

Research Paper

Association of Phosphatidylinositol 3-Kinases Mutations in Markazi Province Breast Cancer Patients Women

*Ahmad Hamta¹, Narges Sharif²

1. Assistant Professor, Department of Biology, Faculty of Sciences, Arak University, Arak, Iran.

2. MSc Student, Department of Biology, Faculty of Sciences, Arak University, Arak, Iran.



Citation: Hamta S, Sharif N. [Association of Phosphatidylinositol 3-Kinases Mutations in Markazi Province Breast Cancer Patients Women (Persian)]. Journal of Sabzevar University of Medical Sciences. 2016; 23(5):748-755. <http://dx.doi.org/10.21859/sums-2305748>

doi: <http://dx.doi.org/10.21859/sums-2305748>

Received: 03 Jul 2016

Accepted: 28 Oct 2016

ABSTRACT

Backgrounds Breast cancer is the most common cancer in females worldwide. Phosphatidylinositol 3-kinases (PI3Ks) evolve from lipid kinase that regulates the diverse cellular signaling pathways and are often altered in human cancers. Mutations in the gene encoding the p110 α catalytic subunit PI3K (PIK3CA) can increase the enzyme activity and cause uncontrolled growth in cells. Previous studies indicated high frequency of mutation in PIK3CA gene in breast cancer. The current study aimed at determining the activating mutations of PI3K gene that can treat breast cancer using kinase activity of the enzyme inhibitors.

Methods & Materials In the current study, due to the high rate of breast cancer in Markazi province, mutations of PIK3CA gene in 45 patient samples and 20 controls were investigated by the means of single-strand conformational polymorphism (SSCP) and direct DNA sequencing. In addition, the correlation between PIK3CA mutations and clinicopathological factors including age at diagnosis, lymph node metastases, subtype histology, tumor size, and histological grade were investigated by the Pearson Chi-square (χ^2) test.

Results Among the 26.6% PIK3CA gene mutations in the study, 75% were identified in the exon 9; and accordingly, in addition to hotspot mutation [G1624A (E542K)], another mutation [G1634C (E545A)] was also detected. The current study showed no significant correlation between PIK3CA mutations and clinicopathological factors.

Conclusion Mutations in PI3K gene, a proto-oncogene, showed the importance of this pathway for therapeutic purposes to prevent and cease the growth of breast cancer

Keywords:

Breast cancer,
Phosphatidylinositol
3- Kinase, Muta-
tion, Single-strand
conformational
polymorphism

*** Corresponding Author:**

Ahmad Hamta, PhD

Address: Department of Biology, Faculty of Sciences, Arak University, Arak, Iran.

Tel: +98 (86) 34173317

E-mail: a-hamta@araku.ac.ir

بررسی جهش‌های ژن فسفاتیدیل اینوزیتول ۳-کیناز در زنان مبتلا به سرطان پستان در استان مرکزی

احمد همتا^۱، ترگس شریف^۲

۱- استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه اراک، اراک، ایران.

۲- کارشناس ارشد، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه اراک، اراک، ایران.

حکیده

تاریخ دریافت: ۹ مرداد ۱۳۹۵

تاریخ پذیرش: ۷ آبان ۱۳۹۵

هدف: سرطان پستان شایع‌ترین سرطان در میان زنان جهان است. فسفاتیدیل اینوزیتول ۳-کیناز (PI3K) که مسیرهای انتقال پیام سلولی متنوعی را تنظیم می‌کند اغلب در سرطان‌های انسانی تغییر می‌یابد. جهش‌های ژن کدکننده زیرواحد کاتالیتیکی PI3Kα (PIK3CA) موجب افزایش فعالیت آنزیم و رشد کنترل‌نشده سلول‌ها می‌شود. مطالعات گذشته بیانگر درصد بالای جهش ژن PIK3CA در سرطان پستان است. هدف این مطالعه تعیین جهش‌های فعال‌کننده ژن PI3K است که می‌تواند در درمان سرطان پستان با استفاده از مهارکننده‌های فعالیت کینازی این آنزیم مؤثر باشد.

مواد و روش: با توجه به شیوع سرطان پستان در استان مرکزی، در این مطالعه وجود جهش در ژن PIK3CA بین ۴۵ نمونه بیمار و ۲۰ نمونه کنترل با روش SSCP و توالی‌یابی مستقیم بررسی شد. همچنین ارتباط بین جهش‌ها با عوامل کلینیکی پاتولوژیکی شامل سن تشخیص، درگیری غدد لنفاوی، وضعیت هستولوژیک اندازه تومور و درجه بافتی با آزمون پیرسون کای اسکوار (χ^2) بررسی شد.

یافته‌ها: از بین ۶۲۶ درصد جهش ژن PIK3CA در این مطالعه ۷۵ درصد آن در آگزون ۶ شناسایی شد. در آگزون ۹ علاوه بر جهش شایع (G1624A E542K) جهش دیگری نیز (G1634C) E545A] مشخص شد. این مطالعه نشان داد ارتباط معنی‌داری بین جهش با عوامل کلینیکی پاتولوژیکی وجود ندارد.

نتیجه‌گیری: وجود جهش در ژن PI3K که یک ژن پروتئوکوزنیک است، اهمیت این مسیر را به عنوان هدف درمانی برای جلوگیری و توقف رشد سرطان پستان نشان می‌دهد.

کلیدواژه‌ها:

سرطان پستان، فسفاتیدیل اینوزیتول ۳-کیناز، جهش، SSCP

مقدمه

سرطان گروهی از بیماری‌ها را شامل می‌شود که مشخصه آن‌ها رشد سلولی تنظیم‌نشده، تهاجم و انتشار سلول‌ها از جایگاه اصلی یا مکان اولیه به نقاط دیگر بدن است [۱]. سرطان پستان متداول‌ترین سرطان و دلیل اصلی مرگ‌ومیر ناشی از سرطان در میان زنان جهان و نیز در میان زنان ایرانی است [۲، ۳]. بر اساس پژوهشی که به بررسی سرطان‌های رایج در استان مرکزی بین سال‌های ۱۳۸۰ تا ۱۳۸۵ پرداخته، سرطان پستان شایع‌ترین سرطان در جمعیت زنان گزارش شده است [۴]. PI3K^۱ با اتصال به گیرنده‌های تیروزین کینازی یا RTK^۲ گیرنده‌های جفت‌شده با پروتئین و اینتگرین فعال می‌شود. PI3K فعال شده فسفاتیدیل

اینوزیتول ۴ و ۵ پیس فسفات یا PIP₂^۳ را فسفریله و به فسفاتیدیل اینوزیتول ۳ و ۴ و ۵ تری‌فسفات^۴ تبدیل می‌کند [۵].

خانواده PI3K به ۸ زیرواحد کاتالیتیکی مجزا تقسیم می‌شوند که قادر به فسفریله کردن اینوزیتول لیپیدها هستند و بر اساس ساختار دمین پروتئینی، سوپسترای لیپیدی اختصاصی و نیز زیرواحدهای تنظیمی در سه کلاس مختلف (I و II و III) طبقه‌بندی می‌شوند [۵]. کلاس I آنزیمی بیشتر از دو کلاس دیگر مطالعه و بررسی شده است. این کلاس هترودیمیتر متشکل از دوزیرواحد کاتالیتیکی^۵ و تنظیمی^۶ است [۶]. با اتصال لیگاند به رسیپتور در سطح سلول و فعال شدن گیرنده‌های تیروزین کینازی، دمین SH2 از زیرواحد تنظیمی P85 به تیروزین فسفریله‌شده در

3. Phosphoinositol 4, 5 bisphosphate
4. PIP3 Phosphoinositol 3, 4, 5 Trisphosphate
5. P110
6. P85

1. Phosphatidylinositol 3- Kinase
2. Receptor Tyrosine Kinase

* نویسنده مسئول:

دکتر احمد همتا

نشانی: اراک، دانشگاه اراک، دانشکده علوم پایه، گروه زیست‌شناسی، کدپستی: ۳۸۱۸۶-۸-۸۳۳۹

تلفن: ۳۳۱۷۳۳۱۷ (۸۶) ۰۹۸

پست الکترونیکی: a-hamta@araku.ac.ir

دارویی مورد توجهی برای درمان سرطان است [۱۲].

مواد و روش‌ها

در این تحقیق با توجه به سوماتیک‌بودن جهش‌های ژن PIK3CA نمونه‌های بافت توموری در قالب بلوک‌های پارافینه از ۴۵ بیمار خانم مبتلا به سرطان پستان مربوط به سال‌های ۱۳۸۹ تا ۱۳۹۳ از آزمایشگاه پاتولوژی سینا، بیمارستان قدس، بیمارستان آیت‌الله خوانساری و بیمارستان امیرالمؤمنین استان مرکزی جمع‌آوری شدند. مشخصات نمونه‌ها شامل سن بیمار، درجه‌بندی تومور، سایز تومور، متاستاز به غدد لنفاوی و وضعیت هیستولوژیک تومور نیز تهیه شد. ۲۰ نمونه عادی شامل نمونه‌های خون و نمونه‌های بافتی سالم نیز به این مجموعه اضافه شد.

استخراج DNA

استخراج DNA از خون طبق دستورالعمل استخراج نمکی و استخراج DNA از بافت طبق دستورالعمل گیت PrimePrep Genomic DNA Isolation Kit from Tissue شرکت Ge-netBio انجام شد. به منظور تعیین کیفی DNA استخراج‌شده، از ژل آگارز ۱ درصد و به منظور تعیین غلظت (نانوگرم بر میکرولیتر) و خلوص آن (جذب ۲۶۰/۲۸۰ نانومتر) از دستگاه بیوفوتومتر استفاده شد.

واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR)

در این تحقیق برای آگزون ۹ و آگزون ۲۰ ژن PIK3CA، پک جفت پرایمر رو به جلو و برگشتی با استفاده از برنامه Primer-BLAST سایت NCBI طراحی شد. توالی آغازگرها در جدول شماره ۱ نشان داده شده است.

برنامه انجام PCR

برای تشخیص جهش‌های ژن PIK3CA، واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR) آگزون‌های ۹ و ۲۰ در حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر انجام شد. برنامه استفاده‌شده برای آگزون ۹ و ۲۰ شامل دمای واسرشته‌شدن اولیه در ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه

گیرنده فاکتور رشد تیروزین کینازی متصل می‌شود و اثر مهارتی زهرواحد تنظیمی از زهرواحد کاتالیتیکی P110 برداشته می‌شود. فعال‌سازی P110 باعث فسفریله‌شدن و تبدیل PIP2 به PIP3 می‌شود که پروتئین‌هایی را که دمین PH دارند مثل پروتئین کیناز b یا سرین‌ترنونین کیناز^۷ و پروتئین کیناز ۱ وابسته به فسفواینوزیتید^۸ را فعال می‌کند [۷].

فرم فعال‌شده z AKT تعدادی از پروتئین‌هایی که تنظیم متابولیسم (از طریق گلیکوژن سنتاز کیناز ۳)، کنترل ترجمه (از طریق P70S6 کیناز) و بقای سلولی (از طریق فاکتورهای رونویسی خانواده FORKHEAD و BAD و کاسپاز ۴) را هدایت می‌کنند فسفریله می‌کند. همچنین AKT به تنظیم چرخه سلولی از طریق سیکلین D1 و E2F مرتبط است [۸]. تغییر در هر دو زهرواحد کاتالیتیکی و تنظیمی می‌تواند منجر به افزایش فعالیت آنزیم و سرطانی‌شدن سلول شود، اما با توجه به مطالعات قبلی، تغییرات زهرواحد کاتالیتیکی شایع‌تر است. ژن‌گدگنده زهرواحد کاتالیتیکی کلاس ۱ نامیده می‌شود که جهش‌های خانواده آنزیمی آن در سرطان‌های مختلف از جمله سرطان پستان رایج است [۸، ۹].

بر اساس مطالعات گذشته، ژن PIK3CA تنها ژن از خانواده PI3K است که حامل جهش‌های سوماتیک است [۱۰]. جهش‌های ژن PIK3CA که در اکثر سرطان‌های اپی‌تلیال انسان شامل گلیوبلاستوما، سرطان معده، سرطان کبد و سرطان پستان گزارش شده است، منجر به تضعیف آپوپتوز و تسهیل حالت تهاجمی در تومور می‌شود [۱۱]. اکثر جهش‌های ژن PIK3CA در دو نقطه داغ دمین کینازی (آگزون ۲۰) و دمین هلیکالی (آگزون ۹) گزارش شده‌اند. جهش در سایر آگزون‌ها و دمین‌ها، مثل پایانه N از دمین اتصالی آناهپتور، دمین اتصالی به Ras و دمین اتصالی به غشا C۲ به‌ندرت مشاهده شده است [۹]. رده‌های سلول سرطانی حاوی جهش‌های ژن PIK3CA، حساسیت بالایی به مهارکننده‌های مسیر PI3K دارند و در نتیجه مسیر PI3K، هدف

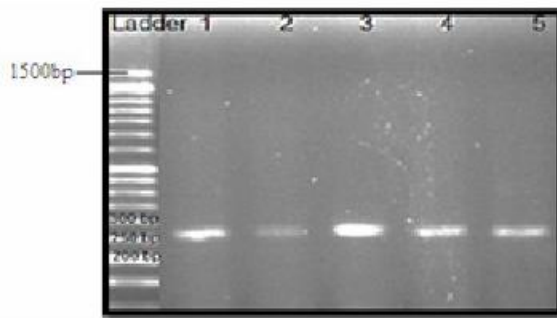
7. AKT

8. PDK-1

9. Phosphatidylinositol 4, 5 bisphosphate 3 kinase

جدول ۱. توالی آغازگرهای ژن PIK3CA

	Primer	Sequence	Length of product
Exon 9	Forward	5'-TCC AGA GGG GAA AAA TAT GAC-3'	۲۷۲bp
	Reverse	5'-TAT GGT AAA AAC ATG CTG AG-3'	
Exon 20	Forward	5'-AGA CCT GAA GGT ATT AAC ATC-3'	۱۹۴bp
	Reverse	5'-TCG AAT GTA TGC AAT GTC ATC-3'	



تصویر ۱. محصول PCR آگزون ۹

نمونه ۱ و ۲ و ۳ و ۴ بیمار و نمونه ۵ نرمال است. اندازه محصول PCR آگزون ۹ برابر ۲۷۲bp است. (Ladder استفاده شده ۵۰bp)

نوکلئوتیدی باند مربوط انجام پذیرفت.

آنالیز آماری

ارتباط جهش با چند فاکتور کلینیکی و پاتولوژیکی شامل سن بیمار، متاستاز به غدد لنفاوی، درجه، نوع هیستولوژیک تومور و نیز سایز تومور توسط نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶ و آزمون پیرسون کای اسکور بررسی شد. در تمام محاسبات تفاوت میانگین‌ها در سطح $P < 0.05$ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

پس از استخراج DNA از نمونه‌های بافت و خون، تعیین کیفی آن با کمک ژل آگارز ۱ درصد و تعیین خلط و خلوص DNA نیز توسط دستگاه بیوفوتومتر انجام شد. کیفیت مناسب باندها در ژل آگارز و نیز قرار داشتن نسبت جذب $260/280$ نانومتر در محدوده $1/8$ تا 2 نشانگر این بود که جذب عمدتاً مربوط به اسید نوکلئیک و خلوص DNA مناسب است. سپس PCR مربوط به آگزون ۹ و ۲۰ ژن PIK3CA انجام شد و برای اطمینان از انجام PCR، محصولات حاصل از PCR روی ژل آگارز ۲ درصد برده شدند (تصویر شماره ۱).

پس از تنظیم شرایط PCR برای هر دو آگزون تغییرات نمونه‌ها با تکنیک SSCP (روش غربالگری اولیه برای تشخیص جهش) بررسی شد. تصویر شماره ۲، ژل آکرل امید آگزون ۲۰ را نشان می‌دهد. برای اطمینان از ارتباط بین تغییر الگوی باندها با جهش تعدادی از نمونه‌هایی که مجدداً الگوی باندها متفاوتی از نمونه‌های نرمال را نشان دادند توالی‌یابی شدند.

از بین ۴۵ نمونه بلوک بافتی تومور پستان جمع‌شده از استان مرکزی، ۲۶/۶ درصد جهش مشاهده شد که ۷۵ درصد آن در آگزون ۹ و ۲۵ درصد در آگزون ۲۰ قرار داشتند و تغییری در الگوی باندها هیچ‌یک از نمونه‌های نرمال در ژل SSCP دیده نشد. در نتیجه، جهش‌های ژن PIK3CA به بافت توموری (سوماتیک

و ۳۰ سیکل PCR به ترتیب با دمای واسرشته‌شدن ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه، دمای اتصال ۵۸ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه و دمای تکثیر ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه و تکثیر نهایی در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه انجام شد.

الکتروفورز محصولات PCR

با کمک الکتروفورز ژل آگارز ۲ درصد صحت تکثیر PCR تأیید شد.

تکنیک SSCP

در این مطالعه از تکنیک SSCP (چندشکلی ساختمانی در DNA تکرار شده‌ای) به عنوان روش اصلی شناسایی جهش استفاده شد. زیرا تکنیک SSCP روشی ساده و مؤثر و قابل اعتماد برای تشخیص تغییرات توالی در لکوس‌های ژنومی است. این تکنیک بر خلاف توالی‌یابی مستقیم حساسیت نسبتاً بالایی برای شناسایی جهش‌ها، حتی در حضور آلودگی به DNA نرمال دارد. در نتیجه، از ضرورت نیاز به روش تعیین توالی می‌کاهد. تکنیک SSCP پس از بهینه‌سازی‌های متعدد در ژل آکرل امید ۱۲ درصد، حاوی گلیسرول ۵ درصد برای مشخص کردن جهش‌ها استفاده شد. برای دناتور کردن محصول PCR از بافر بارگذاری SSCP شامل برومو فنول پلو ۵/۰۵ درصد، زاپلین سیانول ۵/۰۵ درصد، NaOH ۱۰ میلی‌مولار و فرمامید ۳۰ درصد استفاده شد.

بعد از مخلوط کردن ۸ μ l محصول PCR با ۸ μ l بافر بارگذاری SSCP و نیز ۱۶ μ l آب دیونیزه اتوکلاو شده، نمونه‌ها به منظور دناتور شدن DNA به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد و سپس برای پایداری ساختار تکرار شده DNA به مدت ۵ دقیقه روی یخ قرار گرفتند. در نهایت ۱۵ μ l از این مخلوط روی ژل آکرل امید بارگذاری شد و الکتروفورز در ولتاژ ۱۰۰۰ به مدت ۱۴ ساعت در دمای ثابت ۴ درجه سانتی‌گراد در حضور بافر TBE 0.5X انجام شد. سرانجام، ژل توسط روش نیترات نقره رنگ‌آمیزی شد. با توجه به اینکه در روش SSCP تفاوت الگوی باندها نمونه‌های بیمار در مقایسه با نمونه‌های نرمال، بیانگر وجود جهش است، این تفاوت‌ها به‌دقت روی ژل آکرل امید بررسی شد.

توالی‌یابی

تعدادی از نمونه‌هایی که الگوی باندها متفاوتی روی ژل آکرل امید در مقایسه با نمونه نرمال داشتند، بعد از اینکه سه بار SSCP برای آن‌ها تکرار شد و باز هم تفاوت را نشان دادند، برای اطمینان از ارتباط بین تغییر الگوی باندها با جهش و تعیین نوع جهش، به شرکت Bioneer کره جنوبی ارسال شدند و در آنجا توالی‌یابی

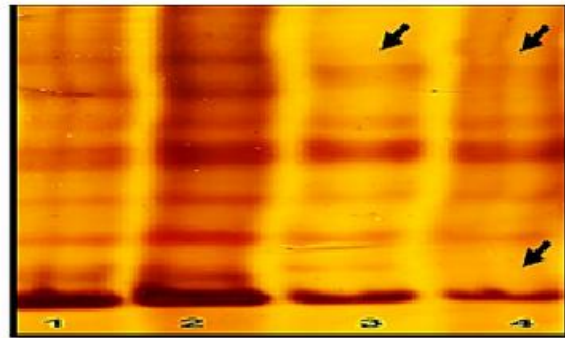
چشمگیری بر ساختار پروتئین خواهد داشت.

جهش دیگری که در آگزون ۹ مشاهده شد تبدیل نوکلئوتید A به C یا A1634C (E545A) را نشان داد که باعث تغییر رمز اسید آمینه گلوتامیک اسید (کدون GAG) به آلانین (کدون GCG) می‌شود (تصویر شماره ۳). گلوتامیک اسید قطبی و اسیدی است، در حالی که آلانین، غیرقطبی و خنثی است. این جهش نیز بر ساختار پروتئین اثر مهمی خواهد گذاشت. با توجه به اینکه هر دو کدون ۵۴۲ و ۵۴۵ تشکیل دهنده ساختار بیرونی پروتئین هستند، تأثیر چشمگیری بر ساختار پروتئین و برهم‌کنش پروتئین پروتئین خواهند گذاشت [۱۳].

در این مطالعه ارتباط جهش‌های ژن PIK3CA با تعدادی از فاکتورهای کلینیکوپاتولوژیکی مشخص شد (جدول شماره ۲). با توجه به اطلاعات جدول زیر مقدار P برای تمام فاکتورهای بررسی شده بزرگتر از ۰/۰۵ است که بیانگر آن است که بین جهش در ژن PIK3CA و فاکتورهای بررسی شده ارتباط معنی‌داری وجود ندارد.

بحث

در این تحقیق جهش‌های آگزون ۹ و ۲۰ ژن PIK3CA در

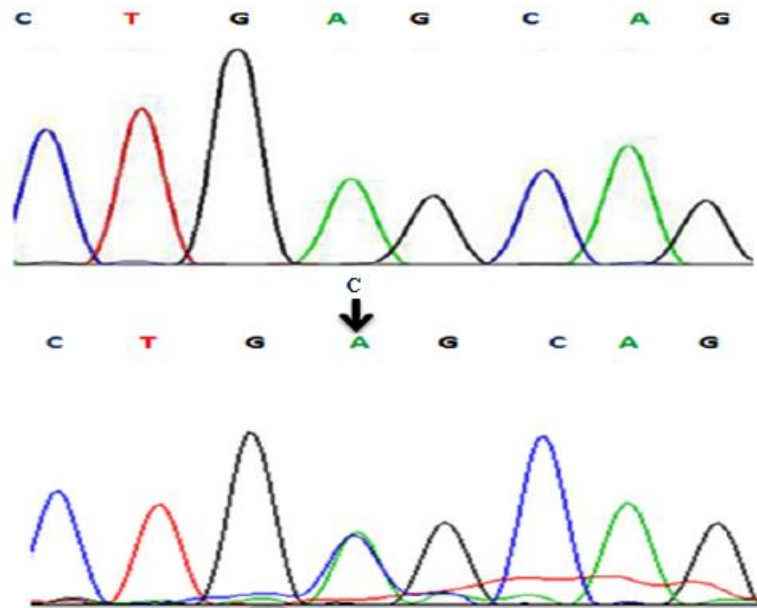


تصویر ۲. نمونه‌ای از ژل SSCP برای آگزون ۲ رنگ‌آمیزی شده با نیترات نقره. نمونه ۲ نمونه نرمال (کنترل منفی)، نمونه ۱ بیمار فاقد جهش، نمونه ۳ و ۴ بیمار دارای جهش (دارای جهش متفاوت به علت الگوی باندهای متفاوت از همدیگر و نیز متفاوت از نمونه نرمال) هستند. فلش‌ها بیانگر تفاوت‌های الگوی باندهای بیمار ۳ و ۴ در مقایسه با نمونه نرمال (نمونه ۲) هستند.

بودن جهش) محدود هستند. تعیین توانی آگزون ۹ دو جهش شایع G1624A و A1634C را نشان داد. جهش متداول تبدیل نوکلئوتید G به A یا G1624A E542K) باعث تغییر رمز اسید آمینه گلوتامیک اسید (کدون GAA) به لیزین (کدون AAA) می‌شود. با توجه به اینکه گلوتامیک اسید، اسید آمینه‌ای قطبی با بار منفی و لیزین، اسید آمینه بازی است، این جهش تأثیر

جدول ۲. بررسی ارتباط جهش‌های ژن PIK3CA با چند فاکتور کلینیکوپاتولوژیکی.

P	χ^2	درصد جهش	فاکتور کلینیکوپاتولوژیکی
۰/۲۰۸	۱/۵۸۵	۶۷	کمتر یا مساوی ۴۸
		۳۳	بیشتر از ۴۸
۰/۰۵۴	۲/۰۷۵	۴۲	درجی متاستاز
		۵۸	فاقد متاستاز
		۲۵	Grade I
۰/۵۷	۱/۱۳۴	۵۹	Grade II
		۱۶	Grade III
		۸	لیولار مهاجم ILC
		۷۵	مجرای مهاجم IDC
۰/۲۱۶	۲/۰۴۲	۱۷	مجرای درجا DCIS
		۰	مدولار
		۰	موسینی
۰/۸۹۵	۰/۰۶۷	۳۲	کمتر یا مساوی ۲۵
		۵۸	بیشتر از ۲۵



تصویر ۳

تصویر ۳. جهش A1634C (E545A) در آگزون ۹. توالی نرمال (تصویر بالا) و جهش‌یافته آگزون ۹ (تصویر پایین). جهش باعث تبدیل باز آنتین به سینوزین شده است. در این جهش کنون GAG (اسید آمینه گلوتامیک‌اسید) به کنون GCG (اسید آمینه آلانین) تبدیل شده است.

در جمعیت مورد مطالعه نقش دارند. ضمناً تفاوت نوع جهش‌ها در این مطالعه با مطالعات دیگر بیانگر اثر متفاوت عوامل جهش‌زا و سبک زندگی و تفاوت‌های جمعیتی در نمونه‌های مطالعه‌شده است. در این مطالعه تجزیه و تحلیل آماری تفاوت معنی‌داری بین سن بیمار و جهش در ژن PIK3CA نشان نداد. نتایج برخی مطالعات گذشته با نتایج مطالعه حاضر همخوانی دارد [۱۳، ۲۰]. نتایج مطالعه حاضر ارتباط معنی‌داری بین جهش و متاستاز به غدد لنفاوی نشان نداد که با نتایج بسیاری از تحقیقات گذشته مطابقت دارد [۱۴، ۱۵، ۱۸، ۱۰]. تجزیه و تحلیل آماری ارتباط معنی‌داری بین درجه بافتی تومور و جهش نشان نداد که با برخی مطالعات پیشین مطابقت دارد [۱۵، ۱۶، ۱۸].

در این تحقیق بین جهش و نوع هیستولوژیک تومور ارتباط معنی‌داری مشاهده نشد که با نتایج برخی مطالعات همخوانی دارد [۱۳، ۱۸، ۱۹]. محاسبات آماری ارتباط معنی‌داری بین جهش و سایز تومور نشان نداد که با مطالعه بوتیتا و همکاران (۲۰۰۶) مشابه است [۲۰]. در این مطالعه بین جهش‌ها با فاکتورهای کلینیکوپاتولوژیکی ارتباط معنی‌داری مشاهده نشد. این نتایج با نتایج حاصل از اکثر مطالعات پیشین مطابقت دارد.

نتایج این تحقیق حاکی از آن است که PBK به عنوان یک ژن پروتوآنکوژن می‌تواند نقش کلیدی در تومورزایی پستان بازی کند. در نتیجه، تعیین جهش‌های فعال‌کننده ژن PIK3CA می‌تواند در درمان سرطان پستان با استفاده از مهارکننده‌های فعالیت کیناز این آنزیم مؤثر باشد. به منظور ارتقای پژوهش در این زمینه،

سرطان پستان و در جمعیت استان مرکزی با کمک تکنیک SSCP و توالی‌یابی مطالعه شدند و ۲۶/۶ درصد جهش درون این ژن شناسایی شد که درصد بالایی از آن در آگزون ۹ قرار داشت. درصد نسبتاً بالای جهش در ژن PIK3CA بیانگر نقش آنکوژنیک آن در تومورزایی و ایجاد سرطان پستان است. میزان جهش‌های ژن PIK3CA در سرطان پستان در جمعیت‌های مختلف متفاوت است. در استرالیا میزان جهش ۸ تا ۴۰ درصد [۱۵، ۱۱]. در سنگاپور ۳۹ درصد [۱۶]. در ایتالیا ۲۸ درصد [۱۷] و در ژاپن ۲۹ درصد [۱۸] است. در ایران تاکنون مطالعات جامعی در این باب انجام نشده است، اما در استان اصفهان ۲۸ درصد جهش در ژن PIK3CA [۱۹] گزارش شده است.

در ۲۰ نمونه نرمال هیچ تغییری مشاهده نشد و می‌توان نتیجه گرفت که جهش‌های گزارش‌شده در این تحقیق غیر تصادفی و وابسته به بیماری هستند. هر دو جهش E545A و E542K که در این مطالعه مشاهده شدند در آگزون ۹ قرار داشتند. جهش در دمین هلیکالی (آگزون ۹) اثر مهاری زهرواحد تنظیمی P85 روی زهرواحد کاتالپتیکی P11۰ را برداشته است و موجب افزایش فعالیت PIK3CA می‌شود [۱۷]. از طرفی، جهش در کنون ۵۴۵ و ۵۴۲ در آگزون ۹ که در سطح بیرونی پروتئین قرار دارند، تأثیر قابل ملاحظه‌ای روی برهم‌کنش پروتئین‌پروتئین و سایر برهم‌کنش‌های مولکولی خواهد گذاشت [۱۳].

در نتیجه، جهش‌های شناسایی‌شده در این مطالعه از طریق فعال کردن مسیر PI3K در بیماری‌زایی و پیشرفت سرطان پستان

References

- [1] Pecorino L. Molecular biology of cancer: Mechanisms, targets, and therapeutics: Oxford University Press; 2012.
- [2] Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. CA: A Cancer Journal for Clinicians. 2011; 61(2):69-90. doi: 10.3322/caac.20107
- [3] Sadjadi A, Nourae M, Mohagheghi MA, Mousavi-Jarrahi A, Malekezadeh R, Donald Maxwell P. Cancer occurrence in Iran in 2002, an international perspective. Asian Pacific Journal of Cancer Prevention. 2005; 6(3):359.
- [4] Mohaghegh F, Hamta A. [The study of cancer incidence and cancer registration in Markazi province between 2001-2006 and comparison with national statistics, Iran (Persian)]. Arak Medical University Journal. 2008; 11(2):84-93.
- [5] Foster FM. The phosphoinositide (PI) 3-kinase family. Journal of Cell Science. The Company of Biologists; 2003; 116(15):3037-40. doi: 10.1242/jcs.00609
- [6] Ligresti G, Militello L, Steelman LS, Cavallaro A, Basile F, Nicoletti F, et al. PIK3CA mutations in human solid tumors: Role in sensitivity to various therapeutic approaches. Cell Cycle. 2009; 8(9):1352-8. doi: 10.4161/cc.8.9.8255
- [7] Vivanco I, Sawyers CL. The phosphatidylinositol 3-Kinase-AKT pathway in human cancer. Nature Reviews Cancer. 2002; 2(7):489-501. doi: 10.1038/nrc839
- [8] Akinleye A, Avvaru P, Furqan M, Song Y, Liu D. Phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K) inhibitors as cancer therapeutics. Journal of Hematology & Oncology. 2013; 6(1):88. doi: 10.1186/1756-8722-6-88
- [9] L Troxell M. PIK3CA/AKT1 Mutations in Breast Carcinoma: a Comprehensive Review of Experimental and Clinical Studies. Journal of Clinical & Experimental Pathology. 2012; 2(S1):002. doi: 10.4172/2161-0681s1-002
- [10] Bachman KE, Argani P, Samuels Y, Silliman N, Ptak J, Szabo S, et al. The PIK3CA gene is mutated with high frequency in human breast cancers. Cancer Biology & Therapy. Informa UK Limited. 2004; 3(8):772-5. doi: 10.4161/cbt.3.8.994
- [11] Samuels Y, Diaz LA, Schmidt-Kittler O, Cummins JM, DeLong L, Cheong I, et al. Mutant PIK3CA promotes cell growth and invasion of human cancer cells. Cancer Cell. 2005; 7(6):561-73. doi: 10.1016/j.ccr.2005.05.014
- [12] Miller TW. Initiating breast cancer by PIK3CA mutation. Breast Cancer Research. 2012; 14(1). doi: 10.1186/bcr3103
- [13] Levine DA. Frequent mutation of the PIK3CA gene in ovarian and breast cancers. Clinical Cancer Research. 2005; 11(8):2875-8. doi: 10.1158/1078-0432.ccr-04-2142
- [14] Cizkova M, Susini A, Vacher S, Cizeron-Clairac G, Andrieu C, Driouch K, et al. PIK3CA mutation impact on survival in breast cancer patients and in ER α , PR and ERBB2-based subgroups. Breast Cancer Research. 2012; 14R28. doi: 10.1186/bcr3113
- [15] Campbell IG. Mutation of the PIK3CA gene in ovarian and breast cancer. Cancer Research. 2004; 64(21):7678-81. doi: 10.1158/0008-5472.can-04-2933
- [16] Liang X, Lau QC, Salto-Tellez M, Putti TC, Loh M, Sukumar S. Mutational hotspot in Exon 20 of PIK3CA in breast cancer among

انجام راهکارهایی نظیر: بررسی جهش‌های ژن PIK3CA در تمداد بیشتری از نمونه‌های سرطان پستان، بررسی جهش‌های سایر آگزون‌های این ژن، بررسی بیان و میزان رونوشت‌های این ژن در بیماران، بررسی اثر مهارکننده‌های PIK3CA در کاهش علائم بیماری و بررسی ارتباط جهش در این ژن با جهش در دیگر ژن‌های مهم در تومورزایی پیشنهاد می‌شود.

تشکر و قدردانی

این مطالعه از پایان‌نامه مقطع کارشناسی ارشد خانم نرگس شریف در گروه زیست‌شناسی دانشگاه اراک گرفته شده است. نویسنده بر خود لازم می‌داند از زحمات مسئولان آزمایشگاه تحقیقاتی دانشگاه اراک تشکر و سپاسگزاری کند.

- Singapore Chinese. *Cancer Biology & Therapy*. 2006; 5(5):544-8. doi: 10.4161/cbt.5.5.2656
- [17] Barbareschi M, Buttitta F, Felicioni L, Cotrupi S, Barassi F, Del Grammastro M, et al. Different prognostic roles of mutations in the helical and kinase domains of the PIK3CA gene in breast carcinomas. *Clinical Cancer Research*. 2007; 13(20):6064-9. doi: 10.1158/1078-0432.ccr-07-0266
- [18] Maruyama N, Miyoshi Y, Taguchi T, Tamaki Y, Monden M, Noguchi S. Clinicopathologic analysis of breast cancers with PIK3CA mutations in Japanese women. *Clinical Cancer Research*. 2007; 13(2):408-14. doi: 10.1158/1078-0432.ccr-06-0267
- [19] Gharbi S, Faghihi M, Tavassoli M. A Novel PIK3CA hotspot mutation in Isfahanian Breast cancer patients. *Cancer Investigation*. 2011; 29(4):313-7. doi: 10.3109/07357907.2010.550593
- [20] Buttitta F, Felicioni L, Barassi F, Martella C, Paolizzi D, Fresu G, et al. PIK3CA mutation and histological type in breast carcinoma: high frequency of mutations in lobular carcinoma. *Journal of Pathology*. 2006; 208(3):350-5. doi: 10.1002/path.1908