Arak Medical University Journal (AMUJ) *Original Article*
2017; 20(121): 55-65

Association of EGFR Gene Common Mutations with Uterine Fibroids in Iranian Affected Women

Paria Nikpey[1], Tahereh Nazari[2], Shadi Khalili[1], Ahmad Ebrahimi[3*]

1. MSc of Genetic Cellular and Molecular Biology, Subfield of Genetics, Payam-e-Noor University of Tehran, Tehran, Iran
2. Ph.D. Student, Department of Medical Genetic, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
3. Assistant Professor, PhD in Molecular Genetics, Yass Medical Genetic lab, Tehran, Iran

Received: 4 Apr 2017, Accepted: 10 Jun 2017

Abstract

Background: Uterine myomas are benign tumors of the uterus which are derived from smooth muscle cells of the myometrium. Genetic factors play a major role in the progression of the disease. One of the most important genes which have impression in the mechanism of formation of the myoma is epidermal growth factor receptor (EGFR) that plays a basic role in the process of cell growth, differentiation, proliferation and mitogenesis. The aim of this study is survey of EGFR gene common mutations in Iranian women with uterine myomas. In this test, the common mutations of the exon 21 and 19 in the EGFR gene were surveyed.

Materials and Methods: In this case-control study, 80 women with myoma and 80 healthy women were studied as control. For checking deletion mutation of the Exon 19 (rs121913438), the Tetra ARMS/PCR method has been used and also for checking point mutation of the exon 21(rs121434568), the ARMS/PCR method has been used and results of the experiments were analyzed via $\chi 2$ test.

Results: The comparison of the genotypes frequency of exon 21 (TT, TG, GG) and exon 19 (WW, WD, DD) related to EGFR gene in two groups of patients and control with using statistical test respectively represents the significant difference (p=1.320e-16) and (p=3.053e-13) in the different genotypes frequency among the patients and control groups.

Conclusion: The results of research indicate a significant relationship between EGFR gene mutations in exon 19 and exon 21 and potential for myoma in the studied population.

Keywords: Common mutations, EGFR gene, Uterine fibroids.

*Corresponding Author:
Address: Yass Medical Genetic lab, Tehran, Iran
Email: ae35m@yahoo.com

پژوهشی

مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اراک

سال ۲۰، شماره ۴ (شماره پیاپی ۱۲۱)، تیر ۱۳۹۶، ۶۵-۵۵

ارتباط جهش‌های شایع ژن EGFR و فیبروئیدهای رحمی در زنان مبتلای ایرانی

پریا نیک پی[۱]، طاهره نظری[۲]، شادی خلیلی[۱]، احمد ابراهیمی[۳*]

۱. کارشناس ارشد زیست شناسی سلولی و مولکولی، گرایش ژنتیک، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

۲. دانشجوی دکترا، گروه ژنتیک پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

۳. استادیار، دکترای ژنتیک مولکولی، آزمایشگاه ژنتیک پزشکی یاس، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۹۶/۱/۱۵ تاریخ پذیرش: ۹۶/۳/۲۰

چکیده

زمینه و هدف: فیبروئیدهای رحمی، تومورهای خوش خیم رحمی هستند که از سلول‌های عضلات صاف میومتر منشاء می‌گیرند. عوامل ژنتیکی نقش اصلی را در پیشرفت این بیماری ایفا می‌کنند. یکی از مهم‌ترین ژن‌هایی که در مکانیسم تشکیل میوم نقش دارد، ژن گیرنده‌ی فاکتور رشد اپیدرمال(EGFR) است که در روند رشد سلولی، تمایز، تکثیر و میتوژنزیس نقش اساسی را ایفا می‌کند. هدف از این مطالعه، بررسی جهش‌های شایع ژن EGFR در زنان ایرانی مبتلا به فیبروئیدهای رحمی می‌باشد. در این آزمون جهش‌های رایج اگزون ۲۱ و ۱۹ در ژن EGFR مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه مورد- شاهدی، ۸۰ زن مبتلا به میوم و ۸۰ زن سالم به عنوان شاهد مورد مطالعه قرار گرفتند. برای بررسی جهش حذف اگزون ۱۹ (rs121913438) از روش *Tetra ARMS/PCR* و برای بررسی جهش نقطه‌ای اگزون ۲۱ (rs121434568) از روش ARMS/PCR استفاده شد و نتایج آزمایشات با استفاده از آزمون $\chi 2$ تجزیه و تحلیل گردید.

یافته‌ها: مقایسه فراوانی ژنوتیپ‌های اگزون ۲۱ (TT، TG، GG) و اگزون ۱۹ (WW، WD، DD) در دو گروه بیماران و شاهد به کمک آزمون آماری به ترتیب نشان دهنده‌ی وجود اختلاف معنی‌دار((۱۶)- e ۱/۳۲۰ = p) و ((۱۳)- e ۳/۰۵۳ = p) درفراوانی ژنوتیپ‌های مختلف بین بیماران وگروه شاهد بود.

نتیجه گیری: نتایج تحقیق حاکی از وجود ارتباط معنی‌دار بین جهش‌های اگزون ۱۹ و اگزون ۲۱ ژن EGFR و استعداد ابتلا به میوم در جمعیت مورد مطالعه می‌باشد.

واژگان کلیدی: ژن EGFR، جهش‌های شایع، فیبروئیدهای رحمی

* **نویسنده مسئول:** ایران، تهران، آزمایشگاه ژنتیک پزشکی یاس

Email: ae35m@yahoo.com

مقدمه

متیوبیل اولین نفری بود که میوم را در سال ۱۷۹۳ توصیف کرد(۱). فیبروم رحمی، میوم یا لیومایوما یا Uterine fibroids تومورهای خوش‌خیم و با حاشیه‌ی کاملا مشخص هستند که از سلول‌های عضلات صاف رحم منشاء می‌گیرند(۲- ۴). فیبروئیدهای رحمی در صورت پیشرفت شرایطی را برای بیمار ایجاد می‌کند که باعث برداشتن رحم یا همان هیسترکتومی می‌شود. متأسفانه در دنیای مدرن بدون توجه به عوارض عدم وجود رحم، این عضو حیاتی را به راحتی از بدن خارج می‌کنند(۳).

شیوع لیومیوم‌ها بیش از ۷۰ درصد برآورد می‌شود که علائم کلینیکی آن اغلب در سنین ۳۰ تا ۴۰ سالگی نمایان می شود(۵، ۶). فیبروئیدهای رحمی، یکی از دلایل اصلی جراحی در زنان به شمار می‌رود که بیش از ۲۰۰ هزار مورد میومکتومی یا هیسترکتومی در سال را شامل می‌شود(۵، ۷).

کثر موارد میوم بدون علامت است اما علایم بالینی آن در ۲۵ درصد زنان بروز می‌کند و شامل خون‌ریزی‌های شدید و قاعدگی‌های طولانی و مکرر، درد و فشار در حفره رحم، خون‌ریزی بین دوره‌های قاعدگی، بزرگ شدن شکم، کمر درد و پا درد، درد در حین رابطه جنسی و اختلال در عملکرد دستگاه تولید مثلی است(۸).

در سال ۲۰۱۶ بر اساس یک مطالعه تحقیقاتی PubMed و MEDLINE، تمام اطلاعات اپیدمیولوژی اخیر(سال‌های ۲۰۱۳-۱۹۹۰) مرتبط با ایجاد بیماری میوم با استفاده از کلید واژه‌هایی هم‌چون میوم، لیومیوم، فیبروئید، شیوه‌ی زندگی، میومکتومی، سیگار کشیدن، الکل، ویتامین‌ها، رژیم غذایی و هیسترکتومی مرور گردیده شد(۹). به طور کل فاکتورهای هورمونی، فاکتورهای رشد، مولکول‌های زیستی و فاکتورهای ژنتیکی از عوامل ایجاد کننده‌ی میوم رحمی هستند که به نظر می‌رسد عوامل ژنتیکی نقش اصلی را ایفا می‌کنند(۳). بر اساس سوابق مطالعات انجام شده به نظر می‌رسد یکی از مهم‌ترین ژن‌هایی که در مکانیسم تشکیل میوم نقش دارد ژن گیرنده‌ی فاکتور رشد اپیدرمال(EGFR) می‌باشد که در روند رشد سلولی، تمایز، تکثیر و میتوژنزیس نقش اساسی را ایفا می‌کند(۱۰- ۱۴) و هر گونه تغییر در این ژن باعث اختلال در عملکرد EGFR می‌شود و سلول را به سمت سرطانی شدن پیش می‌برد(۱۵- ۱۹). در سال ۲۰۰۴ یک مطالعه تحقیقاتی در ارتباط با جهش‌های شایع ژن EGFR و استعداد ابتلا به بدخیمی‌ها انجام گرفت. بر این اساس شایع‌ترین نوع جهش که در ۴۵ درصد موارد جهش EGFR دیده شده حذف تغییر غالب ۹، ۱۲، ۱۵، ۱۸ یا ۲۴ نوکلئوتید در اگزون ۱۹ می‌باشد. دومین جهش شایع که در ۴۵ درصد دیگر از موارد جهش EGFR دیده شد جهش نقطه‌ای (CTG به CGG) در نوکلئوتید ۲۵۷۳ از اگزون ۲۱ می‌باشد که منجر به جایگزین شدن اسید آمینه لوسین به آرژنین در کدون ۸۵۸ خواهد شد(۲۰). با توجه به مطالعات اخیر به نظر می‌رسد که ارتباط معنی‌داری بین جهش ژن EGFR و استعداد ابتلا به میوم‌های رحمی وجود دارد و از آن‌جایی که که در حدود ۲۸ درصد موارد سرطان اندومتر ممکن است با میوم ارتباط داشته باشد، لذا به نظر می‌رسد بررسی جهش‌های شایع ژن EGFR می‌تواند راه گشای مناسبی جهت تسهیل پیش‌گیری، تشخیص و درمان در زنان مبتلا به بیماری میوم باشد. اهمیت این موضوع و هم‌چنین عدم وجود مطالعاتی همانند تحقیق حاضر در کشور ضرورت انجام این تحقیق را افزون کرده است. لذا هدف از این مطالعه بررسی جهش‌های شایع ژن EGFR در زنان ایرانی مبتلا به فیبروئیدهای رحمی می‌باشد. در این آزمون جهش‌های رایج اگزون ۲۱ و ۱۹ در ژن EGFR مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه که بر اساس موردی- شاهدی صورت گرفته است، از دو گروه نمونه‌های خون تهیه شد.گروه اول شامل۸۰ فرد با بیماری میوم بودند که جهت انجام لاپاراسکوپی به بیمارستان تخصصی میرزا کوچک خان مراجعه نموده که پس از مشخص شدن نتیجه لاپاراسکوپی و معاینات بالینی و معرفی آن‌ها به عنوان گروه بیمار، انتخاب و مشخصات این افراد در قالب پرسش‌نامه‌ای جمع‌آوری گردید. گروه دوم شامل ۸۰ فرد سالم(عدم ابتلا به میوم) با در نظر گرفتن سوابق پزشکی بودند که نمونه‌های خون آن‌ها به عنوان گروه شاهد در نظر گرفته شدند. مشارکت کلیه‌ی افراد در پژوهش حاضر و کسب اطلاعات بالینی لازم پس از اخذ رضایت‌نامه‌ی کتبی از افراد شاهد و بیمار و مطلع‌سازی آن‌ها از هدف تحقیق صورت گرفت. معیارهای ورود شامل داشتن رضایت‌نامه‌ی کتبی، جنس، نژاد و ابتلا یا عدم ابتلا به بیماری میوم می‌باشد و هم‌چنین معیارهای خروجی احتمال بدخیمی‌های رحمی از جمله اندومتریوز می‌باشد.

نمونه‌گیری نمونه‌های خون گروه‌های بیمار و کنترل با حجم ۵ سی‌سی در لوله‌های حاوی ماده‌ی ضد انعقاد اتیلن دی آمین ترا

استیک اسید(EDTA ذخیره گشتند و تا زمان استخراج در دمای ۴°c نگهداری شدند.

استخراج DNA

در این تحقیق با توجه به کمیت و کیفیت مناسب DNA حاصله برای انجام PCR و هم‌چنین نسبتاً بی‌ضرر بودن محلول‌های مورد استفاده در این روش، DNA بیماران را با روش کلروفرم استخراج نمودیم. پس از استخراج DNA از نمونه‌های مورد تحقیق به منظور ارزیابی کمیت و کیفیت DNA و آگاهی از غلظت و میزان خالص بودن آن جذب نمونه نوری DNA با استفاده از اسپکتروفتومتری(Nanodrop) در طول موج‌هایnm ۲۶۰ و nm ۲۸۰ همراه بررسی در ژل آگارز یک درصد بررسی شد.

تعیین ژنوتیپ نمونه‌ها(ژنوتایپینگ)

در این آزمون جهش‌های رایج اگزون ۲۱ و ۱۹ در ژن EGFR مورد بررسی قرار گرفت.برای بررسی جهش حذف اگزون ۱۹ با rs121913438 از روش Tetra ARMS/PCR و برای بررسی جهش نقطه‌ای اگزون ۲۱ با rs121434568 از روش ARMS/PCR استفاده شد. برای تکثیر ناحیه‌ی مورد نظر در اگزون ۱۹ و ۲۱ ژن EGFR از پرایمرهای اختصاصی به ترتیب مطابق با جداول ۱ و ۲ استفاده شده است.

جدول ۱. مشخصات کلی پرایمر ۱۹

نام پرایمرها	CG%	حجم پرایمرها (µL)	توالی	TM	غلظت نهایی (نانو مول)	تعداد بازها
EGFR- Exon 19 – FC	۵۰	۰/۳	GTAAGATCCACCCAGATCACTG	۵۵/۸	۱۰۰	۲۲
EGFR- Exon 19 - RC	۵۰	۰/۳	GTGTCAAGAAACTAGTGCTGGG	۵۵/۷	۱۰۰	۲۲
EGFR – Exon 19 – FM	۴۲/۳	۰/۷	GTTGGCTTTCGGAGATGT	۵۶/۳	۱۰۰	۲۶
EGFR- Exon 19 - RN	۴۵/۴	۰/۷	TTTGATAGCCCGTCGCTATCAAGGAATTAA	۵۶/۶	۱۰۰	۲۲

جدول ۲. مشخصات کلی پرایمر ۲۱

نام پرایمرها	CG%	حجم پرایمرها (µL)	توالی	TM	غلظت نهایی (نانو مول)	تعداد بازها
EGFR-Exon21-FC	۵۰	۰/۵	TGACCCTGAATTCGGATGCA	۵۸/۸	۱۰۰	۲۰
EGFR- Exon21-RN	۵۶/۵	۱	TTCCGCACCCAGCAGTTTGGCTA	۶۵/۶	۱۰۰	۲۳
EGFR- Exon21- RM	۵۷/۸	۱	CGCACCCAGCAGTTTGGTT	۶۰/۹	۱۰۰	۱۹

جهت انجام واکنش PCR برای اگزون ۲۱ ژن EGFR، مخلوط واکنش با حجم نهایی ۱۲ µL درون لوله های اپندورف (0.2ml) مطابق غلظت‌های زیر فراهم گردید:

- Tag DNA polymerase Master Mix RED: 6 µL
- Primer: 0.9 µL
- Water: 3.1 µL
- DNA: 2 µL

جهت انجام واکنش PCR برای اگزون ۱۹ ژن EGFR، مخلوط واکنش با حجم نهایی ۲۰ µL درون لوله‌های اپندورف (0.2ml) مطابق غلظت‌های زیر فراهم گردید:

- Tag DNA polymerase Master Mix RED: 10 µL
- Primer: 1.5 µL
- Water: 5.5 µL
- DNA: 3 µL

جهت تهیه‌ی کنترل منفی به جای DNA از آب مقطر و جهت تهیه‌ی کنترل مثبت از نمونه‌ی DNAی که قطعا مثبت می‌باشد استفاده شد.

نمونه‌ها در دور بالا به مدت ۳۰ ثانیه سانتریفوژ گردید و سپس جهت انجام واکنش PCR برای اگزون های ۱۹ و ۲۱ ژن EGFTR، نمونه ها در دستگاه ترمو سایکلر به ترتیب مطابق با برنامه ی ذکر شده در جداول ۳ و ۴ قرار داده شد.

جدول ۳. برنامه‌ی مورد استفاده جهت انجام PCR اگزون ۱۹ ژن EGFR

PCR Programs		
Initial denaturation	95°C for 5 min	
cycles:	START LOOP	35X
	Denaturation	95°C for 35 Sec
	Annealing	*61.5*°C for 40 Sec
	Extension	72°C for 40 Sec
Final Extension	72°C for 5 min	
Soak	10°C	

جدول ٤. برنامه‌ی مورد استفاده جهت انجام PCR اگزون ۲۱ ژن EGFR

PCR Programs		
Initial denaturation	95°C for 5 min	
cycles:	START LOOP	35X
	Denaturation	95°C for 35 Sec
	Annealing	*65*°C for 35 Sec
	Extension	72°C for 40 Sec
Final Extension	72°C for 5 min	
Soak	10°C	

پس از انجام واکنش PCR برای تایید محصول واکنش روی ژل آگارز ۲ درصد برده شد و در کنار نشان‌گر و رنگ‌آمیزی اتیدیوم بروماید الکتروفورز انجام شد. پس از پایان الکتروفورز با استفاده از دستگاه ژل داک و به کمک نور UV طول قطعات با طراحی پرایمرهای مورد نظر مورد بررسی قرار گرفتند.

آنالیز آماری در این مطالعه به منظور تفسیر نتایج به دست آمده از تحقیقات آزمایشگاهی، آنالیز آماری با نرم افزارSPSS انجام گرفت. تفاوت‌های بین متغیرهای طبقه‌بندی شده، توزیع ژنوتیپ و معادله‌ی هاردی-واینبرگ با آنالیزChi-Square (χ^2) آزمایش شدند. ارتباط بین ریسک ژنوتیپ‌ها و بیماری با Odd Ratio (OR) و هم‌چنین پارامترهایی مانند P و Confidence (CI) Interval نیز تعیین شد.

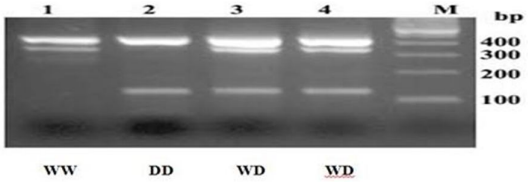
یافته‌ها

در این مطالعه ۸۰ زن بیمار مبتلا به میوم رحمی و ۸۰ زن شاهد و سالم وارد مطالعه شده‌اند.

کلیه DNAهای استخراج شده از کیفیت مطلوبی برخوردار بوده و میزان جذب نوری در ۲۸۰/۲۶۰ بیش تر از ۱.۸ بود.

پس از انجام واکنش PCR برای تایید محصول واکنش روی ژل آگارز ۲ درصد برده شد و طول قطعات با طراحی پرایمرهای مورد نظر مورد بررسی قرار گرفتند.

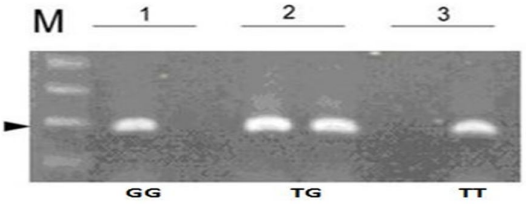
در تکنیک Tetra Arms PCR، ۳ قطعه DNA مورد انتظار است که در مورد جهش اگزون ۱۹ (rs121913438) در ژن EGFR طول قطعه‌ی کنترل، موتانت و نرمال به ترتیب ۴۴۴ و ۱۳۴ و ۳۲۵ نوکلئوتید می‌باشند و برای تایید طول قطعه ها با داده‌های پایگاه NCBI مقایسه شدند(شکل ۱).



شکل۱. یافته‌های PCR برای اگزون ۱۹ ژن EGFR

M: Ladder،WW: همو نرمال، WD : هترو،DD : همو موتانت

در تکنیک Arms PCR، ۲ قطعه DNA مورد انتظار است که در مورد جهش اگزون ۲۱ (rs121434568) در ژن EGFR طول قطعه‌ی موتانت و نرمال به ترتیب ۱۹۶ و ۱۹۹ نوکلئوتید می‌باشند و برای تایید طول قطعه‌ها با داده‌های پایگاه NCBI مقایسه شدند(شکل ۲).



شکل۲. یافته‌های PCR برای اگزون ۲۱ ژن EGFR

M: Ladder، TT: همو نرمال، TG : هترو، GG: همو موتانت

توزیع فراوانی ژنوتیپی و آللی برای اگزون ۱۹ و ۲۱ ژن EGFR در دو گروه زنان مبتلا به میوم و گروه سالم به ترتیب در جدول ۵ و ۶ خلاصه شده است. نتایج به دست آمده نشان می‌دهد که توزیع ژنوتیپ‌های EGFR برای اگزون ۱۹ و ۲۱ درگروه بیماران از قانون هاردی واینبرگ تبعیت نمی‌کند. برمبنای این نتایج فراوانی ژنوتیپ نوع

نرمال، هتروزیگوت و موتانت(WW، WD، DD) برای اگزون ۱۹ در گروه بیماران و شاهد به ترتیب(۷۲، ۵، ۳) و (۷۸، ۲، ۰) و هم‌چنین فراوانی ژنوتیپ نوع نرمال، هتروزیگوت و موتانت(TT، TG، GG) برای اگزون ۲۱ در گروه بیماران و شاهد به ترتیب(۵۴، ۲۲، ۴) و (۷۸، ۲، ۰) می‌باشد. مقایسه فراوانی ژنوتیپ‌های(TT، TG، GG) و (WW، WD، DD) در دو گروه بیماران و شاهد به کمک آزمون آماری به ترتیب نشان دهنده‌ی وجود اختلاف معنی‌دار((۱۶)- e ۱/۳۲۰ = P) و ((۱۳)- e ۳/۰۵۳ = P) در فراوانی ژنوتیپ‌های مختلف بین بیماران وگروه شاهد بود. این نتایج حاکی از وجود ارتباط معنی‌دار بین جهش rs121913438 اگزون ۱۹ و rs121434568 اگزون ۲۱ ژن EGFR و استعداد ابتلا به میوم درجمعیت مورد مطالعه می‌باشد.

جدول ۵. فراوانی ژنوتیپی برای اگزون ۱۹ ژن EGFR در افراد بیمار و کنترل

ژنوتیپ	گروه کنترل	گروه بیمار	کل	P	OR
WW	۷۸	۷۲	۱۵۰	۳/۰۵۳ e -(۱۳)	۰/۲۰۸
WD	۲	۵	۷		
DD	۰	۳	۳		
جمع کل	۸۰	۸۰	۱۶۰		

جدول ٦. فراوانی ژنوتیپی برای اگزون ۲۱ ژن EGFR در افراد بیمار و کنترل

ژنوتیپ	گروه کنترل	گروه بیمار	کل	P	OR
TT	۷۸	۵۴	۱۳۲	۱/۳۲۰ e -(۱۶)	۰/۰۷۷
TG	۲	۲۲	۲۴		
GG	۰	۴	۴		
جمع کل	۸۰	۸۰	۱۶۰		

بحث

بررسی حاضر مبنی بر ارتباط بین جهش حذف اگزون ۱۹ (rs121913438) و جهش نقطه‌ای اگزون ۲۱ (rs121434568) با بروز میوم می‌باشد. در بررسی حاضر جهش‌های شایع در ژن EGFR مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج نشان داد که در جمعیت مورد بررسی ارتباط معنی‌داری بین میوم رحمی و جهش حذف در اگزون ۱۹ و جهش نقطه‌ای در اگزون ۲۱ ژن EGFR وجود دارد. البته این مطالعه دارای محدودیت‌هایی می‌باشد که ممکن است نتایج مطالعه را تحت تاثیر قرار دهد. برای مثال جامعه آماری مورد بررسی کوچک است و برای تعیم نتایج نیاز به مطالعات بیش‌تر با جامعه آماری بزرگ‌تر است. از طرفی به دلیل مالتی فاکتوریال بودن این بیماری و از سوی دیگر هتروژن بودن جمعیت ایران بهتر است که مطالعه در نژادهای

مختلف و نیز در مناطق مختلف به دلیل در معرض عوامل محیطی متفاوت هستند انجام پذیرد تا نتایج با اطمینان بیش‌تری حاصل شود.

بر اساس نتایج جدول هاردی- واینبرگ، ارتباط معنی‌داری بین جهش نقطه‌ای اگزون ۲۱ (rs121434568) و جهش حذف اگزون ۱۹ (rs121913438) ژن EGFR و استعداد ابتلا به میوم رحمی وجود دارد و نتایج به دست آمده نشان دهنده‌ی این می‌باشد که توزیع ژنوتیپ‌های EGFR در گروه بیماران ازقانون هاردی واینبرگ تبعیت نمی‌کند.

بر اساس جدول آللی برای اگزون ۲۱، در صورتی که در جمعیتی تبدیل آلل [G]<->[T] انجام پذیرد ارتباط معنی‌داری ((۳۰)- e ۶/۳۳۴ = p) بین آلل[G] و ابتلا به بیماری میوم رحمی وجود دارد و هم‌چنین در حضور آلل[G] شانس ابتلا به این بیماری در بازه‌ی اطمینان یا (۰/۰۰۱-۰/۰۱۳) C.I =۰/۰۰۳ برابر Odds_ratio =۰/۰۰۳ می‌باشد. در مقابل تبدیل آلل [T]<->[G] اثر بازدارنگی در مقابل اثر آلل [G] و در نتیجه باعث جلوگیری از ابتلا به این بیماری می‌شود. بر اساس جدول ژنوتیپی در مورد حالت هموزیگوت[GG]<->[TT] ارتباط معنی‌داری((۱۶)- e P = ۱/۰۱۲) بین جهش نقطه‌ای اگزون ۲۱ و ابتلا به بیماری میوم رحمی وجود دارد و شانس ابتلا به این بیماری را در بازه‌ی اطمینان یا (۰/۰۰۰-۰/۰۲۲) C.I =۰/۰۰۱ به میزان Odds_ratio =۰/۰۰۱ افزایش می‌دهد ولی در مورد حالت هتروزیگوت [TG]<->[TT] جهش‌های ژن EGFR ارتباط معنی‌داری برای جهش نقطه‌ای اگزون ۲۱ (P = ۰/۵۴۹۰۸) و استعداد ابتلا به بیماری میوم رحمی مشاهده نشد که ما احتمال می‌دهیم این حالت به دلیل محدود بودن نمونه‌ها بوده است و ممکن است با افزایش تعداد نمونه‌ها این نتیجه قابل تعمیم به کل داده‌ها باشد.

بر اساس جدول آللی برای اگزون ۱۹ ، در صورتی که در جمعیتی تبدیل آلل [D]<->[W] انجام پذیرد ارتباط معنی‌داری ((۱۳)- e ۳/۷۱۵ = P) بین آلل[D] و ابتلا به بیماری میوم رحمی وجود دارد و هم‌چنین در حضور آلل [D] شانس ابتلا به این بیماری در بازه‌ی اطمینان یا (۰/۰۰۱-۰/۰۳۲) C.I =۰/۰۰۶ برابر Odds_ratio =۰/۰۰۶ می‌باشد. در مقابل تبدیل آلل [W]<->[D] اثر بازدارنگی در مقابل اثر آلل [D] و در نتیجه ابتلا به این بیماری از خود بروز می‌دهد. بر اساس جدول ژنوتیپی در مورد حالت هموزیگوت [DD]<->[WW] ارتباط معنی‌داری((۱۳)- e P = ۱/۲۶۶) بین جهش حذف اگزون ۱۹ و ابتلا به بیماری میوم رحمی وجود دارد و شانس ابتلا به این بیماری را در بازه‌ی اطمینان یا (۰/۰۰۰-۰/۰۷۴) C.I =به میزان۰/۰۰۳= Odds_ratio افزایش می‌دهد ولی در مورد حالت هتروزیگوت [WD]<->[WW] جهش‌های ژن EGFR ارتباط معنی‌داری برای جهش حذف اگزون ۱۹(P = ۰/۳۰۰۶۲) و استعداد ابتلا به بیماری میوم رحمی مشاهده نشد که ما احتمال می‌دهیم این حالت به دلیل محدود بودن نمونه‌ها بوده است و ممکن است با افزایش تعداد نمونه‌ها این نتیجه قابل تعمیم به کل داده‌ها باشد.

در سال ۲۰۰۷ پارکر و همکاران طی یک مرور مطالعاتی از ۲۲۰ مقاله در ارتباط با میوم و مکانیسم ایجاد آن نشان دادند که به طور کلی فاکتورهای هورمونی، فاکتورهای رشد، مولکول‌های زیستی و فاکتورهای ژنتیکی از عوامل ایجاد کننده‌ی میوم رحمی هستند که در این میان عوامل ژنتیکی نقش اصلی را ایفا می‌کند(۳).

ویسنباچر و همکاران در سال ۲۰۱۳ طی یک مطالعه تحقیقاتی، ارتباط معنی داری بین فسفریلاسیون تیروزین y845 و y1173 مسیر سیگنالینگ ژن EGFR و استعداد ابتلا به بیماری میوم را مورد بررسی قرار دادند. فسفریلاسیون تیروزین یک مکانیسم کلیدی در کنترل عملکردهای زیستی مثل تکثیر و تمایز سلولی می‌باشد. هدف از این مطالعه ارزیابی فسفریلاسیون گیرنده‌ی فاکتور رشد اپیتلیال(EGFR) در میومتر نرمال و مقایسه‌ی آن با بافت میوم رحمی بود. آن‌ها در مطالعه‌ی خود نشان دادند که ارتباط معنی‌داری(p <۰/۰۰۱) بین فسفریلاسیون Y845 گیرنده‌ی فاکتور رشد اپیتلیال و بیماری میوم وجود دارد و در مقایسه در ارتباط با فسفریلاسیون Y1173 این گیرنده و

استعداد ابتلا به میوم در میان دو گروه کنترل و بیمار هیچ تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد(۲۱).

یان یان و همکاران در سال ۲۰۰۳ نقش ژن های گیرنده ی فاکتور رشد اپیتلیال(EGFR) و گیرنده‌ی ۱- فاکتور رشد شبه انسولین(IGF-1R) را در بیماری‌زایی میوم مورد بررسی قرار دادند. آن‌ها نشان دادند که سطوح بیان ژن های EGFR و IGF-1R به طور معنی‌داری($P<۰/۰۱$ و $P <۰/۰۱$) در بافت میوم بالاتر از میومتر نرمال بود(۲۲).

نیکلسون و همکاران در سال ۲۰۰۱ طی یک مطالعه‌ی تحقیقاتی نشان دادند که ارتباط معنی‌داری بین بیان بالای ژن گیرنده‌ی فاکتور رشد اپیدرمال(EGFR) و استعداد ابتلا به ۱۰ نوع سرطان از جمله سرو گردن، تخمدان، مثانه، گردن رحم، معده، روده‌ی بزرگ، ریه، مری، پستان و اندومتر وجود دارد لذا مطالعه‌ی مکانیسم مسیرهای سیگنالینگ مرتبط با EGFR و لیگاندهایش چه از دیدگاه استعداد ابتلا و چه از دیدگاه درمانی از اهمیت به سزایی برخوردار می‌باشد(۲۳).

مطالعه‌ی انجام شده توسط شلسینگر و همکاران در سال ۲۰۰۴، مسیرهای سیگنالینگ را که توسط گیرنده‌های فاکتورهای رشد فیبروبلاست(FGFR) و گیرنده‌های فاکتورهای رشد اپیدرمال(EGFR) فعال شدند، مورد بررسی قرار دادند و در این راستا نشان دادند که فاکتورهای رشد و گیرنده‌های فاکتور رشد یکی از مسیرهای اصلی مرتبط با سرطان چه از دیدگاه ابتلا، چه از دیدگاه پیش‌گیری و درمان می‌باشند(۲۴).

پاو و همکاران طی یک مطالعه تحقیقاتی در سال ۲۰۰۴ نشان دادند که تجزیه و تحلیل نوع جهش ژن گیرنده‌ی فاکتور رشد اپیدرمال برای حساسیت درمان با مهارکننده‌های EGFR ضروری است. حذف تغییر قالب در اگزون ۱۹ و جهش‌های نقطه‌ای پیکری در کدون ۸۵۸ اگزون ۲۱ از ژن EGFR در بسیاری از سرطان‌ها به ویژه در سرطان‌های ریه رایج هستند و با حساسیت به مهارکننده‌های تیروزین کیناز gefitinib و erlotinib مرتبط است(۲۰).

با استناد به مطالعات قبلی انجام شده ارتباط معنی‌داری بین ژن EGFR و استعداد ابتلا به میوم و در نتیجه بدخیمی‌های رحمی وجود دارد لذا در این تحقیق بررسی جهش‌های شایع ژن EGFR در بروز میوم در زنان مبتلا به فیبروئیدهای رحمی مورد مطالعه قرار گرفت.

نتیجه گیری

بررسی نقش عوامل ژنتیک در ابتلا به میوم به درک بهتر پاتولوژی و مکانیسم ایجاد بیماری کمک خواهد کرد و در زمینه یافتن راه‌های درمانی موثرتر و روش‌های تشخیصی دقیق‌تر کاربرد خواهد داشت. عوامل ژنتیک به صورت تفاوت در ساختار ژنی و تفاوت در بیان ژن بروز می‌یابند.

در بررسی حاضر جهش‌های شایع در ژن EGFR مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج نشان داد که در جمعیت مورد بررسی ارتباط معنی‌داری بین میوم رحمی و جهش حذف در اگزون ۱۹ و جهش نقطه‌ای در اگزون ۲۱ ژن EGFR وجود دارد.

برای حصول اطمینان و رسیدن به نتایج قابل تعمیم به همه‌ی جمعیت ایرانی پیشنهاد می‌شود بررسی‌های بعدی با تعداد افراد بیش‌تری برای بررسی جهش‌های شایع در اگزون ۱۹ و ۲۱ ژن EGFR انجام شود.

تشکر و قدردانی

این مقاله منتج از پایان‌نامه‌ی دوره‌ی کارشناسی ارشد می‌باشد که به راهنمایی جناب آقای دکتر ابراهیمی، عضو هیئت علمی پژوهشکده‌ی غدد درون ریز دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی به انجام رسید. از زحمات ایشان و همکاران محترم مرکز مذکور و هم‌چنین از مساعدت بیماران محترم جهت همکاری در این پروژه نهایت تشکر را دارم. هم‌چنین از همکاری و حمایت بی شائبه‌ی همسرم در ویرایش مقاله سپاس‌گزاری می‌نمایم.

منابع

1. Okolo S. Incidence, aetiology and epidemiology of uterine fibroids. Best

practice & research Clinical obstetrics & gynaecology. 2008;22(4):571-88.
2. Hashemnejad M, Sariri E, Vahdat M, Larijani T, Ahmadzad Asl M, Vaseie M. Obstetric Outcomes in Pregnant Women with and without Uterine Leiomyoma. Ann Mil Health Sci Res. 2008;6(2):123-9.
3. Parker WH. Uterine myomas: management. Fertility and sterility. 2007;88(2):255-71.
4. Ryan KJ. Kistner's gynecology and women's health: Mosby Incorporated; 1999.
5. Lynch AM, Morton CC. Solid Tumour Section. http://AtlasGeneticsOncology org. 2008:68.
receptor pathway. Cancer science. 2007;98(4):506-11.
15. Alimandi M, Romano A, Curia MC, Muraro R, Fedi P, Aaronson SA, et al. Cooperative signaling of ErbB3 and ErbB2 in neoplastic transformation and human mammary carcinomas. Oncogene. 1995;10(9):1813-21.
16. Bivona TG, Hieronymus H, Parker J, Chang K, Taron M, Rosell R, et al. FAS and NF-[kgr] B signalling modulate dependence of lung cancers on mutant EGFR. Nature. 2011;471(7339):523-6.
17. Scafidi J, Hammond TR, Scafidi S, Ritter J, Jablonska B, Roncal M, et al. Intranasal epidermal growth factor treatment rescues neonatal brain injury. Nature. 2014;506(7487):230-4.
18. Shen J ,Xia W, Khotskaya YB, Huo L, Nakanishi K, Lim S-O, et al. EGFR modulates microRNA maturation in response to hypoxia through phosphorylation of AGO2. Nature. 2013;497(7449):383-7.
19. Yang W, Xia Y, Ji H, Zheng Y, Liang J, Huang W, et al. Nuclear PKM2 regulates [bgr]-catenin transactivation upon EGFR activation. Nature. 2011;480(7375):118-22.
20. Pao W, Miller V, Zakowski M, Doherty J, Politi K, Sarkaria I, et al. EGF receptor gene mutations are common in lung cancers from "never smokers" and are associated with sensitivity of tumors to

6. Medikare V, Kandukuri LR, Ananthapur V, Deenadayal M, Nallari P. The genetic bases of uterine fibroids; a review. Journal of Reproduction & Infertility. 2011;12(3):181.
7. McGuire MM, Yatsenko A, Hoffner L, Jones M, Surti U, Rajkovic A. Whole exome sequencing in a random sample of North American women with leiomyomas identifies MED12 mutations in majority of uterine leiomyomas. PloS one. 2012;7(3):e33251.
8. Stewart EA .Uterine fibroids. The Lancet. 2001;357(9252):293-8.
9. Sparic R, Mirkovic L, Malvasi A, Tinelli A. Epidemiology of uterine myomas: a review. International journal of fertility & sterility. 2016;9(4):424.
10. Hoffman PJ, Milliken DB, Gregg LC, Davis RR, Gregg JP. Molecular characterization of uterine fibroids and its implication for underlying mechanisms of pathogenesis. Fertility and sterility. 2004;82(3):639-49.
11. Ohara N, Morikawa A, Chen W, Wang J, DeManno DA, Chwalisz K, et al. Comparative effects of SPRM asoprisnil (J867) on proliferation, apoptosis, and the expression of growth factors in cultured uterine leiomyoma cells and normal myometrial cells. Reproductive sciences. 2007;14(8 suppl):20-7.
12. Riely GJ, Pao W, Pham D, Li AR, Rizvi N, Venkatraman ES, et al. Clinical course of patients with non–small cell lung cancer and epidermal growth factor receptor exon 19 and exon 21 mutations treated with gefitinib or erlotinib. Clinical cancer research. 2006;12(3):839-44.
13. Shushan A, Ben-Bassat H, Mishani E, Laufer N, Klein BY, Rojansky N. Inhibition of leiomyoma cell proliferation in vitro by genistein and the protein tyrosine kinase inhibitor TKS050. Fertility and sterility. 2007;87(1):127-35.
14. Wang T, Niki T, Goto A, Ota S, Morikawa T, Nakamura Y, et al. Hypoxia increases the motility of lung adenocarcinoma cell line A549 via activation of the epidermal growth factor

gefitinib and erlotinib. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 2004;101(36):13306-11.
21. Weissenbacher T, Vrekoussis T, Roeder D, Makrigiannakis A, Mayr D, Ditsch N, et al. Analysis of epithelial growth factor-receptor (egfr) phosphorylation in uterine smooth muscle tumors: Correlation to mucin-1 and galectin-3 expression. International journal of molecular sciences. 2013;14(3):4783-92.
22. Yunyun Y, Xiojin L, Jinhua Q, Liting Y ,Yusheng L. Localization and quantitative analysis of epidermal growth factor receptor (EGFR) and insulin-like growth factor-1 receptor (IGF-1R) uterine myoma. Journal of Radioimmunology. 2003;16(6):326-7.
23. Nicholson R, Gee J, Harper M. EGFR and cancer prognosis. European journal of cancer. 2001;37:9-15.
24. Schlessinger J. Common and distinct elements in cellular signaling via EGF and FGF receptors. Science. 2004;306(5701):1506-7.