مجله دانشکده پزشکی اصفهان
سال سی و دوم/شماره ۲۷۶/هفته اول اردیبهشت‌ماه ۱۳۹۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۱۰/۲۵
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۱/۶

تغییر تک نوکلئوتیدی rs۱۸۰۰۲۴۷ پروموتر ژن استئوکلسین در بیماران مبتلا به کارسینوم مدولاری تیرویید

جبار لطفی[۱]، دکتر محمد تقی خانی[۲]، مرجان ظریف یگانه[۳]، سارا شیخ الاسلامی[۳]، دکتر مهدی هدایتی[۴]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: کارسینوم مدولاری تیرویید توموری بدخیم با منشأ سلول‌های پارافولیکولار تیرویید می‌باشد. استئوکلسین مهم‌ترین پروتئین غیر کلاژنی استخوان است و ژن آن بر روی کروموزوم شماره‌ی ۱ قرار دارد. پلی مورفیسم مهم در پروموتر ژن استئوکلسین در محل ۲۹۸- (rs۱۸۰۰۲۴۷) می‌باشد که در آن باز C به T تبدیل می‌شود. در این مطالعه، جهت بررسی حضور این پلی مورفیسم در بیماران مبتلا به کارسینوم مدولاری تیرویید، پروموتر ژن استئوکلسین مورد بررسی قرار گرفت.

روش‌ها: تعداد افراد بیمار و سالم شامل ۲۰۰ نفر بودند که ۱۰۶نفر آنان را مرد و ۹۴ نفر آنان را زن تشکیل می‌دادند (۱۰۰ نفر بیمار یا مورد و ۱۰۰ نفر به عنوان شاهد). میانگین سنی در جمعیت بیمار ۱۱/۳ ± ۳۵/۰ سال و در گروه شاهد ۱۳/۸ ± ۳۷/۰ سال بود. DNA ژنومی نمونه‌ها پس از استخراج، به روش نمک اشباع/ پروتئیناز K با روش PCR-sequencing (Polymerase Chain Reaction-sequencing) تحت مطالعه قرار گرفتند. داده‌ها با آنالیز آماری لجستیک رگرسیون و نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۱۶ با سطح اطمینان ۹۵ درصد مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

یافته‌ها: در گروه مورد، فراوانی ژنوتیپی هموزیگوت CC ۷ درصد، هموزیگوت TT ۴۸ درصد و هتروزیگوت CT ۴۵ درصد بود.در گروه شاهد، فراوانی‌های ژنوتیپی به شرح زیر بود: CC ۸ درصد، TT ۵۵ درصد و CT ۳۷ درصد بود. در گروه مورد، فراوانی آللی C ۲۹/۵ درصد و فراوانی آللی T ۷۰/۵ درصد و در گروه شاهد فراوانی آللی C ۳۵/۵ درصد و فراوانی آللی T ۶۴/۵ درصد بود که از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری بین دو گروه مشاهده نشد.

نتیجه‌گیری: بین فراوانی آللی و ژنوتیپی در دو گروه بیمار و سالم تفاوت معنی‌داری دیده نشد، از این رو، پلی مورفیسم ذکر شده با بیماری ارتباطی ندارد و همچنین این تغییر تک نوکلئوتیدی، با بروز بیماری ارتباط ندارد.

واژگان کلیدی: کارسینوم مدولاری تیرویید، پروموترژن استئوکلسین، پلی مورفیسم

ارجاع: لطفی جبار، تقی خانی محمد، ظریف یگانه مرجان، شیخ الاسلامی سارا، هدایتی مهدی. **تغییر تک نوکلئوتیدی rs۱۸۰۰۲۴۷ پروموتر ژن استئوکلسین در بیماران مبتلا به کارسینوم مدولاری تیرویید.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۳؛ ۳۲ (۲۷۶): ۲۲۷-۲۲۰

مقدمه

سرطان تیرویید شایع‌ترین سرطان بدخیم غدد اندوکرین و مسؤول بروز حدود ۱ درصد کل سرطان‌ها در انسان می‌باشد (۱). این سرطان به چهار نوع پاپیلاری، مدولاری، فولیکولار و آناپلاستیک طبقه ندی می‌شود. کارسینومای مدولاری تیرویید

۱- کارشناس ارشد، گروه بیوشیمی بالینی، دانشکده‌ی علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
۲- استاد، گروه بیوشیمی بالینی، دانشکده‌ی علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
۳- کارشناس ارشد، مرکز تحقیقات سلولی مولکولی غدد درون‌ریز، پژوهشکده‌ی علوم غدد درون‌ریز و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
۴- دانشیار، مرکز تحقیقات سلولی مولکولی، مرکز تحقیقات چاقی، پژوهشکده‌ی علوم غدد درون‌ریز و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
نویسنده‌ی مسؤول: دکتر مهدی هدایتی
Email: hedayati@endocrine.ac.ir

Archive of SID
www.SID.ir

(MTC یا Medullary thyroid cancer) از سلول‌های پارافولیکولار منشأ می‌گیرد و به دو صورت تک گیر (۷۵ درصد موارد) و ارثی (۲۵ درصد موارد) دیده می‌شود. این نوع حدود مسؤول ۱۰-۵ درصد از سرطان‌های تیرویید می‌باشد (۴-۲).

استئوکلسین که به عنوان گاما کربوکسی گلوتامیک اسید استخوان نیز مطرح است. استئوکلسین مهم‌ترین پروتئین غیر کلاژنی استخوان است و در استخوان و دندان‌ها یافت می‌شود. استئوکلسین نشانگر ساخت استخوانی است و کربوکسیلاسیون آن وابسته به ویتامین K می‌باشد. این زنجیره‌ی پلی پپتیدی حاوی ۴۹ اسید آمینه با وزن مولکولی ۵/۸ کیلو دالتون است. در انسان ژن استئوکلسین بر روی بازوی بلند کروموزوم شماره‌ی ۱ قرار دارد (q۲۵-q۳۱) که در سطح نسخه‌برداری توسط ۱ و ۲۵ دی هیدروکسی ویتامین D_3 کنترل می‌شود (۷-۵). استئوکلسین ابتدا به صورت پره- پرو استئوکلسین حاوی ۹۸ اسید آمینه سنتز می‌شود و پس از مراحل پردازش به صورت استئوکلسین بالغ پدیدار می‌گردد (۸).

یکی از مهم‌ترین نواحی پلی مورفیک در ژن استئوکلسین واقع در نوکلئوتید شماره‌ی ۲۹۸ می‌باشد که برای اولین بار توسط Dohi و همکاران گزارش شد (rs۱۸۰۰۲۴۷) (۹). در این تغییر تک نوکلئوتیدی، باز C تبدیل به باز T می‌شود که ۱۹۸ نوکلئوتید بالاتر از اگزون شماره‌ی ۱ ژن استئوکلسین است (۹). در تعدادی از مطالعات، وجود رابطه بین این پلی مورفیسم و بروز برخی سرطان‌ها به اثبات رسیده است (۱۱-۱۰).

همچنین در مطالعه‌ی Simionescu و همکاران مشخص شد که در بیماران مبتلا به بیماری‌های تیرویید، غلظت استئوکلسین نسبت به افراد سالم بالاتر است (۱۲). در مطالعه‌ی Lian و همکاران دیده شد که ناحیه‌ی پروموتری مورد مطالعه در این تحقیق، ناحیه‌ی بسیار مهمی در تعیین میزان بیان ژن استئوکلسین می‌باشد (۱۳).

همان‌طور که پیش از این گفته شد، کارسینومای مدولاری تیرویید از منشأ سلول‌های C می‌باشد که در متابولسیم کلسیم با تولید و ترشح هورمون کلسی تونین تأثیرگذار است و با پروتئین‌های درگیر در روند استخوان‌سازی از قبیل استئوکلسین در ارتباط هستند. بنابراین، سؤالاتی مطرح بودند که «آیا در بدخیمی سلول‌های پارافولیکولار غده‌ی تیرویید، این تغییر تک نوکلئوتیدی در پروموتر ژن استئوکلسین مشاهده می‌گردد؟» و «آیا می‌توان از وجود احتمالی آن در تشخیص ژنتیکی کارسینومای مدولاری تیرویید استفاده کرد؟».

در نهایت، در این مطالعه به منظور بررسی وجود احتمالی پلی مورفیسم ذکر شده با سرطان مدولاری تیرویید و همچنین درک بیشتر ارتباط کارسینوم مدولاری تیرویید با بافت استخوان و استفاده از آن به عنوان یک نشانگر ژنتیکی برای تشخیص کارسینوم فوق، ناحیه‌ی پروموتری ژن استئوکلسین مورد بررسی قرار گرفت.

روش‌ها

در این تحقیق، ۱۰۰ نفر بیمار مبتلا به کارسینومای مدولاری تیرویید به صورت پایلوت به عنوان گروه مورد و ۱۰۰ نفر از افراد سالم به عنوان گروه شاهد بودند. این افراد به صورت داوطلبانه و پس از تکمیل فرم رضایت‌نامه وارد مطالعه شدند. بر اساس شواهد

Archive of SID

www.SID.ir

آسیب شناختی وجود MTC در افراد مبتلا در بیمارستان‌های دانشگاهی و مراکز درمانی نقاط مختلف کشور به تأیید پاتولوژیست رسیده بود و جهت انجام اقدامات درمانی بیشتر به بیمارستان طالقانی تهران و پژوهشکده‌ی غدد و متابولیسم دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی ارجاع داده می‌شدند. برای تعیین ژنوتیپ و فراوانی آللی، مقدار ۱۰ میلی‌لیتر خون محیطی از افراد اخذ و سپس DNA ژنومی با استفاده از روش استاندارد نمک اشباع/ پروتئیناز K استخراج شد. برای اطمینان از کیفیت و خلوص DNA به دست آمده، نسبت جذب نوری نمونه‌ها در ۲۶۰ به ۲۸۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. در این مطالعه، از پرایمرهایی استفاده شد که در مطالعه‌ی Dohi و همکاران مورد استفاده قرارگرفتند (۹) که توالی آن‌ها به صورت زیر می‌باشد:

Forward: ۵'-AGGCAGTGTCAAGAGC-۳'

Reverse: ۵'-CAATAGGGCGAGGAGT-۳'

این پرایمرها قطعه‌ای به طول ۳۲۶ جفت باز را در ناحیه‌ی پروموتر ژن BGLAP (Bone gamma-carboxyglutamic acid-containing protein) تکثیر می‌نمایند. واکنش PCR (Polymerase chain reaction) در میکروتیوب‌های لیوفلیزه آماده‌ی PCR (Premix, Bioneer, Korea) با اضافه کردن پرایمر Forward و Reverse هر کدام به مقدار ۰/۷ (۱۰ pmol/µl)، ۱µ DNA به مقدار (۱۰۰ ng/µl) ۱ µ ۱ DMSO (Dimethyl sulfoxide) به مقدار ۱/۵ µ ۱ و آب مقطر استریل به حجم ۲۵/۹ µl در حجم نهایی µl ۳۰ انجام گرفت.

شرایط بهینه برای انجام واکنش PCR نیز به قرار زیر بود: دمای Denaturation اولیه‌ی ۹۴ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۳ دقیقه، Denaturation ثانویه به مدت ۱ دقیقه، واکنش Annealing در دمای ۵۷/۹ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۵۵ ثانیه، واکنش Extension در دمای ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه، واکنش Final extension در دمای ۷۲ درجه به مدت ۱۰ دقیقه و در مجموع، در ۳۰ سیکل توسط دستگاه Thermal cycler (TC-XP-E ساخت شرکت Bioner چین) به انجام رسید.

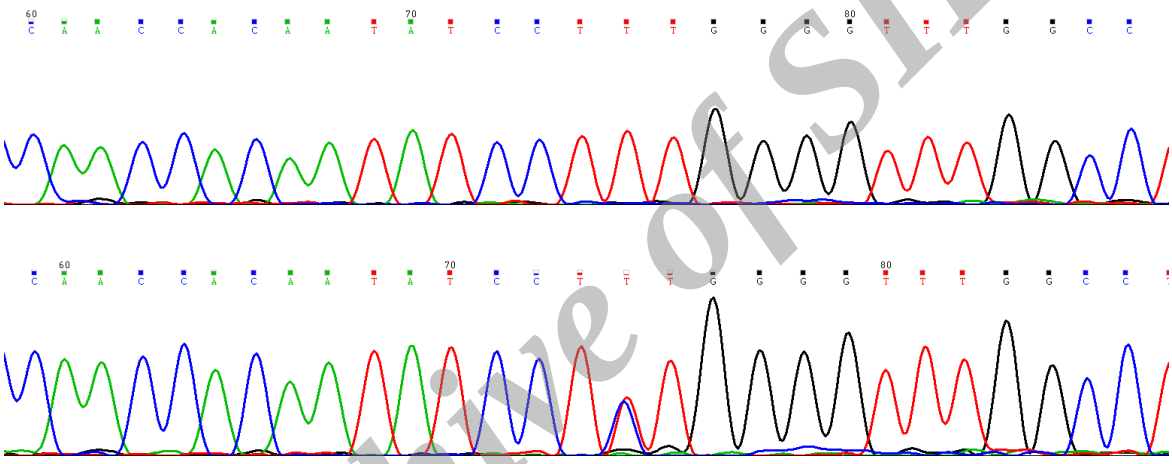
در انجام تمامی مراحل، میکروتیوب‌ها در ظرف یخ قرار گرفته بودند. پس از انجام واکنش در شرایط پیش‌گفته، جهت تأیید تکثیر DNA مورد نظر از ژل پلی آکریل آمید (۸ درصد) تانک کوچک (شرکت پایا پژوهش تهران)، ولتاژ ۲۰۰ مدت زمان ۹۰ دقیقه، استفاده گردید. پس از انجام الکتروفورز، ژل‌ها با استفاده از روش رنگ‌آمیزی نیترات نقره، رنگ‌آمیزی و بررسی شدند. سپس محصولات جهت انجام تعیین توالی بر اساس پرایمر Forward به میکروتیوب‌های استریل ۱/۵ میلی‌لیتری منتقل و به کشور کره‌ی جنوبی ارسال شد. پس از تعیین توالی، سکانس‌ها توسط نرم‌افزار Chromas مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند و جهت اطمینان از وجود تغییر تک نوکلئوتیدی در پایگاه NCBI (National Center for Biotechnology Information) تحت BLAST (Basic local alignment search tool) کردن قرار گرفتند (شکل ۱).

سپس برای بررسی ارتباط ژنوتیپی افراد مورد مطالعه با بیماری و همین‌طور بررسی ارتباط آلل‌ها، از روش رگرسیون لجستیک مقادیر Odds ratio و Confidence interval به دست آمد و با مقدار P به دست آمده، ارتباط فراوانی ژنوتیپ‌ها و آلل‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۱۶ (version 16, SPSS Inc., Chicago, IL) بررسی شد.

Archive of SID
www.SID.ir

یافته‌ها

جمعیت مورد مطالعه ۲۰۰ نفر شامل ۱۰۰ نفر بیمار (گروه مورد) و ۱۰۰ فرد سالم (گروه شاهد) بودند. گروه مورد شامل ۵۱ نفر مرد و ۴۹ نفر زن بودند. در گروه شاهد تعداد ۵۵ نفر مرد و ۴۵ نفر زن بودند. میانگین سن در گروه مورد ۱۱/۳ ± ۳۵/۰ سال و در گروه شاهد ۱۳/۸ ± ۳۷/۰ سال بود. در گروه مورد، فراوانی ژنوتیپی هموزیگوت CC ۷ درصد، هموزیگوت TT ۴۸ درصد و هتروزیگوت CT ۴۵ درصد به دست آمد. در گروه شاهد، فراوانی‌های ژنوتیپی به شرح CC ۸ درصد، TT ۵۵ درصد و CT ۳۷ درصد بود. فراوانی آللی C در جمعیت بیماران ۲۹/۵ درصد و فراوانی آللی T ۷۰/۵ درصد، در گروه شاهد فراوانی آللی C ۳۵/۵ درصد و فراوانی آللی T ۶۴/۵ درصد مشاهده گردید. همان‌طوری که در جداول ۱ و ۲ دیده می‌شود، این تغییر تک نوکلئوتیدی با بیماری ارتباط معنی‌داری نداشت.



شکل ۱. نتیجه‌ی تعیین توالی DNA در ناحیه‌ی پروموتری ژن استئوکلسین. پیک مشخص شده‌ی شکل بالا، توالی DNA طبیعی و شکل پایین تغییر تک نوکلئوتیدی مورد انتظار (T > C) را که به صورت هتروزیگوت می‌باشد، نمایش می‌دهد.

جدول ۱. فراوانی ژنوتیپی rs۱۸۰۰۲۴۷ در دو گروه مورد و شاهد

Genotype	گروه شاهد (n = ۱۰۰)	گروه مورد (n = ۱۰۰)	CI	OR	مقدار P
CC	۸ (۸)	۷ (۷)	-	۱ (Reference)	-
TT	۳۷ (۳۷)	۴۸ (۴۸)	۰/۴-۴/۶	۱/۴۷	۰/۴۸
CT	۵۵ (۵۵)	۴۵ (۴۵)	۰/۳-۲/۹	۰/۹	۰/۹

OR: Odds ratio; CI: Confidence interval

جدول ۲. فراوانی آللی rs۱۸۰۰۲۴۷ در دو گروه مورد و شاهد

Allele type	گروه مورد	گروه شاهد	CI	OR	مقدار P
C	۵۹ (۲۹/۵)	۷۱ (۳۵/۵)	-	۱ (Reference)	-
T	۱۴۱ (۷۰/۵)	۱۲۹ (۶۴/۵)	۰/۸۶-۲	۱/۳۱	۰/۲

OR: Odds ratio; CI: Confidence interval

Archive of SID
www.SID.ir

بحث

همان‌گونه که اشاره شد، MTC کارسینومای مهاجم تیروئید است که بهبودی آن به میزان بالایی به تشخیص زود هنگام آن بستگی دارد. کشف آلل‌های جهش یافته در بیماران، توارث بیماری را پیش‌بینی می‌کند و اساسی برای تیروئیدکتومی پیشگیرانه در کودکان فراهم می‌کند. در این مطالعه به منظور بررسی ارتباط تغییر تک نوکلئوتیدی در ناحیه‌ی پروموتری ژن استئوکلسین با وجود کارسینوم مدولاری تیروئید، نمونه‌ی DNA ۲۰۰ نفر با روش PCR-Sequencing مورد بررسی قرار گرفت. در نهایت، مشاهده شد که فراوانی آللی و ژنوتیپی افراد مبتلا به بیماری با افراد سالم تفاوتی ندارد. در تمامی پژوهش‌هایی که از گذشته تا به حال انجام گرفته‌اند، از روش RFLP (Restriction fragment length polymorphism) استفاده شده است که در مقایسه با روش Sequencing از لحاظ علمی، اعتبار کمتری دارد و از طرفی، شناسایی تغییرات تک نوکلئوتیدی جدید را امکان پذیر نمی‌نماید. از این رو، استفاده از روش تعیین توالی از نقاط قوت مطالعه ی حاضر بود و بیشتر با اهداف کشف تغییرات تک نوکلئوتیدی جدید انجام گرفت. هر چند که در این مطالعه، تغییر جدیدی در افراد مورد مطالعه یافت نشد، اما ابزار تحقیق به درستی انتخاب شده بود. در این مطالعه، برای اولین بار توالی ناحیه ی مورد تکثیر به روش Sequencing مورد بررسی قرار گرفت که از نوآوری‌های این مطالعه محسوب می‌شود.

در تمامی مطالعات صورت گرفته تا زمان اجرای این پژوهش، ناحیه‌ی پروموتری ژن استئوکلسین تنها از نظر وجود یک پلی مورفیسم در نوکلئوتید شماره‌ی ۲۹۸ مورد بررسی قرار گرفت و نوکلئوتیدهای قبل یا بعد بررسی نشدند. غربالگری بیوشیمیایی بر اساس سطح افزایش کلسی‌تونین سرم برای تشخیص بیماران در خطر ابتلا به MTC ارثی استفاده می‌شود. در واقع از نظر بالینی، هیچ علایم و نشانه‌های واضحی وجود ندارد و برترین سنجش، اندازه‌گیری کلسی‌تونین سرم بوده است که با یک ژن روی کروموزوم ۱۱p کد می‌شود و دو نوع mRNA مجزا تولید می‌کند (۱۴) و اغلب با یک سطح افزایش یافته‌ی آنتی ژن CEA (Carcino-embrionario) همراه است؛ اگر چه مورد آخر مخصوص MTC نیست (۱۵).

جهش‌های ژرم‌لاین مرتبط با FMTC (Familial medullary thyroid carcinoma) و MEN۲A (Multiple endocrine neoplasia۲A) که در ناحیه‌ی تیروزین کیناز رخ می‌دهند، فعالیت تغییر دهنده‌ی اندکی دارند و کمتر در حالت حاد بیماری دیده شده‌اند و بیماری حاصل از این جهش از طریق اندازه‌گیری سطح کلسی‌تونین در سنین بالاتر که بیماری پیشرفت زیادی کرده است، تشخیص داده می‌شود.

در برخی افراد مبتلا –اگر چه دارای سطح کلسی‌تونین طبیعی هستند–، احتمال وجود چنین جهش‌هایی وجود دارد و افزایش در سطح کلسی‌تونین این افراد دیرتر رخ می‌دهد (۱۶). بنابراین، احتمال دارد که بسیاری افراد مبتلا دارای سطح کلسی‌تونین طبیعی باشند. در سال‌های اخیر، پیشرفت‌های زیادی در فهم بیولوژی رشد کریستال‌های عصبی جهت توضیح صورت گرفته است و پاتوفیزیولوژی MTC بیشتر شفاف شده است (۱۸–۱۷). برای مثال، عوامل مهم رشد عصبی

www.SID.ir
www.mui.ac.ir
Archive of SID

(Neurotropic) شامل عامل رشد عصبی مشتق شده از گلیا (Glial cell line-derived neurotrophic factor یا GDNF) که یک لیگاند طبیعی برای گیرنده‌ی RET (Rearranged during transfection) است. همچنین، دیگر عوامل رشد عصبی که نقش اساسی در افزایش بقا و تمایز مشتقات ستیغ عصبی (Neural crest derivatives) دارند (۱۹).

در مطالعه‌ی Toivonen و همکاران، مشخص شد که در بیماران مبتلا به سرطان‌های تیرویید که تحت درمان با لیوتیروکسین هستند، میزان نشانگرهای بافت استخوانی از قبیل استئوکلسین بالاتر از افراد شاهد است (۲۰).

در مطالعه‌ی Hoffmann و همکاران اطلاعات زیادی درباره‌ی پروتر ژن استئوکلسین به دست آمد (۲۱). از طرف دیگر، در مطالعه‌ی Lian و همکاران مشخص شد که ناحیه‌ی بالادست اگزون شماره‌ی ۱ ژن استئوکلسین یکی از مناطق بسیار مهم در تنظیم بیان ژن استئوکلسین می‌باشد، از این رو، وجود تغییرات پلی مورفیسمی در این ناحیه می‌تواند بر میزان پروتئین استئوکلسین تأثیرگذار باشد (۱۳).

در مطالعه‌ی Wu و همکاران دیده شد که فراوانی آللی و ژنوتیپی rs۱۸۰۰۲۴۷ در افراد مبتلا به سرطان پروستات نسبت به افراد سالم متفاوت است (۱۱). در مطالعه‌ی Lin و همکاران ۱۱ پلی مورفیسم در ژن‌های مختلف از قبیل TGFβ۱-۵۰۹ (rs۱۸۰۰۴۶۹)، TNFα-۸۵۷ (rs۱۷۹۹۷۲۴) و Osteocalcin (rs۱۸۰۰۲۴۷) جهت بررسی ارتباط آن‌ها با تراکم مواد معدنی استخوان مطالعه گردید (۲۲). در نهایت مشخص شد که در زنان پس از سن یائسگی بین پایین بودن تراکم مواد معدنی استخوان با تعدادی از پلی مورفیسم‌ها از جمله پلی مورفیسم بررسی شده در مطالعه‌ی حاضر، ارتباط معنی‌داری وجود دارد و در استئوپروز، ژن‌های مختلفی دخیل هستند که یکی از آن‌ها می‌تواند ژن استئوکلسین باشد.

در پژوهشی که توسط Das و همکاران بر روی بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲ در دو جمعیت سفید پوست و آفریقایی انجام گرفت (۲۳)، مشاهده شد که در این بیماران پلی مورفیسم rs۱۸۰۰۲۴۷ واقع در پروموتر ژن استئوکلسین با برخی خصوصیات سندرم متابولیک از جمله غلظت بالای گلوکز ناشتا و حساسیت پایین به انسولین، ارتباط معنی‌داری وجود ندارد، اما پلی مورفیسم غیر معمول rs۳۴۷۰۲۳۹۷ در جمعیت آفریقایی با برخی خصوصیات ذکر شده در مورد سندرم متابولیک مرتبط است.

در نهایت، می‌توان این گونه بیان کرد که با توجه به عدم وجود تفاوت معنی‌دار بین فراوانی آللی و ژنوتیپی ناحیه‌ی مورد مطالعه در پروموتر ژن استئوکلسین در افراد مبتلا به کارسینوم مدولاری تیرویید نسبت به افراد سالم، پلی مورفیسم ذکر شده کاندیدای مناسبی جهت تشخیص ژنتیکی نیست و احتمال می‌رود که این تغییر تک نوکلئوتیدی، نقشی در بیماری‌زایی سرطان تیرویید نداشته باشد.

تشکر و قدردانی

این تحقیق با حمایت مالی دانشکده‌ی علوم پزشکی دانشگاه تربیت مدرس و مرکز تحقیقات سلولی مولکولی پژوهشکده‌ی علوم غدد درون‌ریز و متابولیسم دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی به انجام رسیده است. نویسندگان این مقاله مراتب سپاس و قدردانی خود از تمامی این عزیزان را اعلام می‌دارند.

Archive of SID
www.SID.ir

References

1. Sywak M, Pasieka JL, Ogilvie T. A review of thyroid cancer with intermediate differentiation. J Surg Oncol 2004; 86(1): 44-54.
2. Dvorakova S, Vaclavikova E, Sykorova V, Duskova J, Vlcek P, Ryska A, et al. New multiple somatic mutations in the RET proto-oncogene associated with a sporadic medullary thyroid carcinoma. Thyroid 2006; 16(3): 311-6.
3. Marsh DJ, Learoyd DL, Robinson BG. Medullary thyroid carcinoma: recent advances and management update. Thyroid 1995; 5(5): 407-24.
4. Moura MM, Cavaco BM, Pinto AE, Domingues R, Santos JR, Cid MO, et al. Correlation of RET somatic mutations with clinicopathological features in sporadic medullary thyroid carcinomas. Br J Cancer 2009; 100(11): 1777-83.
5. Price PA, Parthemore JG, Deftos LJ. New biochemical marker for bone metabolism. Measurement by radioimmunoassay of bone GLA protein in the plasma of normal subjects and patients with bone disease. J Clin Invest 1980; 66(5): 878-83.
6. Price PA, Baukol SA. 1,25-Dihydroxyvitamin D3 increases synthesis of the vitamin K-dependent bone protein by osteosarcoma cells. J Biol Chem 1980; 255(24): 11660-3.
7. Price PA, Nishimoto SK. Radioimmunoassay for the vitamin K-dependent protein of bone and its discovery in plasma. Proc Natl Acad Sci U S A 1980; 77(4): 2234-8.
8. Ducy P. The role of osteocalcin in the endocrine cross-talk between bone remodelling and energy metabolism. Diabetologia 2011; 54(6): 1291-7.
9. Dohi Y, Iki M, Ohgushi H, Gojo S, Tabata S, Kajita E, et al. A novel polymorphism in the promoter region for the human osteocalcin gene: the possibility of a correlation with bone mineral density in postmenopausal Japanese women. J Bone Miner Res 1998; 13(10): 1633-9.
10. Koeneman KS, Kao C, Ko SC, Yang L, Wada Y, Kallmes DF, et al. Osteocalcin-directed gene therapy for prostate-cancer bone metastasis. World J Urol 2000; 18(2): 102-10.
11. Wu HC, Lin CC, Chen WC, Chen HY, Tsai FJ. Osteocalcin gene HindIII C/T polymorphism is a biomarker for prostate cancer and responsiveness to hormone therapy. Eur Urol 2003; 43(2): 197-200.
12. Simionescu L, Dumitriu L, Dimitriu V, Zamfir-Grigorescu D, Campean G, Dumitriu E, et al. The serum osteocalcin levels in patients with thyroid diseases. Endocrinologie 1988; 26(1): 27-33.
13. Lian J, Stewart C, Puchacz E, Mackowiak S, Shalhoub V, Collart D, et al. Structure of the rat osteocalcin gene and regulation of vitamin D-dependent expression. Proc Natl Acad Sci USA 1989; 86(4): 1143-7.
14. Ainahi A, Kebbou M, Timinouni M, Benabdeljalil N, Fechtali T, Oufara S, et al. Study of the RET gene and his implication in thyroid cancer: Morocco case family. Indian J Cancer 2006; 43(3): 122-6.
15. Jackson CE, Tashjian AH, Jr., Block MA. Detection of medullary thyroid cancer by calcitonin assay in families. Ann Intern Med 1973; 78(6): 845-52.
16. Wohllk N, Schweizer H, Erlic Z, Schmid KW, Walz MK, Raue F, et al. Multiple endocrine neoplasia type 2. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab 2010; 24(3): 371-87.
17. Prazeres HJ, Rodrigues F, Figueiredo P, Naidenov P, Soares P, Bugalho MJ, et al. Occurrence of the Cys611Tyr mutation and a novel Arg886Trp substitution in the RET proto-oncogene in multiple endocrine neoplasia type 2 families and sporadic medullary thyroid carcinoma cases originating from the central region of Portugal. Clin Endocrinol (Oxf) 2006; 64(6): 659-66.
18. Chang CF, Yang WS, Su YN, Wu IL, Chang TC. Mutational spectrum of multiple endocrine neoplasia type 2 and sporadic medullary thyroid carcinoma in taiwan. J Formos Med Assoc 2009; 108(5): 402-8.
19. Machens A, Hauptmann S, Dralle H. Modification of multiple endocrine neoplasia 2A phenotype by cell membrane proximity of RET mutations in exon 10. Endocr Relat Cancer 2009; 16(1): 171-7.
20. Toivonen J, Tahtela R, Laitinen K, Risteli J, Valimaki MJ. Markers of bone turnover in patients with differentiated thyroid cancer with and following withdrawal of thyroxine suppressive therapy. Eur J Endocrinol 1998; 138(6): 667-73.
21. Hoffmann HM, Beumer TL, Rahman S, McCabe LR, Banerjee C, Aslam F, et al. Bone tissue-specific transcription of the osteocalcin gene: role of an activator osteoblast-specific complex and suppressor hox proteins that bind the OC box. J Cell Biochem 1996; 61(2): 310-24.
22. Lin GT, Tseng HF, Chang CK, Chuang LY, Liu CS, Yang CH, et al. SNP combinations in chromosome-wide genes are associated with bone mineral density in Taiwanese women. Chin J Physiol 2008; 51(1): 32-41.
23. Das SK, Sharma NK, Elbein SC. Analysis of osteocalcin as a candidate gene for type 2 diabetes (T2D) and intermediate traits in Caucasians and African Americans. Dis Markers 2010; 28(5): 281-6.

Archive of SID

www.SID.ir
www.mui.ac.ir

Journal of Isfahan Medical School
Received: 15.01.2014
Vol. 32, No. 276, 1st Week, May 2014
Accepted: 26.03.2014

Single Nucleotide Polymorphism of rs1800247 in Promoter Region of Osteocalcin Gene in Patients with Medullary Thyroid Carcinoma

Jabar Lotfi MSc[1], Mohammad Taghikhani PhD[2], Marjan Zarif-Yeganeh[3], Sara Sheikholeslami[3], Mehdi Hedayati PhD[4]

Original Article

Abstract

Background: Medullary thyroid carcinoma is a malignant tumor originated from parafollicular cells. Osteocalcin (OC) is the most non-collagenous protein in bone and its gene is located on chromosome 1 (1q25-q31). Important polymorphism in promoter region of osteocalcin gene is located at 298nt (rs1800247), in which C base is converted to T base. In this study, to evaluate the presence of this polymorphism with existence of medullary thyroid carcinoma (MTC), the rs1800247 polymorphism in promoter region of osteocalcin was studied.

Methods: In a case-control study, we evaluated the single nucleotide polymorphism (SNP) of rs1800247 in osteocalcin gene promoter in 200 volunteers, including 100 cases and 100 controls, consist of 106 men and 94 women. The mean age was 35.0 ± 11.3 and 37.0 ± 13.8 years in patients and controls, respectively. Thyroid biopsies and pathology confirmation were considered as confirmation of the medullary thyroid carcinoma diagnosis. Genomic DNA was extracted from the leukocytes using the standard Salting Out/Proteinase K method. Polymorphism detection was performed by polymerase chain reaction-sequencing (PCR-sequencing) and direct DNA sequencing methods. Obtained results were statistically analyzed using logistic regression method. The confidence level considered at 95%.

Findings: In patients' population, the genotype frequency was 7%, 48%, and 45% for CC, TT, and CT, respectively; these amounts were 8%, 55%, and 37% in controls, respectively. The frequency of C allele was 29.5% in patients 35.5% in controls; and the frequency of T allele frequency was 70.5%, and 64.5% in patients and controls, respectively. There was not any statistically significant difference between the groups in any of the cases.

Conclusion: There was no association between the single nucleotide polymorphism of rs1800247 in promoter region of osteocalcin gene in patients with medullary thyroid carcinoma compared with normal individuals. According to no difference between allelic and genotypic frequencies between patients and controls, the mentioned polymorphism is not suitable candidate for genetic diagnosis of medullary thyroid carcinoma.

Keywords: Medullary thyroid carcinoma, Promoter, Osteocalcin gene, Polymorphism

Citation: Lotfi J, Taghikhani M, Zarif-Yeganeh M, Sheikholeslami S, Hedayati M. **Single Nucleotide Polymorphism of rs1800247 in Promoter Region of Osteocalcin Gene in Patients with Medullary Thyroid Carcinoma.** J Isfahan Med Sch 2014; 32(276): 220-7

1- Department of Clinical Biochemistry, School of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran
2- Professor, Department of Clinical Biochemistry, School of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran
3- Cellular and Molecular Endocrine Research Center, Research Institute for Endocrine Sciences, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
4- Associate Professor, Cellular and Molecular Endocrine Research Center, Obesity Research Center, Research Institute for Endocrine Sciences, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
Corresponding Author: Mehdi Hedayati PhD, Email: hedayati@endocrine.ac.ir

Archive of SID
www.SID.ir