSCLC، سه فرد با جهش در اگزون ۱۸ مشاهده کرد<sup>۱۱</sup> در صورتی که در مطالعه حاضر در بین ۱۲۳ فرد در دو گروه شاهد و بیمار تعداد ۱۲ فرد با اشکال آلی متفاوت مشاهده شدند. مطالعاتی که روی اگزون ۱۹ ژن EGFR انجام شد نتایج متفاوتی داشتند. مطالعه Moutinho،<sup>۱۳</sup> Mammano و Lee جهشی را در ناحیه اگزون ۱۹ از ژن EGFR به ترتیب در بیماران آدنوکارسینوم معده و NSCLC در سه مطالعه متفاوت نشان ندادند.<sup>۹،۲۰</sup> در پژوهش حاضر الگوی SSCP اگزون ۱۹ در ۱۲۳ نمونه کنترل و بیمار یکسان بوده و چندشکلی مشاهده نشد که هم‌راستا با نتایج مطالعات فوق می‌باشد. ۱۵ مورد جهش حذفی از اگزون ۱۹ ژن EGFR در ۷۶ نفر از افراد مبتلا به NSCLC را گزارش کرد،<sup>۵</sup> هم‌چنین Marchetti که تعداد ۱۸ فرد با جهش (حذف) در اگزون ۱۹ ژن EGFR مشاهده کرد که با نتایج مطالعه حاضر مغایرت دارد.<sup>۱۳</sup>

حذف‌های مشاهده شده در اگزون ۱۹ بسیار تحت تاثیر نژاد و موقعیت جغرافیایی می‌باشد که می‌تواند دلیل عدم حضور چندشکلی ژن در جمعیت مورد مطالعه باشد. مطالعه‌های، چندشکلی ژن EGFR را بیش‌تر در زنان مشاهده کردند در حالی که در این مطالعه بیش‌تر در مردان مشاهده شد که با توجه به شیوع دو برابری سرطان معده در مردان<sup>۱۱</sup> قابل توجیه می‌باشد. مطالعات بیان می‌کنند که جهش‌های موجود در ژن‌های کدکننده جایگاه تیروزین کینازی ژن EGFR (اگزون‌های ۲۱-۱۸) در ۹/۸-۱/۶ درصد از افراد با سرطان ریه وجود دارد.<sup>۷،۹</sup> با این وجود معتقدند که این جهش‌ها در سرطان معده بسیار کم و یا نادر می‌باشند.<sup>۹،۲۲</sup>

اشکال آلی مشاهده شده در این مطالعه نشان‌دهنده این است که بیش‌ترین میزان شکل آلی مشاهده شده در اگزون ۱۸ ژن می‌باشد که ۱۰٪ جمعیت مورد مطالعه بوده و در مطالعات انجام شده توسط محققین دیگر مشاهده نشد و به نظر می‌رسد که وجود چندشکلی اگزون ۱۸ در این جمعیت با فراوانی بالایی در مقایسه با سایر جمعیت‌ها برخوردار است. سرطان معده شایع‌ترین سرطان دستگاه گوارش در شمال ایران می‌باشد که بار درمانی و اجتماعی زیادی در پی دارد. همان‌طور که ذکر شد وجود چندشکلی در ژن جایگاه تیروزین کینازی EGFR با پیشرفت سرطان و هم‌چنین با پاسخ‌دهی به

تعداد ۱۲ نفر از افراد در هر دو گروه سالم و بیمار دارای الگوی SSCP متفاوت بودند تعداد چندشکلی‌های مشاهده شده در این اگزون در گروه شاهد دو نوع بوده است در حالی که در گروه بیماران سه نوع الگوی SSCP متفاوت مشاهده شد. دو بیمار (۲/۴٪ از بیماران) دارای الگوی SSCP دوبانده بودند که این الگو در گروه کنترل مشاهده نشد. هم‌چنین هفت بیمار (۸/۴۳٪ از بیماران) دارای الگوی SSCP با چهار باند بودند که این الگو در سه فرد از گروه کنترل مشاهده شد مابقی افراد در دو گروه الگوی SSCP دارای سه باند را نشان دادند (شکل ۲). تعداد هفت نفر از افراد دارای الگوی SSCP متفاوت مرد و مابقی زن بودند. هیچ شکل آلی متفاوت در بررسی SSCP اگزون ۱۹ از این ژن مشاهده نشد.

## بحث

ژن EGFR دارای اگزون‌های متعددی است که اگزون‌های ۱۸-۲۱ حاوی رمزهای ژنتیکی جایگاه تیروزین کینازی رسپتور می‌باشند، چندشکلی این ژن هم از لحاظ پیشرفت فرآیند سرطان و متاستاز به بافت‌ها و هم از نظر پاسخ‌دهی به داروهای آنتاگونیست گیرنده در بیماران مبتلا به سرطان مهم می‌باشد.<sup>۱۶،۱۷</sup> بسیاری از محققین، چندشکلی این ژن را به یک عنوان شاخص تشخیصی-درمانی و نقطه عطفی در جهت افزایش طول عمر بیماران سرطانی می‌دانند.<sup>۲-۴</sup> در همین راستا و با توجه به شیوع بالای سرطان معده در استان‌های شمالی کشور و بقای پنج ساله پایین این بیماری<sup>۱۸،۱۹</sup> این مطالعه به منظور بررسی وجود چندشکلی در ژن EGFR در جمعیت شمال ایران طراحی و انجام شده است. نتایج حاصل از این مطالعه وجود چندشکلی در اگزون ۱۸ از ژن EGFR را نشان می‌دهد، در حالی که مطالعه Moutinho که چندشکلی این ژن را در ۷۷ فرد با آدنوکارسینوم معده بررسی کرد، هیچ جهش و شکل آلی متفاوتی از اگزون ۱۸ این ژن را نشان نداد که با نتایج مطالعه حاضر مغایرت دارد.<sup>۱۳</sup> چرا که در مطالعه حاضر سه الگوی SSCP متفاوت از اگزون ۱۸ مشاهده شد و تعداد ۹ نفر از بیماران و سه نفر از گروه کنترل دارای سه نوع الگوی SSCP متفاوت بودند (شکل ۲) که خود نشان‌دهنده وجود جهش‌های متفاوت این ژن در جمعیت شمال ایران می‌باشد. هم‌چنین پژوهش‌های دیگر انجام شده روی این اگزون نیز،

فاکتور رشد اپیدرمال جهت افزایش طول عمر و بهبود کیفیت زندگی در بیماران سرطان معده کمک کننده باشد.

سپاسگزاری: این مقاله حاصل بخشی از پایان نامه دانشجویی در مقطع کارشناسی ارشد در سال ۸۹ و کد ۴۸ بوده است که با حمایت دانشگاه علوم پزشکی مازندران اجرا شده است. نویسندگان از تمامی افراد شرکت کننده در این بررسی و هم چنین از کارکنان بخش آزمایشگاه و اندوسکوپی کلینیک درمانی طوبی و کارکنان بخش اندوسکوپی بیمارستان امام خمینی (ره) نهایت قدردانی را دارند.

داروهای مهارکننده جایگاه تیروزین کینازی رسپتور مرتبط است. با توجه به این که در ۱۰٪ از جمعیت مورد مطالعه ما چندشکلی در آگزون ۱۸ دیده شده است نشان دهنده این امر است که بر خلاف سایر جمعیت ها، این آگزون دارای شکل های آلی متفاوت در جمعیت مورد مطالعه می باشد، لذا پیشنهاد می شود که غربالگری چندشکلی آگزون های کد کننده جایگاه تیروزین کینازی EGFR احتمالا می تواند در پیش آگهی بیماری، پیشگیری از پیشرفت بیماری و هم چنین استفاده از راه کارهای درمانی مناسب از قبیل آنتاگونیست های گیرنده

## References

- Dicken BJ, Bigam DL, Cass C, Mackey JR, Joy AA, Hamilton SM. Gastric adenocarcinoma: review and considerations for future directions. *Ann Surg* 2005;241(1):27-39.
- Liakakos T, Xeropotamos N, Ziogas D, Roukos D. EGFR as a Prognostic Marker for Gastric Cancer. *World J Surg* 2008;32(6):1225-6; author reply 1227-9.
- Dragovich T, Campen C. Anti-EGFR-Targeted Therapy for Esophageal and Gastric Cancers: An Evolving Concept. *J Oncol* 2009;2009:804108.
- Varadhachary G, Ajani JA. Gastric cancer. *Clin Adv Hematol Oncol* 2005;3(2):118-24.
- Mu XL, Li LY, Zhang XT, Wang MZ, Feng RE, Cui QC, Zhou HS, Guo BQ. Gefitinib-sensitive mutations of the epidermal growth factor receptor tyrosine kinase domain in chinese patients with non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res* 2005;11(12):4289-94.
- Liang Z, Zeng X, Gao J, Wu S, Wang P, Shi X, Zhang J, Liu T. Analysis of EGFR, HER2, and TOP2A gene status and chromosomal polysomy in gastric adenocarcinoma from Chinese patients. *BMC Cancer* 2008;8:363.
- Lee JW, Soung YH, Kim SY, Park WS, Nam SW, Kim SH, et al. ERBB2 kinase domain mutation in a gastric cancer metastasis. *APMIS* 2005;113(10):683-7.
- Yokoyama T, Kondo M, Goto Y, Fukui T, Yoshioka H, Yokoi K, et al. EGFR point mutation in non-small cell lung cancer is occasionally accompanied by a second mutation or amplification. *Cancer Sci* 2006;97(8):753-9.
- Mammano E, Belluco C, Sciro M, Mencarelli R, Agostini M, Michelotto M, et al. Epidermal growth factor receptor (EGFR): mutational and protein expression analysis in gastric cancer. *Anticancer Res* 2006;26(5A):3547-50.
- Marchetti A, Martella C, Felicioni L, Barassi F, Salvatore S, Chella A, et al. EGFR mutations in non-small-cell lung cancer: analysis of a large series and development of a rapid and sensitive method for diagnostic screening with potential implications on pharmacologic treatment. *J Clin Oncol* 2005;23(4):857-65.
- Lynch TJ, Bell DW, Sordella R, Gurubhagavatula S, Okimoto RA, Brannigan BW, et al. Activating mutations in the epidermal growth factor receptor underlying responsiveness of non-small-cell lung cancer to gefitinib. *N Engl J Med* 2004;350(21):2129-39.
- Pao W, Miller V, Zakowski M, Doherty J, Politi K, Sarkaria I, et al. EGF receptor gene mutations are common in lung cancers from "never smokers" and are associated with sensitivity of tumors to gefitinib and erlotinib. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004;101(36):13306-11.
- Moutinho C, Mateus AR, Milanezi F, Carneiro F, Seruca R, Suriano G. Epidermal growth factor receptor structural alterations in gastric cancer. *BMC Cancer* 2008;8:10.
- Paez JG, Jänne PA, Lee JC, Tracy S, Greulich H, Gabriel S, et al. EGFR mutations in lung cancer: correlation with clinical response to gefitinib therapy. *Science* 2004;304(5676):1497-500.
- Reis-Filho JS, Pinheiro C, Lambros MB, Milanezi F, Carvalho S, Savage K, et al. EGFR amplification and lack of activating mutations in metaplastic breast carcinomas. *J Pathol* 2006;209(4):445-53.
- Nishio K, Arai T, Kato T, Yokote H. EGFR mutation in various tissues. *Cancer Chem Pharmacol* 2006;58(1):39-41.
- Gonçalves A, Esteyries S, Taylor-Smedra B, Lagarde A, Ayadi M, Monges G, et al. A polymorphism of EGFR extracellular domain is associated with progression free-survival in metastatic colorectal cancer patients receiving cetuximab-based treatment. *BMC Cancer* 2008;8:169.
- Babaei M, Pourfarzi F, Yazdanbod A, Chiniforush MM, Derakhshan MH, Mousavi SM, et al. Gastric cancer in Ardabil, Iran: a review and update on cancer registry data. *Asian Pac J Cancer Prev* 2010;11(3):595-9.
- Malekzadeh R, Derakhshan MH, Malekzadeh Z. Gastric cancer in Iran: epidemiology and risk factors. *Arch Iran Med* 2009;12(6):576-83.
- Lee JW, Soung YH, Kim SY, Park WS, Nam SW, Lee JY, et al. Absence of EGFR mutation in the kinase domain in common human cancers besides non-small cell lung cancer. *Int J Cancer* 2005;113(3):510-1.
- Crew KD, Neugut AI. Epidemiology of gastric cancer. *World J Gastroenterol* 2006;12(3):354-62.
- Mimori K, Nagahara H, Sudo T, Ishii H, Yamashita K, Barnard GF, Mori M. The epidermal growth factor receptor gene sequence is highly conserved in primary gastric cancers. *J Surg Oncol* 2006;93(1):44-6.

## Tyrosine kinase domain gene polymorphism of epidermal growth factor receptor in gastric cancer in northern Iran

Received: September 25, 2011 Accepted: October 29, 2011

### Abstract

Fereshteh Jeivad M.Sc. student<sup>1</sup>  
Saeid Abediankenari Ph.D.<sup>2\*</sup>  
Mohammad Shokrzadeh Ph.D.<sup>1</sup>  
Maryam Ghasemi M.D.<sup>3</sup>  
Tarang Taghvaei M.D.<sup>4</sup>  
Zarbakht Ansari Ph.D.<sup>5</sup>  
Mojtaba Najafi Fard M.Sc.<sup>5</sup>  
Hadi Hassannia M.Sc.<sup>2</sup>  
Mino Sayiari Mazandarani M.Sc.<sup>6</sup>  
Elham Biranvand M.Sc. student<sup>2</sup>

1- Department of Toxicology and Pharmacology, Mazandaran University of Medical Sciences, Mazandaran, Iran.

2- Department of Immunology & Microbiology, Mazandaran University of Medical Sciences, Mazandaran, Iran.

3- Department of Pathology, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran.

4- Department of Internal, Imam Khomeini Hospital, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran.

5- Agriculture Faculty, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran.

6- Department of Hematology, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran.

\* Corresponding author: Department of Immunology, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Khazar St., Sari, Iran.  
Tel: +98- 151-3247805  
E-mail: abedianlab@yahoo.co.uk

**Background:** Gastric cancer is one of the most common diseases of digestive system with a low 5-year survival rate and metastasis is the main cause of death. Multi-factors, such as changes in molecular pathways and deregulation of cells are involved in the disease development. Epidermal growth factor receptor pathway (EGFR) which is associated with cell proliferation and survival can influence cancer development. EGFR function is governed by its genetic polymorphism; thus, we aimed to study the tyrosine kinase domain gene mutations of the receptor in patients with gastric cancer.

**Methods:** In this experimental study, 123 subjects (83 patients with gastric cancer and 40 normal subjects) were investigated in north of Iran for EGFR gene polymorphisms during 1 year. Genomic DNA was extracted by DNA extraction kit according to the manufacture's protocol. Polymerase chain reaction single-stranded conformation polymorphism (PCR-SSCP) and silver staining were performed for investigating EGFR gene polymorphisms.

**Results:** The participants included 72 men and 44 women. Gene polymorphism in exon 18 was present in 10% of the study population but SSCP pattern in exon 19 did not show different migrate bands neither in patients nor in normal subjects.

**Conclusion:** It seems that screening for tyrosine kinase gene polymorphism of epidermal growth factor receptor in patients with gastric cancer and use of tyrosine kinase inhibitors could be useful in the prevention of disease progress and improvement of treatment process for a better quality of life in these patients.

**Keywords:** Epidermal growth factor receptor genes, gastric cancer, genetic polymorphism, PCR, single-stranded conformational polymorphism, SSCP.