مقایسه تکثیر و بیان انکوژن C-MYC در سرطان معده در جمعیت ایرانی با دو روش CISH و IHC

ملیحه خالقیان[۱]، عیسی جهانزاد[۲]
عباس شکوری[۱]، ندا زرگری[۲]
مریم محمدی[۳]، سیروس عظیمی[۱و۴*]

۱- بخش ژنتیک پزشکی، انستیتو کانسر ایران، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.
۲- گروه پاتولوژی، ایمونوهیستوشیمی، انستیتو کانسر ایران، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.
۳- گروه اپیدمیولوژی و آمار زیستی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.
۴- بخش ژنتیک پزشکی، مرکز تحقیقات سرطان، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.

* نویسنده مسئول: تهران، بلوار کشاورز، بیمارستان امام خمینی (ره)، انستیتو کانسر ایران، بخش ژنتیک پزشکی.
تلفن: ۶۶۹۴۵۱۲۰-۰۲۱
E-mail: azimicyrus@tums.ac.ir

چکیده

دریافت: ۱۳۹۳/۱۰/۰۷ پذیرش: ۱۳۹۴/۰۱/۳۰ آنلاین: ۱۳۹۴/۰۳/۲۰

زمینه و هدف: بروز سرطان معده در کشورهای غربی در سال‌های اخیر کاهش نشان داده است، در حالی که در ایران شایع‌ترین سرطان در بین مردان است. ژن MYC، در روی کروموزوم 8q24.1 قرار گرفته و در حدود ۱۵٪ ژن‌های انسان را تنظیم و در ۲۰٪ تمام تومورهای انسان فعال می‌شود. تکثیر MYC و بیان بیش از حد آن در ۳۰-۱۵٪ نئوپلازی‌های معده مشاهده شده است. هدف از این مطالعه، بررسی برتری آزمایش CISH نسبت به IHC در پیش‌آگهی سرطان معده بود.

روش بررسی: در این مطالعه مقطعی، ۱۰۲ بلوک پارافینه از نمونه سرطان معده مورد بررسی قرارگرفت و تمام بیماران در انستیتو کانسر ایران، دانشگاه علوم پزشکی تهران مورد جراحی قرار گرفته بودند. این مطالعه از فروردین سال ۱۳۸۷ تا مهر ۱۳۹۳ انجام گردید. بر روی نمونه‌ها دو روش Chromogenic in situ hybridization (CISH) و Immunohistochemistry (IHC) به‌طور جداگانه انجام شد. محاسبه آماری با SPSS software, ver. 18 (Chicago, IL, USA) انجام گردید.

یافته‌ها: داده‌ها نشان داد که هر دو نوع سرطان معده منتشر و روده‌ای در مردان به‌طور قابل توجهی بیشتر اتفاق می‌افتد. نتایج ما نشان داد که نشانه‌ای از همبستگی بین Grade و آزمایش CISH وجود دارد، گرچه این تفاوت معنادار نبود و همچنین بین Stage و IHC تفاوت معناداری وجود نداشت (P=۰/۲۵۲). آزمایش CISH بیشتر بیماران، بیش از دو سیگنال (۴۳/۱٪) ولی تعداد کمتری از بیماران تست IHC (۱۴/۷٪) سیگنال مثبت داشتند. بین آزمایش CISH و IHC ارتباط وجود داشت. ولی هیچ اختلاف معناداری بین تکثیر CISH در انواع منتشر و روده‌ای وجود نداشت (P=۰/۷۰۶).

نتیجه‌گیری: این نتایج نشان داد که آزمایش CISH نسبت به IHC آزمایش بهتری برای شناسایی C-MYC در سرطان معده می‌باشد.

کلمات کلیدی: تکثیر و بیان انکوژن C-MYC، نئوپلاسم معده، ایران، CISH، ایمونوهیستوشیمی.

مقدمه

سرطان معده چهارمین سرطان شایع و دوّمین علت اصلی مرگ در اثر سرطان در جهان است. بر اساس تخمین جهانی، بیش از ۹۳۰،۰۰۰ مورد جدید سرطان معده، سالیانه تشخیص داده می‌شود و حداقل ۷۰۰،۰۰۰ نفر از این بیماری می‌میرند و بنابراین یک مشکل جدی سلامت جامعه محسوب می‌شود.[۱] تا این اواخر سرطان معده شایع‌ترین سرطان در جهان بود، اما میزان بروز آن به‌طور چشمگیری کاهش یافته است. دلیل کاهش قابل توجه در بروز سرطان معده ناشناخته است، ولی استفاده گسترده و همزمان از تکنیک‌های

Archive of SID
www.SID.ir

نگهداری مدرن غذا و یخچال می‌تواند در این کاهش نقش داشته باشد. بهبود کلی وضعیت تغذیه‌ای و در دسترس بودن انواع میوه‌های کافی و سبزیجات تازه، همچنین آگاهی عمومی در مورد خطرات ناشی از مواد غذایی فست‌فود و شور و نیز آگاهی در مورد عفونت *هلیکوباکترپیلوری*، فاکتورهای محافظت کننده‌ای از ابتلا می‌باشند.[۲] شناسایی مشخصات ژنتیکی خاص تومورهای معده می‌تواند به پیش‌آگهی در بیماران مبتلا به سرطان معده کمک نماید و راه‌کارهای درمانی دقیق‌تری را نشان دهد.

ما به علت مزایایی که Chromogenic in situ hybridization (CISH) دارد آنرا جهت بررسی انتخاب کردیم. مراحل آماده سازی بافت و دورگه سازی پروب در Fluorescence in situ hybridization (FISH) و CISH مشابه همدیگر هستند. با توجه به قابل انجام بودن، دقت و هزینه، CISH یک جایگزین مناسب برای FISH می‌باشد.[۳] همچنین بررسی MYC را انجام می‌دهیم زیرا انکوژن C-MYC) MYC) به‌عنوان یک عنصر کلیدی در مراحل مختلف کارسینوژنز در انسان شناخته شده است.[۴و۵] در بیش از ۴۰٪ از سرطان‌های معده، بیان فراوان MYC شرح داده شده است. شناسایی تکثیر MYC می‌تواند به‌عنوان یک وسیله کمکی برای تشخیص سرطان معده و نیز به‌عنوان یک فاکتور پیش‌بینی برای پیشرفت سرطان معده استفاده شود.

همینطور مهار ژن C-MYC استفاده درمانی داشته و MYC می‌تواند به‌عنوان هدف درمانی باشد. چندین مطالعه تجربی نشان داده که در مدل‌های حیوانی، غیرفعال شدن MYC باعث پسرفت تومورها می‌شود و این نشان می‌دهد که MYC می‌تواند به‌عنوان یک هدف مولکولی در درمان سرطان محسوب شود.[۶و۷]

به‌طور خلاصه، این مطالعه قصد دارد تا با بررسی تکثیر ژن C-MYC در دو نوع سرطان معده (خوب متمایز شده یا روده‌ای و متمایز نشده یا منتشر) با روش کاملاً جدید و اختصاصی CISH و نیز مقایسه بیان این ژن با روش Immunohistochemistry (IHC) در هر دو نوع سرطان معده به تعیین دقیق‌تر و اختصاصی‌تر پیش‌آگهی بیماران مبتلا به سرطان معده کمک نماید.[۱و۶]

روش بررسی

در یک مطالعه مقطعی (Cross- sectional) که از فروردین ۱۳۸۷ تا مهر ۱۳۹۳ در بیماران مراجعه‌کننده به انستیتو کانسر دانشگاه علوم پزشکی تهران انجام گردید، نمونه‌های بافتی (بلوک پارافینه) از ۱۰۵ بیمار مبتلا به آدنوکارسینوم معده به‌طور تصادفی انتخاب شدند که سه نمونه به‌دلیل داشتن بافت چربی زیاد برای انجام CISH مناسب تشخیص داده نشدند و از مطالعه حذف شدند. ۱۰۲ بلوک پارافینه از نمونه بافت سرطان معده از بیماران انستیتو کانسر که گزارش پاتولوژی آنان نیز بیماری را تأیید کرده بود و از ۵۰ بلوک از بافت نرمال معده اطراف تومور به‌عنوان کنترل منفی استفاده گردید. تمام نمونه‌ها با تایید از مؤسسه سرطان ایران (بانک DNA) تهیه گردیدند. پیش از ورود به این مطالعه، تمام نمونه‌ها توسط یک هیستوپاتولوژیست ارشد (دکتر ع.ج) تأیید گردیدند. همه افراد پیش از عمل، در معرض شیمی درمانی و یا پرتودرمانی قرار نگرفته بودند. تومورهای معده با توجه به سیستم لورن طبقه‌بندی و نیز بر اساس سیستم طبقه‌بندی TNM دسته‌بندی شده‌اند.[۸و۹]

بر روی برش‌های بافت، که با ضخامت ۳ µm تهیه و پیش با فرمالین تثبیت شده و در بلوک پارافینه قرار داده شده بودند، CISH انجام گردید. برش‌های بافتی، بر روی لام مخصوص سوپر فراست قرارداده شد و با C-3018, ZytoDot ® CISH Implementation Kit (ZytoVision GmbH, Bremerhaven, Germany) انجام گردید. برش‌ها با گزیلن (Xylene) دپارافینه شده، سپس در سری اتانول از ۱۰۰٪ به ۷۰٪ آب‌دهی شدند. روز اول، اسلایدها در بافر پری‌تریتمنت (Pretreatment) انکوبه گردیدند، محلول پری‌تریتمنت (PT2) خوب به‌هم زده شد. سپس مقداری از آن را در جار مخصوص ریخته و در ۸۵ °C inside Ben Marry machine (Memmert GmbH & Co. KG, Germany) قرار گرفت، تا محلول گرم شود. سپس لام‌ها به‌مدت نیم ساعت در محلول پری‌تریتمنت انکوبه شدند.

محلول پپسین را بر روی بافت ریخته و به‌مدت ۱۰ دقیقه در محفظه مرطوب انکوبه شد. برش‌ها در سری اتانول آب‌گیری و در معرض هوا خشک شدند. پروب ZytoDot CISH C-MYC (متصل به دیگوکسی ژنین) را ورتکس کرده و به هر نمونه ۱۰ µl اضافه شد. نمونه‌ها با یک لامل 22mm x22mm پوشانده شدند. اطراف لامل با یک لایه چسب داغ و یا Rubber cement گرفته شد. اسلایدها در ۹۵-۹۴ °C به‌مدت پنج دقیقه روی یک اجاق دنچوره شدند (پلیت PCR). سپس اسلایدها به یک ظرف مرطوب منتقل شده تا در طول

Archive of SID

www.SID.ir

شب در $37^{\circ}C$ هیبریدایز شوند (انکوباتور $37^{\circ}C$). روز دوم، چسب بدقت برداشته شد. لامل با فروبردن در بافر شستشوی Saline Sodium Citrate (SSC) به‌مدت پنج دقیقه در درجه حرارت اتاق برداشته شد. به‌مدت پنج دقیقه در درجه حرارت $75-80^{\circ}C$ اسلاید در بافر شستشوی SSC شسته شد. اسلایدها به‌مدت ۱۰ دقیقه در ۳٪ H_2O_2 انکوبه شدند. ۴-۳ قطره محلول Blocking را بر روی هر اسلاید ریخته و به‌مدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق انکوبه شد. محلول Blocking را خالی کرده، اما دیگر شستشو انجام نشد. ۴-۳ قطره Mouse-Anti-DIG را بر روی اسلایدها ریخته و به‌مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق انکوبه شدند.

۴-۳ قطره محلول Anti-Mouse-HRP-Polymer بر روی اسلایدها ریخته و به‌مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق انکوبه شدند. ۴-۳ قطره محلول Diaminobenzidine (DAB) را بر روی اسلایدها ریخته و به‌مدت ۳۰ دقیقه در درجه حرارت اتاق انکوبه شدند. پراکسیداز با DAB واکنش نشان داده و رنگ قهوه‌ای آشکار می‌شود. بافت یا نمونه‌های سلول به‌مدت ۱۰-۸ ثانیه با هماتوکسیلین مایر رنگ شدند. سپس آب‌گیری و در گزیلن (Xylene) خالص انکوبه کرده و برش‌ها در معرض هوا خشک شدند. نمونه‌ها را با لامل با استفاده از محلول مونتینگ (پایه الکل) پوشانده و اسلایدها معرض هوا خشک شدند. ارزیابی نمونه‌ها با میکروسکوپ نوری انجام گردید. تفسیر نتایج CISH توسط پژوهشگر اول با استفاده از یک میکروسکوپ نوری با لنز ۴۰ انجام گردید (شکل ۱: A, B, C, D). سیگنال‌ها به‌صورت نقاط قهوه‌ای تیره مشاهده شد. در هر نمونه تا ۲۰۰ هسته سلول بررسی گردید.

اگر کمتر از دو سیگنال در هر سلول دیده شود به عنوان بدون تکثیر (No amplification)، اگر بین ۴-۲ سیگنال در هر سلول باشد Low amplification و اگر بین ۶-۴ سیگنال در هر سلول دیده شود Moderate amplification است. اگر تعداد سیگنال‌ها بیش از شش سیگنال باشد High amplification محسوب می‌گردد. سلول‌های غیرسرطانی در بافت به‌عنوان کنترل منفی در نظر گرفته شدند. CISH با یک میکروسکوپ لایتز آنالیز گردید. تصاویر با دوربین نیکون (Nikon Inc., Japan) گرفته شد. تمام لام‌های بیماران برای تشخیص نهایی توسط یک هیستوپاتولوژیست ارشد بررسی و تأیید گردید. رنگ‌آمیزی IHC بر پایه روش Calcagno و همکاران انجام شد.[10] بر روی برش‌های بافت که با ضخامت ۳ µm که پیشتر با فرمالین تثبیت شده و در بلوک پارافینه قرار داده شده بود، IHC انجام گردید. برش‌های بافتی بر روی لام مخصوص سوپر فراست قرار داده شد و با کیت PolyTek™ HRP Anti-Mouse Polymerized Imaging System (ScyTek Laboratories, Inc., Utah, USA) تست IHC انجام گردید و بهترین آنتی‌بادی Biocare بود. لام‌ها دپارافینه شدند. برای کاهش زمینه غیراختصاصی رنگ، که پراکسیداز درونزا ایجاد می‌کند، اسلایدها در هیدروژن پراکساید (H2O2) به‌مدت ۱۵-۱۰ دقیقه انکوبه شدند.

مرحله Antigen Retrival با بافر سیترات در ماکروفر (بوتان) با درجه ۳۰٪ انجام شد. برای بهتر پیدا شدن اپی‌توپ‌ها می‌توان از آنزیم پپسین و یا پروتییناز K استفاده کرد. یک قطره از آنزیم را بر روی اسلاید ریخته و در یک ظرف مرطوب در درجه حرارت $37^{\circ}C$ به‌مدت هشت دقیقه انکوبه گردید. چند قطره از Blocking (بطری درب آبی) را بر روی اسلاید ریخته و به‌مدت ۳۰ دقیقه در درجه حرارت اتاق انکوبه شد.

این مرحله نیاز به شستشو ندارد. بلاکینگ برای از بین بردن زمینه رنگ‌آمیزی غیراختصاصی است. ۱۰ µl آنتی‌بادی اولیه را بر روی اسلاید ریخته و روی آن یک لامل قرار داده و در یک ظرف که مرطوب باشد در درجه حرارت $4^{\circ}C$ انکوبه گردید. این انکوبیشن می‌تواند دو ساعته و یا در طول شب باشد. مرحله بعدی سه تا شستشوی یک دقیقه‌ای در PBS است. آنتی‌بادی UltraTek Anti-Polyvalent (ScyTek Laboratories, Inc., Utah, USA) را بر روی اسلاید ریخته تا کل بافت را بپوشاند، سپس ۳۰ دقیقه در درجه حرارت اتاق انکوبه گردید.

یک قطره HRP بر روی اسلاید ریخته و سپس به‌مدت ۲۰ دقیقه در درجه حرارت اتاق انکوبه گردید. یک قطره کروموژن DAB (۴۰ µl) را به ۱ ml سوبسترای DAB اضافه و مخلوط کرده و چند قطره از آن را بر روی اسلاید ریخته و به‌مدت ۱۵-۱۰ در درجه حرارت اتاق انکوبه گردید. سپس از رنگ هماتوکسیلین به‌عنوان Counterstain استفاده می‌شود. مرحله آب‌گیری که گذراندن اسلایدها از الکل ۷۰٪ به الکل ۱۰۰٪ است. نمونه‌ها را با لامل با استفاده از محلول مونتینگ (پایه الکل) پوشانده و اسلایدها را به‌مدت ۳۰ دقیقه در معرض هوا خشک گردیدند.

Archive of SID
www.SID.ir

رنگ هسته با یا بدون رنگ‌آمیزی سیتوپلاسمیک با توجه به شدت رنگ به‌عنوان نتیجه مثبت در نظر گرفته می‌شود. اگر ۱۰٪ یا بیشتر از ۱۰٪ سلول‌های توموری برای پروتیین MYC مثبت بودند، بیمار به‌عنوان MYC مثبت در نظر گرفته می‌شود (شکل ۲: A, B).

محاسبه آماری با استفاده از SPSS software, version 18 (SPSS, Inc., Chicago, IL, USA) انجام گردید. به‌منظور دستیابی به درجه توافق بین CISH, IHC تست آماری Kappa انجام گردید. متغیرها در جدول ۱ با استفاده از تست Chi-square آنالیز شدند. برای متغیرهای نشان داده شده در جدول ۲، آنهایی که دو متغیر مستقل بودند از Mann-Whitney U test و آنهایی که بیش از دو متغیر مستقل داشتند از Kruskal-Wallis test استفاده گردید. برای تعیین ارتباط بین CISH, IHC، آزمون آماری Kappa و ضریب همبستگی Spearman به کار رفت.

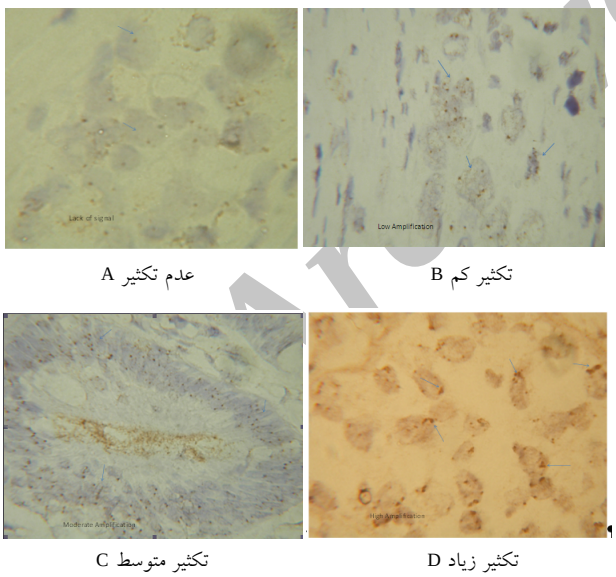
یافته‌ها

این پژوهش شامل ۱۰۲ بیمار ایرانی با آدنوکارسینوم معده بود. در نمونه‌های ما، ۷۸ بیمار مرد و ۲۴ مورد زن، و با متوسط سن ۶۰ سال، با نسبت مرد به زن ۳:۱ بودند. تکثیر MYC و بیان پروتیین آن (آزمایش CISH, IHC) بین بیماران انجام و آنالیز گردید.

ویژگی‌های کلینیکوپاتولوژیک در جدول ۱ و ۲ نشان داده شده است. محل تومور در ۳۵/۳٪ بیماران فوندوس بود، در حالی که تنها در ۳٪ نمونه‌ها کاردیا بود. نوع سرطان معده در ۵۶/۹٪ منتشر و در ۴۳/۱٪ روده‌ای و متوسط اندازه تومور بیماران ۶/۴۹ cm بود. برخی متغیرها شامل جنسیت، محل تومور، نکروز، تهاجم رگی، تهاجم عصبی، CISH, IHC بین دو نوع منتشر و روده‌ای تفاوت معناداری داشتند (جدول ۱). هیچ ارتباطی بین سن، درجه و مرحله (Stage) با نوع سرطان معده وجود نداشت.

نتایج ما نشان داد که هر دو نوع سرطان روده‌ای و منتشر در سرطان معده به‌طور معناداری در مردان بیشتر از زنان بود (جدول ۱). عمده بیماران ما در درجه دو و سه (۶۹/۶٪) و همچنین از نظر مراحل (Stages) نیز با ۵۹/۸٪ در مرحله دو و سه بودند (جدول ۱). طبق نتایج CISH, IHC هیچ ارتباطی بین سن، جنسیت، محل تومور، نکروز، تهاجم رگی، تهاجم عروقی، مرحله و نوع سرطان معده با تست CISH وجود نداشت (جدول ۱). نتایج ما نشان داد که نشانه‌ای از ارتباط بین گرید و CISH وجود داشت، گرچه تفاوت معنادار نبود. همچنین این مطالعه نشان داد که بیماران CISH مثبت (۴۳/۱٪) در مقایسه با بیماران IHC مثبت (۱۴/۷٪) فراوان‌تر بود. جدول ۳ ارتباط بین CISH, IHC را نشان داد. تکثیر افتراقی آزمایش CISH در جدول ۲ نشان داده شد.

بر پایه نتایج CISH، ۵۸ نمونه هیچ تکثیری نشان ندادند و ۴۴ نمونه CISH مثبت بودند، ۲۴ نمونه تکثیر پایین، شش نمونه تکثیر متوسط و ۱۴ نمونه نیز تکثیر بالا نشان دادند. در این تحقیق، تکثیر پایین به‌عنوان CISH مثبت در نظر گرفته شد (جدول ۳). جدول ۲ مقایسه CISH, IHC را نشان داد. تفاوت معناداری بین درجه و IHC وجود داشت. جدول ۳ نتایج IHC مثبت و منفی را نشان داد. ایمونوهیستوشیمی MYC در ۱۵ بیمار دیده شد. ۱۳ بیمار هر دو هم تکثیر MYC و هم ایمونوهیستوشیمی MYC مثبت بودند. ۵۶ نمونه هیچ تکثیری نداشتند و IHC هم منفی بود. همچنین بین ۴۴ نمونه CISH مثبت، ۱۳ نمونه سیگنال مثبت و ۳۱ نمونه سیگنال منفی



عدم تکثیر A — تکثیر کم B

تکثیر متوسط C — تکثیر زیاد D

شکل ۱: نتایج تکثیر C-MYC با آزمایش CISH. (A) عدم تکثیر (۱-۰). (B) تکثیر کم (۴-۳ سیگنال). (C) تکثیر متوسط (۶-۵ سیگنال). (D) تکثیر زیاد (بیش از شش سیگنال، که در اکثر هسته‌های سلول‌های سرطان معده به‌صورت خوشه‌های بزرگ ژنی دیده می‌شوند). (بزرگ‌نمایی اصلی X 500).

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۱: نتایج آزمایشگاهی و بالینی بیماران بر اساس دو نوع سرطان معده نوع منتشر و روده‌ای

متغیر	نوع سرطان معده			
	منتشر تعداد(درصد)	P	روده‌ای تعداد(درصد)	P
سن				
سن کمتر از ۶۰	۲۸(۴۸/۳)	۰/۷۹۳	۱۷(۳۸/۶)	۰/۱۳۲
سن بیشتر از ۶۰	۳۰(۵۱/۷)		۲۷(۶۱/۴)	
جنسیت				
مرد	۴۴(۷۵/۹)	<۰/۰۰۰۱	۳۴(۷۷/۳)	۰/۰۰۰۱
زن	۱۴(۲۴/۱)		۱۰(۲۲/۷)	
محل تومور				
فوندوس	۲۵(۴۳/۱)	۰/۰۰۰۱	۱۱(۲۵)	۰/۰۰۹
پیلوروس	۳(۵/۲)		۲(۴/۵)	
ازوفاگوس	۶(۱۰/۳)		۳(۶/۸)	
کاردیا	۲(۳/۴)		۱(۲/۳)	
Lesser curvature	۵(۸/۶)		۸(۱۸/۲)	
Corpus-body	۱۱(۱۹)		۸(۱۸/۲)	
آنتروم	۵(۸/۶)		۱۱(۲۵)	
داده‌ها در دسترس نبود	۱(۱/۷)		–	
درجه				
I	۱۶(۲۷/۶)	۰/۳۱۹	۱۳(۲۹/۵)	۰/۱۱۰
II	۱۶(۲۷/۶)		۲۱(۴۷/۷)	
III	۲۴(۴۱/۴)		۱۰(۲۲/۷)	
داده‌ها در دسترس نبود	۲(۳/۴)		–	
نکروز				
دارد	۱۳(۲۲/۴)	۰/۰۰۲	۶(۱۳/۶)	۰/۰۰۲
ندارد	۹(۱۵/۵)		۱۱(۲۵)	
معلوم نیست	۲۸(۴۸/۳)		۲۴(۵۴/۴)	
داده‌ها در دسترس نبود	۸(۱۳/۸)		۳(۶/۸)	
Vascular invasion				
دارد	۴۸(۸۲/۸)	۰/۰۰۱	۳۰(۶۸/۲)	۰/۰۰۱
ندارد	۶(۱۰/۳)		۱۳(۲۹/۵)	
اطلاعات نبود	۴(۶/۹)		۱(۲/۳)	
Perineural invasion				
دارد	۳۹(۶۷/۲)	۰/۰۰۲	۲۴(۵۴/۵)	۰/۴۴۶
ندارد	۱۶(۲۷/۶)		۱۹(۴۳/۲)	
داده‌ها در دسترس نبود	۳(۵/۲)		۱(۲/۳)	
مرحله				
I	۱۳(۲۲/۴)	۰/۳۱۳	۹(۲۰/۵)	۰/۶۵۱
II	۱۸(۳۱)		۱۴(۳۱/۸)	
III	۱۷(۲۹/۳)		۱۲(۲۷/۳)	
IV	۹(۱۵/۵)		۹(۲۰/۵)	
داده‌ها در دسترس نبود	۱(۱/۷)		۰(۰)	
CISH تزاید ژنی				
<۲ Signals	۳۲(۵۵/۲)	۰/۰۰۰۱	۲۶(۵۹/۱)	۰/۰۰۰۱

Archive of SID
www.SID.ir

۲-۴	۱۴(۲۴/۱)		۱۰(۲۲/۷)	
۴-۶	۴(۶/۹)		۲(۴/۵)	
>۶	۸(۱۳/۸)		۶(۱۳/۶)	
CISH سیگنال				
IHC بیان ژنی				
Positive	۱۱(۱۹)	۰/۰۰۰۱	۴(۹/۱)	۰/۰۰۰۱
Negative	۴۷(۸۱)		۴۰(۹۰/۹)	

آزمون آماری: Chi-square، مقادیر P<۰/۰۵ معنادار در نظر گرفته شد.

جدول ۲: نتایج بالینی و آزمایشگاهی بیماران بر اساس تزاید ژنی و بیان ژن C- MYC

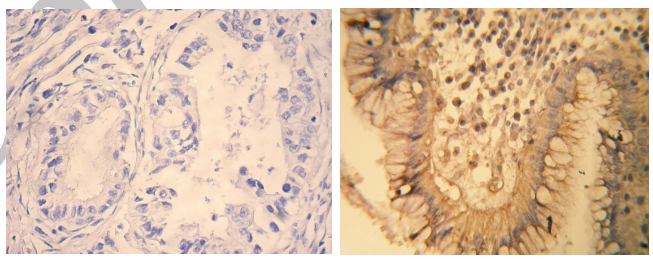
متغیر	IHC			CISH			
	مثبت (n=۱۵) تعداد(درصد)	منفی (n=۸۷) تعداد(درصد)	P	تعداد (n=۵۸) تعداد(درصد)	کم (n=۲۴) تعداد(درصد)	متوسط (n=۶) تعداد(درصد)	زیاد (n=۱۴) تعداد(درصد)	P
سن								
سن کمتر از ۶۰	۷(۴۶/۷)	۳۸(۴۳/۷)	۰/۸۳۰	۲۷(۴۶/۶)	۱۲(۵۰)	۳(۵۰)	۳(۲۱/۴)	۰/۳۲۰
سن بیشتر از ۶۰	۸(۵۳/۳)	۴۹(۵۶/۳)		۳۱(۵۳/۴)	۱۲(۵۰)	۳(۵۰)	۱۱(۷۸/۶)	
جنسیت								
مرد	۱۲(۸۰)	۳۸(۴۳/۷)	۰/۷۲۸	۴۳(۷۴/۱)	۱۷(۷۰/۸)	۶(۱۰۰)	۱۲(۸۵/۷)	۰/۳۳۶
زن	۳(۲۰)	۴۹(۵۶/۳)		۱۵(۲۵/۹)	۷(۲۹/۲)	۰(۰)	۲(۱۴/۳)	
محل تومور								
فوندوس	۷(۴۶/۷)	۲۹(۳۳/۳)	۰/۸۲۴	۱۴(۲۴/۱)	۱۳(۵۴/۲)	۳(۵۰)	۶(۴۲/۹)	۰/۳۳۰
پیلوروس	۱(۶/۷)	۴(۴/۶)		۳(۵/۲)	۰(۰)	۱(۱۶/۷)	۱(۷/۱)	
ازوفاگوس (Esophagus)	۱(۶/۷)	۸(۹/۲)		۷(۱۲/۱)	۰(۰)	۰(۰)	۲(۱۴/۳)	
کاردیا	۰(۰)	۳(۳/۴)		۲(۳/۴)	۰(۰)	۰(۰)	۱(۷/۱)	
Lesser Curvature	۲(۱۳/۳)	۱۱(۱۲/۶)		۷(۱۲/۱)	۴(۱۶/۷)	۱(۱۶/۷)	۱(۷/۱)	
Corpus-body	۱(۶/۷)	۱۸(۲۰/۷)		۱۴(۲۴/۱)	۳(۱۲/۵)	۱(۱۶/۷)	۱(۷/۱)	
Antrum	۳(۲۰)	۱۳(۱۴/۹)		۱۰(۱۷/۲)	۴(۱۶/۷)	۰(۰)	۲(۱۴/۳)	
داده‌ها در دسترس نبود	–	۱(۱/۱)		۱(۱/۷)	۰(۰)	۰(۰)	۰(۰)	
درجه								
I	۱(۶/۷)	۲۸(۳۲/۲)	۰/۰۰۲	۲۰(۳۴/۵)	۷(۲۹/۲)	۰(۰)	۲(۱۴/۳)	۰/۰۶۱
II	۳(۲۰)	۳۴(۳۹/۱)		۲۲(۳۷/۹)	۹(۳۷/۵)	۲(۳۳/۳)	۴(۲۸/۶)	
III	۱۱(۷۳/۳)	۲۳(۲۶/۴)		۱۵(۲۵/۹)	۸(۳۳/۳)	۴(۶۶/۷)	۷(۵۰)	
داده‌ها در دسترس نبود	–	۲(۲/۳)		۱(۱/۷)	۰(۰)	۰(۰)	۱(۷/۱)	
Necrose								
بله	۳(۲۰)	۱۶(۱۸/۴)	۰/۷۹۰	۱۴(۲۴/۱)	۲(۸/۳)	۲(۳۳/۳)	۱(۷/۱)	۰/۱۶۷
خیر	۴(۲۶/۷)	۱۶(۱۸/۴)		۹(۱۵/۵)	۵(۲۰/۸)	۲(۳۳/۳)	۴(۲۸/۶)	
نامشخص	۷(۴۶/۷)	۴۵(۵۱/۷)		۳۱(۵۳/۴)	۱۴(۵۸/۳)	۲(۳۳/۳)	۵(۳۵/۷)	
Missing	۱(۶/۷)	۱۰(۱۱/۵)		۴(۶/۹)	۳(۱۲/۵)	۰(۰)	۴(۲۸/۶)	
Vascular invasion								
بله	۱۲(۸۰)	۶۶(۷۵/۹)	۰/۲۴۸	۴۳(۷۴/۱)	۱۹(۷۹/۲)	۴(۶۶/۷)	۱۲(۸۵/۷)	۰/۲۳۸
خیر	۱(۶/۷)	۱۸(۲۰/۷)		۱۳(۲۲/۴)	۴(۱۶/۷)	۱(۱۶/۷)	۱(۷/۱)	
داده‌ها در دسترس نبود	۲(۱۳/۳)	۳(۳/۴)		۲(۳/۴)	۱(۴/۲)	۱(۱۶/۷)	۱(۷/۱)	

Archive of SID

www.SID.ir

Perineural invasion							
بله	۱۲(۸۰)	۵۱(۵۸/۶)		۳۳(۵۶/۹)	۱۵(۶۲/۵)	۵(۸۳/۳)	۱۰(۷۱/۴)
خیر	۲(۱۳/۳)	۳۳(۳۷/۹)	۰/۰۷۲	۲۳(۳۹/۷)	۸(۳۳/۳)	۱(۱۶/۷)	۳(۲۱/۴)
داده‌ها در دسترس نبود	۱(۶/۷)	۳(۳/۴)		۲(۳/۴)	۱(۴/۲)	۰(۰)	۱(۷/۱)
مرحله							
I	۴(۲۶/۷)	۱۸(۲۰/۷)		۱۵(۲۵/۹)	۵(۲۰/۸)	۰(۰)	۲(۱۴/۳)
II	۵(۳۳/۳)	۲۷(۳۱)		۱۸(۳۱)	۶(۲۵)	۳(۵۰)	۵(۳۵/۷)
II	۶(۴۰)	۲۳(۲۶/۴)	۰/۲۵۲	۱۷(۲۹/۳)	۶(۲۵)	۲(۳۳/۳)	۴(۲۸/۶)
IV	۰(۰)	۱۸(۲۰/۷)		۸(۱۳/۸)	۶(۲۵)	۱(۱۶/۷)	۳(۲۱/۴)
داده‌ها در دسترس نبود	۰(۰)	۱(۱/۱)		۰(۰)	۱(۴/۲)	۰(۰)	۰(۰)
Type							
منتشر	۱۱(۷۳/۳)	۴۷(۵۴)	۰/۱۵۶	۳۲(۵۵/۲)	۱۴(۵۸/۳)	۴(۶۶/۷)	۸(۵۷/۱)
روده‌ای	۴(۲۶/۷)	۴۰(۴۶)		۲۶(۴۴/۸)	۱۰(۴۱/۷)	۲(۳۳/۳)	۶(۴۲/۹)

در پایان برای مقایسه دو تست CISH, IHC از آزمون آماری Kappa استفاده گردید که با توجه به اینکه ۴۳/۱٪ CISH مثبت و ۱۴/۷٪ IHC مثبت بود. با آزمون Kappa ۲۸/۴٪ و P=۰/۰۰۰۱٪ توافق نشان داد.



A منفی IHC B مثبت IHC

شکل ۲: نتایج بیان C-MYC با آزمایش IHC

(A) IHC منفی در آدنوکارسینوم معده. (B) IHC مثبت در آدنوکارسینوم معده

برای IHC داشتند. بیشتر بیماران با IHC منفی هیچ تکثیری نداشتند و فقط دو بیمار با IHC مثبت، هیچ تکثیری نداشتند. همچنین سلول‌های طبیعی IHC منفی داشتند (جدول ۳). بیماران به چهار گروه تقسیم شدند. گروه اوّل هر دو +CISH, IHC+ (۱۲/۷٪)، گروه دوم +CISH, IHC- (۳۰/۳٪)، گروه سوم -CISH, IHC+ (۲٪)، چهارمین گروه -CISH, IHC- (۵۵٪). بین چهار گروه، آزمایش Kappa ۰/۲۸۴ بود که نشان‌دهنده توافق کم بین تست CISH, IHC است (جدول ۳). برای تعیین ارتباط بین آزمایش CISH, IHC ضریب همبستگی اسپرمن انجام گردید. ضریب همبستگی ۰/۳۶۵- با P=۰/۰۰۰۱ بود که نشان‌دهنده ارتباط بین دو آزمایش بود. در این پژوهش ۴۳٪ نمونه‌ها برای CISH مثبت، ولی فقط ۱۴/۷٪ IHC مثبت داشتند.

بحث

نتایج این پژوهش که در ۱۰۲ بیمار با سرطان معده انجام شده بود، با بررسی‌های دیگر که نسبت زن به مرد ۲:۱ و عمده بیماران مسن‌تر از ۵۵ سال بودند هم سو بود.[۱۴] همچنین مطالعات دیگر در ایران، در راستای نتایج این بررسی می‌باشد و به این اشاره دارند که سرطان معده شایع‌ترین در بین مردان ایرانی می‌باشد.[۱۱] مطالعه حاضر محل تومور به هفت زیر گروه تقسیم گردید و در بیشتر بیماران محل تومور فوندوس (نان کاردیا) بود. اگر محل تومور در بیماران به دو گروه کاردیا و نان کاردیا تقسیم شود، فقط ۳٪ کاردیا و ۹۷٪ نان کاردیا داریم. برخی از پژوهشگران، سرطان معده را، با کمابیش همین تعداد نمونه و با دو زیر گروه، کاردیا و نان کاردیا بررسی کرده و ۴/۵۸٪ نان کاردیا یافته‌اند، که با توجه به بیشتر بودن تعداد افراد نان کاردیا در راستای نتایج ما است.[۱۴] در این پژوهش، اکثر بیماران از نوع منتشر بودند (۵۶/۹٪)، اما برخی از محققین[۱۴و۱۵] گزارش کرده‌اند

Archive of SID
www.SID.ir

که نوع روده‌ای بیشتر از نوع منتشر می‌باشد. بهترین تفسیر برای این تفاوت در نمونه‌ها بوده است، چون نمونه‌های این دو گزارش، از برزیل و ژاپن، هر دو از نواحی با خطر بالا بوده‌اند. در حالی که نمونه‌های ما از تهران بود، که به‌عنوان یک ناحیه با خطر پایین، به حساب می‌آید و بر پایه مطالعات انجام شده، نوع روده‌ای سرطان معده، فراوان‌تر از نوع منتشر، در کشورهای با خطر بالا است.[۱۶] برخی از پژوهشگران ارتباط بین بیان بالای C-MYC را با بیش از ۵۰٪ سرطان‌های انسان و همچنین اثر این بیان بالا را برروی تهاجم و پیش‌آگهی بد در بیماران گزارش کرده‌اند. شرکت MYC در تومورزایی، با وادار کردن سلول به رشد لجام گسیخته، رگ‌زایی، تکثیر و ناپایداری ژنومی پیشتر اثبات شده است.[۱۷]

پیشنهاد شده است که بیان اساسی C-MYC شامل تکثیر، موتاسیون و یا جابه‌جایی کروموزومی می‌باشد که در توسعه و پیشرفت سرطان‌های مختلف درگیر است.[۱۸] بی‌نظمی در C-MYC موتاسیون‌های نقطه‌ای، شروع همانندسازی ناقص، شکست‌های DNA تغییرات در تعمیر DNA را تحریک می‌کند و با ایجاد تغییر در ساختمان هسته‌ای تلومرها و کروموزوم‌ها، ایجاد ساختارهای توپولوژیکی کرده که ناپایداری ژنومی را شروع می‌کند.[۱۹]

در مطالعات مختلف، بیشتر بیماران با تکثیر بالا در مرحله اولیه سرطان معده و همچنین از نواحی با ریسک بالا مثل ژاپن و کره بوده‌اند. ولیکن در تحقیق دیگری در نوع منتشر نسبت به نوع روده‌ای، C-MYC تکثیر بالاتری داشته که در توافق با نتایج ما است.[۲۰] در یک مطالعه، بررسی IHC نشان داده است که بیان MYC در نوع روده‌ای، فراوان‌تر از نوع منتشر است.[۲۱] در حالی که برعکس ما مشاهده کردیم که بیان MYC در نوع منتشر فراوان‌تر بوده است. رابطه بیان بالای MYC با مراحل تکثیری سلول‌ها اثبات شده است. این بیان تنها در فاز تکثیری رشد، ولی نه در سلول‌های کامل تمایز یافته و یا سلول‌هایی که در مرحله خاموشی هستند، نشان داده شده است.[۲۲] نتایج ما نشان داد که تفاوت معناداری بین Grade و IHC وجود دارد. نتایج ما افزایش در بیان MYC، به‌خصوص در Grade II, III را نشان داد. این نتیجه مشابه با یافته‌های نتایج پیشین است که نشان می‌دهد که بیان MYC با تنظیم پایین تمایز سلولی ارتباط دارد. همچنین تحقیق دیگری نشان داده که بیان MYC در Grade I سرطان معده پایین می‌آید، در حالی که افزایش قابل توجهی در بیان پروتیین MYC در Grade II, III وجود دارد.[۲۲] در مطالعه حاضر هیچ تفاوت معناداری بین IHC و Stage وجود نداشت. در حالی که، برخی مطالعات، سطوح بالای بیان پروتیین MYC را در مرحله اولیه نشان داده‌اند.[۲۳] هیچ تفاوت معناداری در درصد سلول‌های با تکثیر-C MYCبین سرطان‌های معده اولیه (PT1) و پیشرفته (PT2-4) وجود ندارد.[۲۴] این مطالعه نیز از نظر بیان پروتیین در راستای مطالعه حاضر می‌باشد.

مطالعات پیشین نشان می‌دهد که هیچ رابطه‌ای بین تکثیر ژن C-MYC و کارسینوم‌های تمایز یافته و تمایز نیافته وجود ندارد.[۲۴] ولیکن، یافته‌های ما نشان داد که نشانه‌ای از ارتباط بین CISH و Grade وجود داشت، هر چند که این تفاوت، از نظر آماری، به سطح معناداری نرسید.

میزان بیان بیش از حد MYC در سرطان معده از ۱۵/۶٪ تا ۱۰۰٪ گزارش شده است.[۲۴] ولیکن در این مطالعه، تنها ۱۴/۷٪ بیان بالای MYC (IHC+) در هر دو نوع سرطان معده نشان داده شده و ۳/۸۵٪ هیچ بیانی نداشتند. این میزان کمابیش نزدیک به مطالعات پیشین بود.[۱۴]

شایع‌ترین مکانیزم بی‌نظمی MYC در سرطان معده، تکثیر MYC است.[۱۲] این مکانیسم منجر به افزایش محصولات انکوژنیک در کمیت‌هایی می‌شود که اضافه بر ظرفیت نسخه‌برداری است.[۱۱] در این راستا، ما در ۴۳٪ تومورهای معده در بین بیماران، سه کپی ژن را مشاهده کردیم و در مطالعات قبلی ۵۱/۵٪ تکثیر نشان داده‌اند، از این‌رو این پژوهش، مطالعات پیشین را تأیید می‌کند.[۲۰]

همچنین در این مطالعه تکثیر C-MYC در نوع منتشر فراوان‌تر از نوع روده‌ای بود، که با مطالعات پیشین سازگار نیست.[۱۱و۲۰] مطالعه ما هیچ ارتباطی بین سن، جنسیت، محل تومور، نکروز، Vascular invasion, Perineural invasion و نوع تومور با آزمایش CISH را نشان نداد. مطالعه‌ای از چین نشان داده است که هر ارتباطی بین تکثیر C-MYC و خصوصیات کلینیکوپاتولوژیک (گرید و مرحله، متاستاز غدد لنفاوی و محل تومور) در سرطان معده به قومیّت مربوط است.[۲۵و۲۶] چون نمی‌توان هیچ ارتباطی بین تکثیر C-MYC و خصوصیات کلینیکوپاتولوژیک پیدا کرد، بنابراین، قومیّت جمعیت مبتلا، منجر به هیچ ارتباطی، بین این دو پارامتر نمی‌شود.

در نمونه‌های مطالعه حاضر ۷، ۱۲٪ هر دو CISH, IHC مثبت

Archive of SID

www.SID.ir

بودند، هرچند که عدم تکثیر C-MYC و IHC را در دو بیمار مشاهده کردیم، اما به‌نظر می‌رسد خطای آزمایشگاهی می‌باشد. ۳، ۳۰٪ بیماران ما تکثیر C-MYC مثبت (+CISH)، اما در آنها پروتیین بیان نشده و IHC منفی بودند (جدول ۳).

تفسیر این حالت می‌تواند این باشد که مکانیسمی پروتیین یا به‌احتمال mRNA را تخریب می‌کند.[۲۵] داده‌های ما نشان داد که CISH, IHC با هم ارتباط دارند و درصد CISH مثبت و IHC مثبت به‌ترتیب ۴۳٪ و ۱۴/۷٪ بود. بنابراین، نتیجه‌گیری می‌توان کرد که آزمایش CISH آزمایش بهتری برای شناسایی C-MYC در سرطان معده است. داده‌های ما نشان داد که CISH, IHC با هم ارتباط دارند و درصد CISH مثبت نسبت به IHC مثبت به بیشتر بود. بنابراین، می‌توان نتیجه گرفت که آزمایش CISH آزمون بهتری برای شناسایی C-MYC در سرطان معده است.

سپاسگزاری: این مقاله حاصل بخشی از پایان‌نامه تحت عنوان "بررسی تکثیر و بیان انکوژن C-MYC در سرطان معده با دو روش CISH و IHC و مطالعه ارتباط آنها با پیش‌آگهی و رشد تومور" در مقطع دکترای تخصصی رشته ژنتیک پزشکی در سال ۱۳۹۳ و کد ۳۹ می‌باشد که قسمتی از مخارج آن با بودجه شخصی و قسمتی با حمایت معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی تهران اجرا شده است.

References

1. Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, et al. GLOBOCAN 2012 Cancer Incidence and Mortality Worldwide: International Agency for Research on Cancer Base No. 11. Lyon, France: IARC Press; 2014.
2. Matsuzaka M, Fukuda S, Takahashi I, Shimaya S, Oyama T, Yaegaki M, et al. The decreasing burden of gastric cancer in Japan. *Tohoku J Exp Med* 2007;212(3):207-19.
3. Park DI, Yun JW, Park JH, Oh SJ, Kim HJ, Cho YK, et al. HER-2/neu amplification is an independent prognostic factor in gastric cancer. *Dig Dis Sci* 2006;51(8):1371-9.
4. Felsher DW. MYC Inactivation Elicits Oncogene Addiction through Both Tumor Cell-Intrinsic and Host-Dependent Mechanisms. *Genes Cancer* 2010;1(6):597-604.
5. Oster SK, Ho CS, Soucie EL, Penn LZ. The myc oncogene: MarvelouslY Complex. *Adv Cancer Res* 2002;84:81-154.
6. Boxer RB, Jang JW, Sintasath L, Chodosh LA. Lack of sustained regression of c-MYC-induced mammary adenocarcinomas following brief or prolonged MYC inactivation. *Cancer Cell* 2004;6(6):577-86.
7. Shachaf CM, Kopelman AM, Arvanitis C, Karlsson A, Beer S, Mandl S, et al. MYC inactivation uncovers pluripotent differentiation and tumour dormancy in hepatocellular cancer. *Nature* 2004;431(7012):1112-7.
8. Lauren P. The two histological main types of gastric carcinoma: diffuse and so-called intestinal-type carcinoma. *Acta Pathol Microbiol Scand* 1965;64:31-49.
9. Sobin LH, Wittekind Ch, editors. TNM Classification of Malignant Tumours. New York, NY: John Wiley and Sons, Inc: 2011.
10. Calcagno DQ, Guimaraes AC, Leal MF, Seabra AD, Khayat AS, Pontes TB, et al. MYC insertions in diffuse-type gastric adenocarcinoma. *Anticancer Res* 2009;29(7):2479-83.
11. Sadjadi A, Zahedi MJ, Darvish Moghadam S, Nouraie M, Alimohammadian M, Ghorbani A, et al. The first population-based cancer survey in Kerman Province of Iran. *Iran J Publ Health* 2007;36(4):26-34.
12. Calcagno DQ, Leal MF, Seabra AD, Khayat AS, Chen ES, Demachki S, et al. Interrelationship between chromosome 8 aneuploidy, C-MYC amplification and increased expression in individuals from northern Brazil with gastric adenocarcinoma. *World J Gastroenterol* 2006;12(38):6207-11.
13. Meyer N, Penn LZ. Reflecting on 25 years with MYC. *Nat Rev Cancer* 2008;8(12):976-90.
14. de Souza CR, Leal MF, Calcagno DQ, Costa Sozinho EK, Borges Bdo N, Montenegro RC, et al. MYC deregulation in gastric cancer and its clinicopathological implications. *PLoS One* 2013;8(5):e64420
15. Chang MS, Uozaki H, Chong JM, Ushiku T, Sakuma K, Ishikawa S, et al. CpG island methylation status in gastric carcinoma with and without infection of Epstein-Barr virus. *Clin Cancer Res* 2006;12(10):2995-3002.
16. Hamilton SR, Aaltonen LA, editors. Pathology and genetics of tumours of the digestive system. Lyon, France: IARC Press; 2000.
17. Arvanitis C, Felsher DW. Conditionally MYC: insights from novel transgenic models. *Cancer Lett* 2005;226(2):95-9.
18. Louis SF, Vermolen BJ, Garini Y, Young IT, Guffei A, Lichtensztejn Z, et al. c-Myc induces chromosomal rearrangements through telomere and chromosome remodeling in the interphase nucleus. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005;102(27):9613-8.
19. Adhikary S, Eilers M. Transcriptional regulation and transformation by Myc proteins. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2005;6(8):635-45.
20. Calcagno DQ, Guimaraes AC, Leal MF, Seabra AD, Khayat AS, Pontes TB, et al. MYC insertions in diffuse-type gastric adenocarcinoma. *Anticancer Res* 2009;29(7):2479-83.
21. Calcagno DQ, Freitas VM, Leal MF, de Souza CR, Demachki S, Montenegro R, et al. MYC, FBXW7 and TP53 copy number variation and expression in gastric cancer. *BMC Gastroenterol* 2013;13:141.
22. Han S, Kim HY, Park K, Cho HJ, Lee MS, Kim HJ, et al. c-Myc expression is related with cell proliferation and associated with poor clinical outcome in human gastric cancer. *J Korean Med Sci* 1999;14(5):526-30.
23. Suzuki S, Tenjin T, Watanabe H, Matsushima S, Shibuya T, Tanaka S. Low level c-myc gene amplification in gastric cancer detected by

Archive of SID
www.SID.ir

dual color fluorescence in situ hybridization analysis. *J Surg Oncol* 1997;66(3):173-8.

24. Calcagno DQ, Leal MF, Assumpcao PP, Smith MA, Burbano RR. MYC and gastric adenocarcinoma carcinogenesis. *World J Gastroenterol* 2008;14(39):5962-8.
25. Shah MA, Ajani JA. Gastric cancer: an enigmatic and heterogeneous disease. *JAMA* 2010;303(17):1753-4.
26. Liu X, Cai H, Huang H, Long Z, Shi Y, Wang Y. The prognostic significance of apoptosis-related biological markers in Chinese gastric cancer patients. *PLoS One* 2011;6(12):e29670.

Archive of SID

www.SID.ir

TUMJ monthly Tehran University Medical Journal *Tehran University Medical Journal, July 2015; Vol. 73, No. 4: 260-270* *Original Article*

C-MYC amplification and expression in stomach cancer samples in Iranian population using two techniques of CISH and IHC

Malihea Khaleghian Ph.D.[1]
Issa Jahanzad M.D.[2]
Abbas Shakoori M.D., Ph.D.[1]
Neda Zargari B.Sc.[2]
Maryam Mohamadi M.Sc.[3]
Cyrus Azimi D.M.D., Ph.D.[1,4*]

1- Department of Medical Genetics, Cancer Institute of Iran, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
2- Department of Pathology, Immunohistochemistry, Cancer Institute of Iran, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
3- Department of Epidemiology and Biostatistics, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
4- Department of Medical Genetics, Cancer Research Center, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

[*] Corresponding author: Department of Medical Genetics, Cancer Institute of Iran, Imam Khomeini Hospital Complex, Tehran University of Medical Sciences, Keshavarz Blvd., Tehran, Iran.
Tel: +98- 21- 66945120
E-mail: azimicyrus@tums.ac.ir

Abstract

Received: 28 Dec. 2014 Accepted: 19 Apr. 2015 Available online: 10 Jun. 2015

***Background*:** The incidence rate of gastric cancer in Western countries has shown a remarkable decline in recent years although it is still the almost common cancer between men in Iran. The proto-oncogene MYC, located at 8q24.1, regulates almost 15% of human genes and is activated in 20% of all tumors. MYC amplification and overexpression of its protein product are observed in 15-30% of gastric neoplasia. The objective of this study was to find the preference of CISH or IHC in the diagnosis and prognosis of gastric cancer.

***Methods*:** In this cross-sectional investigation, 102 paraffin blocks samples of Iranian patients with gastric cancers were studied. All the patients had undergone primary surgical resection at the Cancer Institute Hospital, Tehran University of Medical Sciences from 1987 to 1993. CISH and IHC techniques were applied to the samples. CISH was carried out on 3-µm-thick tissue sections and with a ZytoDot CISH Implementation Kit (ZytoVision GmbH, Germany). IHC was down using the HRP method with the monoclonal antibody. A universal peroxidase-conjugated secondary antibody kit was used for the detection system. All samples were gastric adenocarcinoma and were selected randomly.

***Results*:** Our data revealed that both diffuse and intestinal types of gastric cancer occurred significantly in men more than women. Our results showed an indication of some correlation between grades and CISH results, although the difference was not significant. Our data also showed that CISH+ patients (43.1%) were more frequent in comparison with IHC+ patients (14.7%). There was a correlation between CISH and IHC. This result revealed that there was a significant difference between grades and IHC. There was also no statistically significant difference between CISH amplification in diffuse and intestinal types.

Conclusion: Our conclusion is that for the treatment, management of stomach cancer, and monitoring of progress and prognosis of the tumor that is almost important for patients and clinicians, CISH test is a better and feasible to IHC test, with regards to sensitivity and specificity.

Keywords: C-MYC, immunohistochemistry, in situ hybridization, Iran, stomach neoplasms, treatment outcome.

Archive of SID
www.SID.ir