پژوهش درپزشکی (مجله پژوهشی دانشکده پزشکی)
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید بهشتی
دوره ۳۳، شماره ۲، تابستان ۱۳۸۸، صفحات ۸۸ تا ۹۴

مقاله اصلی
(Original Article)

بررسی نقش پلی مورفیسم‌های ژن O6- متیل گوانین متیل ترانسفراز در سرطان کولورکتال

فاطمه خاتمی*[1]، دکترسید رضا محبی[1]، دکتر سمیه غیاثی[1]، مهدی منتظر حقیقی[1]، معصومه سلطانی[1]، دکتر محمد رضا زالی[1]

[1] مرکز تحقیقات بیماری‌های گوارش و کبد، دانشکده علوم پزشکی دانشگاه شهید بهشتی

چکیده

سابقه و هدف: *با توجه به شیوع و روند رو به افزایش سرطان کولورکتال و اهمیت اتیولوژیک این سرطان و وجود گزارش‌هایی مبنی بر نقش احتمالی پلی‌مورفیسم‌های ژن‌های مختلف در بروز بیماری‌هایی از قبیل سرطان‌ها و علاوه بر این عدم وجود گزارشی در ایران مبنی بر ارتباط سرطان کولورکتال با پلی‌مورفیسم‌های 06- متیل گوانین متیل ترانسفراز (MGMT)، که پروتئین دخیل در ترمیم مولکول DNA و عامل محافظت سلول در مقابل عوامل آلکیله کننده است، این تحقیق صورت گرفت.*

روش بررسی: *در این مطالعه مورد- شاهدی بیماران مبتلا به سرطان کولورکتال با افراد غیر مبتلا مورد بررسی قرار گرفتند. اساس قبول یا رد تشخیص سرطان کولورکتال، گزارش پاتولوژی نمونه‌های بیوپسی شده در کولونوسکوپی بود. گروه شاهد از نظر سن، جنس و مراجعه هم‌زمان به مراکز درمانی با گروه مورد همسان شدند. از افراد هر دو گروه ۵ میلی‌لیتر خون محیطی گرفته شد که پس از استخراج DNA آنها با روش فنل- کلروفرمّ ناحیه مربوط به پنج پلی‌مورفیسم (۵۸ پرولین ← سرین، ۸۴ لوسین ← فنیل آلانین، ۱۲۸ آرژینین←گلوتامین،۱۴۳ ایزولوسین←والین و ۱۶۰ گلیسین ← آرژینین) از ژن MGMT با استفاده از تکنیک Pyrosequencing بررسی شد. تاثیر حالات سالم/سالم ،سالم/پلی مورف و پلی مورف/پلی مورف بر سرطان کولورکتال مورد قضاوت آماری قرار گرفت.*

یافته‌ها: *۴۲۱ نفر(۲۰۸ فرد مبتلا به سرطان کولورکتال و ۲۱۳ نمونه شاهد) بررسی شدند. پلی‌مورفیسم‌های ۵۸ پرولین ← سرین و ۱۴۳ ایزولوسین←والین با سرطان کولورکتال ارتباطی نداشتند، اما پلی‌مورفیسم‌های ۸۴ لوسین ← فنیل آلانین، ۱۲۸ آرژینین←گلوتامین و ۱۶۰ گلیسین ← آرژینین به طور مشخصی در افراد بیمار حالت پلی مورفیک داشتند (P<۰/۰۰۱).*

نتیجه‌گیری: *با توجه به ارتباط برخی پلی‌مورفیسم‌ها با سرطان کولورکتال، توصیه می شود دست کم افراد درجه یک مبتلایان از نظر این پلی‌مورفیسمرها تحت بررسی و غربالگری قرار گیرند تا اقدامات لازم جهت پیشگیری در زمان مناسب صورت گیرد.*

واژگان کلیدی: *سرطان کولورکتال، 06- متیل گوانین متیل ترانسفراز، Pyrosequencing، پلی‌مورفیسم.*

مقدمه

سرطان کولورکتال سومین سرطان شایع در کشورهای غربی و چهارمین سرطان شایع در کل جهان است و در کشورهای صنعتی بعد از سرطان ریه دومین عامل مرگ و میر ناشی از سرطان است. سالانه یک و نیم میلیون نفر در جهان دچار سرطان کولون و رکتوم می‌شوند و در آمریکا سالانه حدود ۶۰ هزار مرگ به دلیل سرطان کولورکتال اتفاق می‌افتد. بر اساس اطلاعات مرکز آمار ایران شیوع این سرطان رو به افزایش است و طبق آمار موجود در حال حاضر چهارمین سرطان شایع در بین مردان (۵ درصد) و زنان (۵/۵درصد) است

آدرس نویسنده مسئول: تهران، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، مرکز تحقیقات بیماری های گوارش و کبد (**e-mail:** khatam81@yahoo.com)

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۸۶/۱۰/۱۰
تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۸۷/۱۰/۱۷

http://www.iransalamat.com) و
.(http://www.iranhealers.com

پلی مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی (SNPs) باعث بروز تغییرات کوچکی در توالی DNA می‌شوند که می‌توانند استعداد ابتلا به سرطان را افزایش دهند. در ژنوم انسان بیش از ۱۳۰ میلیون پلی‌مورفیسم وجود دارد که تعدادی از آنها در ناحیه ژن‌های مسئول ترمیم مولکول DNA می‌باشند (۲،۱). یکی از مراحل ترمیم DNA برداشت متیل از اتم 06–گوانین ایجاد شده تحت تاثیر عوامل آلکیله کننده می‌باشد. وجود نوکلئوتید گوانین متیله در موقعیت ۶ اتم اکسیژن باعث تبدیل جفت باز G:C به A:T می‌شود که یک جهش از نوع ترانزیشن محسوب می‌شود (۳). آنزیم 06- متیل‌گوانین‌متیل‌ترانسفراز (MGMT با شماره دسترسی MIM= ۱۵۶۵۵۹ و به شماره دسترسی در بانک اطلاعاتی ژنوم = ۱۲۵۲۶۴) مسئول ترمیم این ناهنجاری می‌باشد که عامل آلکیل را از موقعیت ۶ اتم اکسیژن نوکلئوتید گوانین برداشته و باعث حفظ ساختار ژنوم به شکل اولیه آن می‌شود.

عدم بیان این پروتئین خطر سرطان‌زایی و حساسیت به عوامل متیله کننده را افزایش می‌دهد (۴). بیان پروتئین غیرطبیعی MGMT باعث تجمع 06- متیل‌گوانین در داخل سلول می‌شود (۵). MGMT علاوه بر محافظت در برابر عوامل آلکیله کننده باعث مقاومت بیماران سرطانی به شیمی‌درمانی با عوامل آلکیله کننده هم می‌شود (۴،۶). تحقیقات نشان داده‌اند که متیلاسیون MGMT در ناحیه پروموتری در سلول‌های طبیعی که به زودی تبدیل به سلول سرطانی می‌شوند، صورت می‌گیرد (۸). خاموش شدن ژن MGMT توسط افزایش متیلاسیون ناحیه پروموتری این ژن در ۴۰–۲۰ درصد از بیماران مبتلا به سرطان کولورکتال مشاهده شده است (۱۱-۸). بررسی ناحیه پروموتری MGMT در مطالعات مربوط به علت‌یابی پدیده سرطان دارای اهمیت فراوانی است (۱۲،۷).

صدها پلی‌مورفیسم در ژن MGMT تشخیص داده شده‌اند که تنها ۹ تای آنها باعث تغییر کردن اسید آمینه می‌شوند (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP). اکثر مطالعات بر روی سه پلی‌مورفیسم از این ۹ پلی مورفیسم متمرکز شده‌اند. به دلیل نزدیکی لوسین ۸۴ و ایزولوسین ۱۴۳ به اسید آمینه سیستیئن در محل کاتالیتیک آنزیم MGMT این دو پلی‌مورفیسم به همراه سه پلی‌مورفیسم پرولین ۵۸، آرژنین ۱۲۸ و گلیسین ۱۶۰ مورد بررسی قرار گرفتند. Pyrosequencing روشی بسیار جدید و قابل اطمینان برای بررسی پلی‌مورفیسم‌ها است که بر اساس ساخت رشته DNA توالی موجود در آن را برای ما مشخص می‌سازد. در این روش ابتدا پرایمر به رشته مورد نظر متصل می‌شود، سپس آنزیم (E) شامل DNA پلیمراز، ATP سولفوریلاز، اپیراز و لوسیفراز توسط دستگاه PSQ96MA اضافه می‌گردد. پس از آنزیم سوبسترا (S) اضافه می‌شود که محتوی آدنوزین ۵ فسفوسولفات (APS) و لوسیفرین است. در مرحله بعد باز هم توسط دستگاهPSQ96MA و با توجه به توالی رشته الگو اولین نوکلئوتید آزاد می‌شود. در صورت مکمل بودن با رشته الگو و اتصال به آن، گروه پیرو فسفات (ppi) رها می‌شود که طی یک سری واکنش آنزیمی لوسیفرین را به اکسی لوسفرین تبدیل کرده و نور ساطع می‌شود. هر نور ساطع شده یک پیک در روی صفحه مانیتور مشخص می‌کند و به همین ترتیب جلو می‌رود. عدم ساطع شدن نور نشانه عدم وجود نوکلئوتید مورد نظر بوده و یک خط صاف خواهد داد (۱۵-۱۳).

مواد و روشها

این تحقیق به روش مورد-شاهدی صورت گرفت. کلیه بیمارانی که به توصیه متخصصین گوارش به بیمارستان طالقانی مراجعه کرده بودند و پس از انجام کولونوسکوپی گزارش پاتولوژی نمونه‌برداری آنها وجود سرطان را تایید می‌کرد به عنوان مورد تلقی شده و افراد مشابه آنها از نظر سن و جنس که گزارش پاتولوژی طبیعی داشتند به عنوان شاهد در نظر گرفته شدند. با توجه به حجم نمونه مطالعات قبلی به میزان ۹۰ تا ۴۱۹ نفر (۱۷،۱۶) و هتروزیگوسیتی الل‌های پلی‌مورف، حجم نمونه در این تحقیق برای هر دو گروه مورد و شاهد ۲۰۰ نفر برآورد گردید.

نمونه‌گیری مبتنی بر هدف بوده و از افراد هر دو گروه پنج میلی‌لیتر خون در لوله‌های محتوی EDTA جمع گردیده و DNA ژنومی آنها با روش استاندارد فنل – کلروفرم (۱۳) استخراج شد. پنج پلی‌مورفیسم ۵۸ پرولین ← سرین، ۸۴ لوسین ← فنیل آلانین، ۱۲۸ آرژینین←گلوتامین،۱۴۳ ایزولوسین←والین و ۱۶۰ گلیسین ← آرژینین در ۲۰۸ بیمار مبتلا به سرطان کولورکتال و ۲۱۳ نمونه شاهد با استفاده از Pyrosequencing مورد بررسی قرار گرفتند . محل پنج پلی‌مورفیسم موردنظر از ژن MGMT با استفاده از پرایمرهای اختصاصی که در جدول ۱ به آنها اشاره شده است و واکنش PCR تکثیر گردید.

انتخاب پلی‌مورفیسم‌ها در این مطالعه با استفاده از مقالات و سایت‌های اطلاعاتی (www.ensemble.org،

جدول۱- سکانس پرایمر های طراحی شده توسط نرم افزار PSQ Assay Design.

پلی مورفیسم	پرایمر Sequencing (5'→3')	پرایمر Reverse (5'→3')	پرایمر Forward (5'→3')
۵۸ پرولین← سرین	CTGTGCACTGCATCA	GGGCTGGTGGAAATAGGCA	*AGTGCCGTGGAGGTCCCAG
۸۴ لوسین← فنیل آلانین	TTCCCCGTGCCGGCT	*CCAAAGGAAACACCGCAGATG	TCGAAGAGTTCCCCGTGCC
۱۲۸ آرژینین←گلوتامین	CAACCCCAAAGCCGC	*TGCTTGCGCCATGAGAACTC	AGCAATTAGCAGCCCTGGCA
۱۴۳ ایزولوسین←والین	ACCACTCTGTGGCACG	ATTCCTTCACGGCCAGTCCTC	*CCCCAAAGACCTCGTTGTCC
۱۶۰ گلیسین← آرژینین	CCGTGGGCAACTACTC	*CATGGGCCAGAAGCCATTC	CGTGCCACAGAGTGGTCTGC

* بیوتین متصل به پرایمر در سر′ ۵

www.genome.ucsc.edu و www.ncbi.nlm.nih.gov) انجام گرفت.

پرایمرهای طراحی شده برای بررسی پلی‌مورفیسم‌ها به صورت بیوتنیله در یکی از پرایمرهای Forward(F) یا Reverse (R) می‌باشند که واکنش PCR توسط این پرایمرها انجام می‌شود. برای انجام واکنش PCR، ۱۰۰ نانوگرم DNA الگو، ۲/۵ میکرولیتر با فر۱۰X، ۱ واحد آنزیم Taq پلیمراز، ۲ میکرومولار کلریدمنیزیم ، ۲۰۰ میکرومول/لیتر داکسی نوکلئوتید تری‌فسفات و ۴۰۰ نانومول / لیتر از پرایمرهای F و R را به حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر رسید و طبق برنامه زیر که به دستگاه ترموسیکلر داده شد، واکنش زیرصورت گرفت:

ابتدا دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه، سپس به ترتیب دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، دمای ۶۷-۵۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه و دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه. این برنامه ۳۵ بار تکرار شد.

سپس ژنوتیپ پلی‌مورفیسم‌ها با استفاه از تکنیک Pyrosequencing تعیین شد. به این منظور یکی از پرایمرهای مرحله PCR که بیوتنیله بود، مورد استفاده قرار گرفت. با استفاده از پرایمرهای طراحی شده توسط نرم افزار PSQ Assay Design (جدول ۲)، طی یک سری مراحل بر اساس پروتکول کار با دستگاه Pyrosequencer (PSQ96MA) ساخت آلمان، ابتدا بیوتین به دانه‌های پوشیده سفارزی متصل شد و سپس طی مراحل واسرشت کردن دو رشته و شستشو رشته الگو به صورت DNA تک رشته‌ای درآورده شدند. با استفاده از این رشته الگوی تک‌رشته‌ای و پرایمرهای اختصاصی، تعیین سکانس صورت گرفت و با دستگاه Pyrosequencer (PSQ96MA) ژنوتیپ‌ها تعیین شد (۱۸،۱۷). گراف‌های حاصل از کار با دستگاه Pyrosequencer در شکل ۱ مشاهده می‌شود.

همکار آزمایشگاهی هیچ اطلاعی از ابتلا یا عدم ابتلای نمونه‌ها به سرطان نداشت. توزیع افراد بیمار و شاهد به تفکیک پلی‌مورفیسم‌ها در سه گروه سالم/سالم، سالم/پلی مورف و پلی‌مورف/پلی‌مورف گزارش شد و نقش سالم/سالم به پلی‌مورف/پلی مورف با آزمون کای‌دو یا یا در صورت نیاز آزمون دقیق فیشر مورد قضاوت آماری قرار گرفت. نسبت شانس پلی‌مورفیسم با بروز سرطان کولورکتال با اطمینان ۹۵ درصد تعیین شد. در صورت نبودن حالت پلی‌مورف/پلی مورف نسبت سالم/سالم به سالم/پلی مورف مورد قضاوت آماری قرار گرفت.

یافته‌ها

۴۲۱ نفر شامل ۲۰۸ (۴۹/۴ درصد) فرد مبتلا به سرطان کولورکتال (گروه مورد یا بیمار) و ۲۱۳ فرد (۵۰/۶ درصد) سالم (گروه شاهد) مورد بررسی قرار گرفتند. میانگین (±انحراف معیار) سن افراد سالم ۸±۴۵ سال و سن افراد بیمار ۹±۴۱ سال بود. در گروه شاهد ۹۴ نفر (۴۴/۱درصد) مرد و ۱۱۹ نفر (۵۵/۹ درصد) زن و در گروه بیمار ۸۷ نفر (۴۱/۸ درصد) مرد و ۱۲۱ نفر (۵۲/۲ درصد) زن بودند. افراد دو گروه بیمار و شاهد علاوه بر وضعیت اقتصادی، اجتماعی به علت مراجعه به یک مرکز درمانی، از نظر سن و جنس نیز مشابه بودند.

یافته‌های مربوط به پنج پلی‌مورفیسم مسئول تغییر کردن اسیدآمینه (۵۸ پرولین ← سرین، ۸۴ لوسین ← فنیل آلانین، ۱۲۸ آرژینین←گلوتامین،۱۴۳ ایزولوسین←والین و ۱۶۰ گلیسین ← آرژینین) از ژن MGMT در جدول ۲ آمده است.

فراوانی الل‌ها در جمعیت مورد مطالعه از قانون هاردی-واینبرگ تبعیت می‌کرد. فراوانی دو پلی‌مورفیسم ۱۲۸ آرژینین←گلوتامین و ۱۶۰ گلیسین ← آرژینین اختلاف معنی‌داری در دو گروه مورد و شاهد داشت. فراوانی

جدول۲- فراوانی ژنوتیپ های سالم/سالم(+/+) ، سالم/پلی مورف(-/+)و پلی مورف/پلی مورف (-/-)میان نمونه های بیمار وشاهد.

نوع پلی مورفیسم		شاهد	بیمار	نسبت شانس (فاصله اطمینان ۹۵٪)	p-value
۵۸پرولین←سرین				-	NS*
	+/+	۱۰۵ (٪۴۹/۳)	۱۰۳ (٪۴۹/۵)		
	+/-	۸۰ (٪۳۷/۶)	۸۵ (٪۴۰/۹)		
	-/-	۲۸ (٪۱۳/۱)	۳۱ (٪۱۴/۹)		
۸۴ لوسین← فنیل الانین				۱/۵ (۰/۹۶-۲/۴)	NS
	+/+	۵۸ (٪۲۸/۴)	۴۴ (٪۲۱/۱)		
	+/-	۱۴۶ (٪۷۱/۹)	۱۶۴ (٪۷۸/۹)		
	-/-	۰	۰		
۱۲۸آرژینین←گلوتامین				۳/۲ (۱-۱۰)	< ۰/۰۰۰۱
	+/+	۱۹۲ (٪۹۰/۱)	۱۵۰ (٪۷۲/۱)		
	+/-	۱۷ (٪۷/۹)	۴۸ (٪۲۳/۰)		
	-/-	۴ (٪۱/۸)	۱۰ (٪۴/۸)		
۱۴۳ ایزولوسین←والین				-	NS
	+/+	۱۵۲ (٪۷۱/۳)	۱۲۸ (٪۶۱/۸)		
	+/-	۵۹ (٪۲۷/۶)	۷۸ (٪۳۷/۶)		
	-/-	۲ (٪۰/۹)	۱ (٪۰/۴)		
۱۶۰گلیسین←آرژینین				۴/۶ (۲/۶-۸)	< ۰/۰۰۰۱
	+/+	۱۸۲ (٪۸۶/۲)	۱۲۸ (٪۶۲/۴)		
	+/-	۱۸ (٪۸/۵)	۲۲ (٪۱۰/۷)		
	-/-	۱۷ (٪۸/۰)	۵۵ (٪۲۶/۸)		

* Not significant

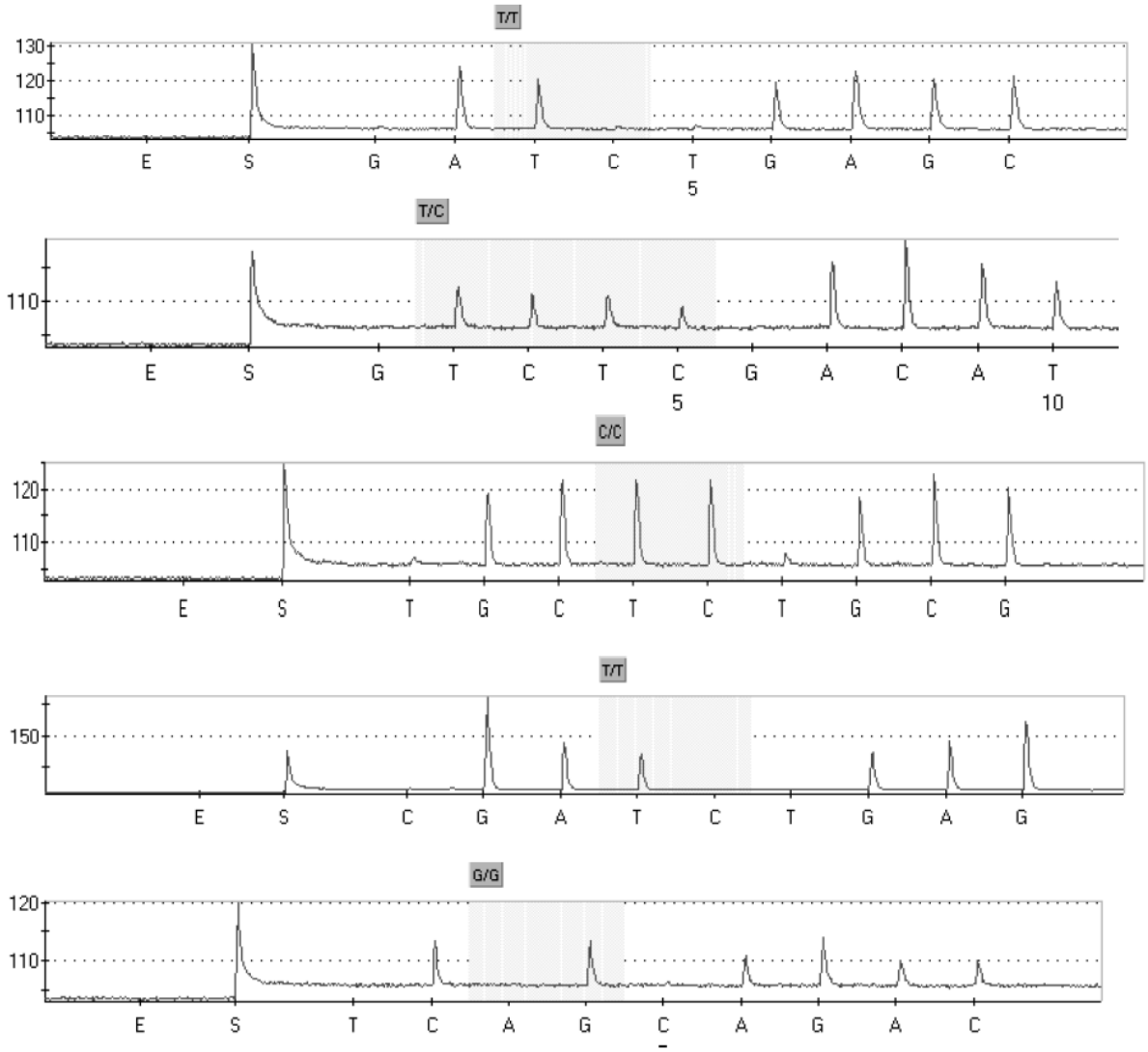
پلی‌مورفیسم ۸۴ لوسین ← فنیل آلانین نیز بین دو گروه متفاوت بود، هر چند از نظر آماری به سطح معنی‌داری نرسید. به عبارتی افراد دارای الل پلی‌مورف در ناحیه سه پلی‌مورفیسم ۸۴ لوسین ← فنیل آلانین، ۱۲۸ آرژینین←گلوتامین و ۱۶۰ گلیسین ← آرژینین با احتمال بیشتری به سرطان کولورکتال مبتلا خواهند شد.

بحث

این تحقیق نشان داد که از میان پنج پلی مورفیسم انتخاب شده، ۵۸ پرولین ← سرین و ۱۴۳ ایزولوسین←والین ارتباطی با بروز سرطان کولورکتال نداشتند، ولی سه پلی‌مورفیسم ۸۴ لوسین ← فنیل آلانین، ۱۲۸ آرژینین←گلوتامین و ۱۶۰ گلیسین ← آرژینین در بروز این سرطان موثر هستند. تحقیقات مشابه نشان داده‌اند که پلی‌مورفیسم‌های ۸۴ لوسین ← فنیل آلانین و ۱۴۳ ایزولوسین ← والین با افزایش خطر ابتلا به سرطان‌های مختلف همراه می‌باشند (۲۲-۱۸). از آنجایی که ۱۴۳ ایزولوسین← والین در محل گیرنده گروه الکیل در پروتئین MGMT واقع شده است، می‌توان آنرا یک پلی‌مورفیسم مهم موثر در سرطان ریه به حساب آورد (۲۵-۲۳). پلی‌مورفیسم ۱۴۳ ایزولوسین← والین بر روی خطر ابتلا به سرطان کورکتال تاثیری ندارد (۲۹-۲۶) که نتایج این تحقیق هم بیانگر این مطلب می‌باشد. علاوه بر این فراوانی آلل‌ها در جمعیت مورد مطالعه ما و مطالعات انجام شده در جمعیت‌های اروپایی نتایج مشابهی را در بر داشته است (۳۰،۲۹).

نشان داده شده که دو پلی‌مورفیسم ۱۲۸ آرژینین ← گلوتامین و ۱۶۰ گلیسین ← آرژنین ارتباط معنی‌داری با خطر ابتلا به سرطان کولورکتال غیرارثی دارند (۲۲،۲۸،۳۱،۳۲). نتایج این تحقیق در مورد ۱۲۸ آرژینبن← گلوتامین هم تایید کننده همین مطلب می باشد. همچنین در این تحقیق پلی‌مورفیسم ۱۶۰ گلیسین ← آرژنین ارتباط معنی‌داری با سرطان کولورکتال داشت که مشابه یافته‌های سایر مطالعات است (۶،۳۳،۳۴).

این تحقیق خانواده بیماران را شامل نمی‌شود و علاوه بر این عوامل محیطی موثر در سرطان کولورکتال از قبیل مصرف سیگار و مشروبات الکلی را لحاظ نکرده است. با این حال در این تحقیق تعداد نمونه ها نسبتا زیاد بوده، در حالی‌که



شکل ۱– نمودارهای حاصل از کار با دستگاه Pyrosequencing به ترتیب روی پنج پلی مورفیسم ۵۸پرولین←سرین ، ۸۴ لوسین← فنیل الانین، ۱۲۸آرژینین←گلوتامین، ۱۴۳ ایزولوسین←والین و۱۶۰گلیسین←آرژینین.

پیروگرام های حاصل از بررسی پنج پلی مورفیسم ژن MGMT که به ترتیب از بالا به پائین ۵۸پرولین←سرین ، ۸۴ لوسین← فنیل الانین، ۱۲۸آرژینین←گلوتامین، ۱۴۳ ایزولوسین←والین و۱۶۰گلیسین←آرژینین که در مورد ۸۴ لوسین← فنیل الانین حالت هتروزیگوت T/C و در سایر موارد حالت هموزیگوت دیده می شود. محور عمودی ارتفاع پیک را نشان می دهد و محور افقی نوکلئو تید آزاد شده به ترتیب زمانی را مشخص می کند. نرم افزار Pyrosequencer (PSQ96MA) پس از آزاد کردن آنزیم و سوبسترا ابتدا نوکلئوتیدی که در سکانس نمی باشد را آزاد می کند تا با گرفتن هیچ پیکی مشخص کند سکانس مورد نظر درست می باشد بعد از آن سکانس های موجود در توالی هدف را آزاد میکند و در محل پلی مورفیسم هر دو نوکلئوتید مورد نظر را آزاد کرده و با توجه به ارتفاع پیک و سکانس های مجاور پلی مورفیسم خودش نوع الل ها را مشخص می کند.

تحقیقات مشابه در این زمینه روی نمونه‌های کمی صورت گرفته است (۱۶). در این تحقیق از روش Pyrosequencing که روشی بسیار دقیق می‌باشد، برای اولین بار در ایران استفاده شد. به طور کلی می‌توان گفت در جمعیت ایرانی استعداد ابتلا به سرطان کولورکتال در افراد دارای پلی‌مورفیسم‌های ۸۴ لوسین ← فنیل آلانین، ۱۲۸ آرژینین←گلوتامین و ۱۶۰ گلیسین ← آرژینین از ژن MGMT بالا می‌باشد و پیشنهاد می‌شود دست کم در افراد خانواده مبتلایان به این نوع سرطان از نظر این پلی‌مورفیسم‌ها غربالگری انجام گیرد.

REFERENCES

1. Wood RD, Mitchell M, Lindahl T. Human DNA repair genes, 2005. Mutat Res 2005;577:275-83.

2. Ford BN, Ruttan CC, Kyle VL, Brackley ME, Glickman BW. Identification of single nucleotide polymorphisms in human DNA repair genes. Carcinogenesis 2000;21:1977-81.

3. Aquilina G, Biondo R, Dogliotti E, Meuth M, Bignami M. Expression of the endogenous O6-methylguanine-DNA-methyltransferase protects Chinese hamster ovary cells from spontaneous G:C to A:T transitions. Cancer Res 1992;52:6471-55.

4. Gerson SL. MGMT: its role in cancer aetiology and cancer therapeutics. Nat Rev Cancer 2004;4:296-307.

5. Ishibashi T, Nakabeppu Y, Sekiguchi M. Artificial control of nuclear translocation of DNA repair methyltransferase. J Biol Chem 1994;269:7645-50.

6. Esteller M, Herman JG. Generating mutations but providing chemosensitivity: the role of O6-methylguanine DNA methyltransferase in human cancer. Oncogene;23:1-8.

7. Shen L, Kondo Y, Rosner GL, Xiao L, Hernandez NS, Vilaythong J, et al. MGMT promoter methylation and field defect in sporadic colorectal cancer. J Natl Cancer Inst 2005;97:1330-38.

8. Nagasaka T, Sharp GB, Notohara K, Kambara T, Sasamoto H, Isozaki H, et al. Hypermethylation of O6-methylguanine-DNA methyltransferase promoter may predict nonrecurrence after chemotherapy in colorectal cancer cases. Clin Cancer Res 2003;9:5306-12.

9. Esteller M, Toyota M, Sanchez-Cespedes M, Capella G, Peinado MA, et al. Inactivation of the DNA repair gene O6-methylguanine-DNA methyltransferase by promoter hypermethylation is associated with G to A mutations in K-ras in colorectal tumorigenesis. Cancer Res 2000;60:2368-71.

10. Esteller M, Risques RA, Toyota M, Capella G, Moreno V, Peinado MA, et al. Promoter hypermethylation of the DNA repair gene O(6)-methylguanine-DNA methyltransferase is associated with the presence of G:C to A:T transition mutations in p53 in human colorectal tumorigenesis. Cancer Res;61:4689-92.

11. Whitehall VL, Walsh MD, Young J, Leggett BA, Jass JR. Methylation of O-6-methylguanine DNA methyltransferase characterizes a subset of colorectal cancer with low-level DNA microsatellite instability. Cancer Res 2001;61:827-30.

12. Kim YI, Pogribny IP, Salomon RN, Choi SW, Smith DE, James SJ, et al. Exon-specific DNA hypomethylation of the p53 gene of rat colon induced by dimethylhydrazine. Modulation by dietary folate. Am J Pathol 1996;149:1129-37.

13. John SW, Weitzner G, Rozen R, Scriver CR. A rapid procedure for extracting genomic DNA from leukocytes. Nucleic Acids Res 1991;19:408.

14. Pettersson M, Bylund M, Alderborn A. Molecular haplotype determination using allele-specific PCR and pyrosequencing technology. Genomics 2003;82:390-96.

15. Ronaghi M. Pyrosequencing for SNP genotyping. Methods Mol Biol 2003;212:189-95.

16. Montazer Haghighi M, Najarsadeghi R, Mohebbi SR, Khatami F, Mighimi B, Ghiasi S, Zali MR. Association of MTHFR gene polymorphism (C677T) and sporadic colorectal cancer. Pajohesh dar Pezeshki 2008:3:193-99. [In Persian]

17. Fazeli MS., Ghavami Adel M, Lebaschi AH. Colorectal Carcinoma: A Retrospective, Descriptive Study of Age, Gender, Subsite, Stage, and Differentiation in Iran from 1995 to 2001 as Observed in Tehran University. Dis Colon Rectum 2007;50:990–95

18. Eads CA, Lord RV, Wickramasinghe K, Long TI, Kurumboor SK, Bernstein L, et al. Epigenetic patterns in the progression of esophageal adenocarcinoma. Cancer Res 2001;61:3410-18.

19. Kaur TB, Travaline JM, Gaughan JP, Richie JP, Jr., Stellman SD, Lazarus P. Role of polymorphisms in codons 143 and 160 of the O6-alkylguanine DNA alkyltransferase gene in lung cancer risk. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2000;9:339-42.

20. Lees NP, Harrison KL, Hill E. Longitudinal variation in O6-alkylguanine DNA-alkyltransferase activity in the human colon and rectum. Br J Cancer 2002;87:168-70.

21. Lees NP, Harrison KL, Hall CN, Margison GP, Povey AC. Human colorectal mucosal O6-alkylguanine DNA-alkyltransferase activity and DNA-N7-ethylguanine levels in colorectal adenoma cases and matched referents. Gut 2006;56:380-84.

22. Crosbie PA, McGown G, Thorncroft MR, O'Donnell PN, Barber PV, Lewis SJ, et al. Association between lung cancer risk and single nucleotide polymorphisms in the first intron and codon 178 of the DNA repair gene, O6-alkylguanine-DNA alkyltransferase. Int J Cancer 2008;122:791-95.

23. Chueh LL, Nakamura T, Nakatsu Y, Sakumi K, Hayakawa H, Sekiguchi M. Specific amino acid sequences required for O6-methylguanine-DNA methyltransferase activity: analyses of three residues at or near the methyl acceptor site. Carcinogenesis 1992;13:837-43.

24. Povey AC, Margison GP, Mauro F, Santibánez-Koref MF. Lung cancer risk and variation in MGMT activity and sequence. DNA Repair 2007;6:1134-44.

25. Tranah GJ, Bugni J, Giovannucci E, Ma J, Fuchs C, Hines L, et al. O6-methylguanine-DNA methyltransferase Leu84Phe and Ile143Val polymorphisms and risk of colorectal cancer in the Nurses' Health Study and Physicians' Health Study (United States). Cancer Causes Control 2006;17:721-31.

26. Harrison KL, Crosbie PAJ, Agius RA, Barber PV, Carus M, Margison GP, et al. No association between N7-methyldeoxyguanosine and 8-oxodeoxyguanosine levels in human lymphocyte DNA. Mut Res 2006;600:125-30.

27. Mijal RS, Thomson NM, Fleischer NL, Pauly GT, Moschel RC, Kanugula S, et al. The repair of the tobacco specific nitrosamine derived adduct O6-[4-Oxo-4-(3-pyridyl)butyl]guanine by O6-alkylguanine-DNA alkyltransferase variants. Chem Res Toxicol 2004;17:424-34.

28. Savas S, Kim DY, Ahmad MF, Shariff M, Ozcelik H. Identifying functional genetic variants in DNA repair pathway using protein conservation analysis. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2004;13:801-807.

29. Ma S, Egyhazi S, Ueno T, Lindholm C, Kreklau EL, Stierner U, et al. O6-methylguanine-DNA-methyltransferase expression and gene polymorphisms in relation to chemotherapeutic response in metastatic melanoma. Br J Cancer 2003;89:1517-23.

30. Egyhazi S, Ma S, Smoczynski K, Hansson J, Platz A, Ringborg U. Novel O6-methylguanine-DNA methyltransferase SNPs: a frequency comparison of patients with familial melanoma and healthy individuals in Sweden. Hum Mutat 2002;20:408-409.

31. Kanugula S, Goodtzova K, Edara S, Pegg AE. Alteration of arginine-128 to alanine abolishes the ability of human O6-alkylguanine-DNA alkyltransferase to repair methylated DNA but has no effect on its reaction with O6-benzylguanine. Biochemistry 1995;34):7113-19.

32. Xu-Welliver M, Pegg AE. Point mutations at multiple sites including highly conserved amino acids maintain activity, but render O6-alkylguanine-DNA alkyltransferase insensitive to O6-benzylguanine. Biochem J 2000;347:519-26.

33. Imai Y, Oda H, Nakatsuru Y, Ishikawa T. A polymorphism at codon 160 of human O6-methylguanine-DNA methyltransferase gene in young patients with adult type cancers and functional assay. Carcinogenesis 1995;16:2441-45.

34. Wu MH, Lohrbach KE, Olopade OI, Kokkinakis DM, Friedman HS, Dolan ME. Lack of evidence for a polymorphism at codon 160 of human O6-alkylguanine-DNA alkyltransferase gene in normal tissue and cancer. Clin Cancer Res 1999;5:209-13.