

Received: 2021/1/26

Accepted: 2021/6/12

How to cite:

Moosaie S, Afshari Z, Abbasi A, Ghojaie M, Farhadi A, Heidari MF, et al. Comparison of OGG1 gene expression level in gastric adenocarcinoma and adjacent normal tissue. *EBNESINA* 2021;23(2):58-66. DOI: 10.22034/23.2.58

## Original Article

# Comparison of OGG1 gene expression level in gastric adenocarcinoma and adjacent normal tissue

Somayyeh Moosaie<sup>1</sup>, Zeynab Afshari<sup>1</sup>, Abdollah Abbasi<sup>1</sup>, Manuchehr Ghojaie<sup>2</sup>, Arezoo Farhadi<sup>3</sup>, Mohammad-Foad Heidari<sup>4</sup>, Shirin Shahbazi<sup>5</sup>, Javad Behroozi<sup>6</sup>, Mehrdad Nasrollahzadeh Sabet<sup>6✉</sup>

## Abstract

**Background and aims:** Gastric cancer is a major public health issue as the fourth leading cause of cancer-related death in the world. Reactive oxygen species (ROS) induce DNA damage and this process plays an important role in gastric cancer development and progression. OGG1 is an essential component of the base excision repair pathway that is required for the removal of oxidized guanine nucleotides from DNA exposed to ROS. This study aimed to compare the expression of the OGG1 gene in cancerous and healthy tissues of gastric cancer.

**Methods:** Fifty pairs of tumors and adjacent normal tissues were collected from gastric cancer patients. Total RNA was extracted and complementary DNA (cDNA) was synthesized. The relative gene expression of OGG1 was determined using quantitative real-time reverse transcriptase polymerase chain reaction (qRT-PCR). A data mining study was also performed to determine the prognostic role of OGG1 expression in the overall survival of gastric cancer patients.

**Results:** OGG1 gene expression was significantly increased in patients' tumor samples compared to normal adjacent tissue samples. In addition, the expression of OGG1 in patients with early stages of gastric cancer was significantly higher than those with advanced stages. Also, a negative correlation was observed between the high expression of OGG1 and the overall survival rate.

**Conclusion:** It can be concluded that the expression of OGG1 increases in the early stages of gastric cancer, which could be related to the increase in oxidative damage to DNA.

**Keywords:** Gastric cancer, hOGG1 enzyme, Gene expression, Real-time PCR

EBNESINA - IRIAF Health Administration

(Vol. 23, No. 2, Serial 75 Summer 2021)

1. MSc student, Department of Biology, Faculty of Science, Bonab Branch, Islamic Azad University, Bonab, Iran

2. Assistant professor, Department of Biology, Faculty of Science, Bonab Branch, Islamic Azad University, Bonab, Iran

3. MSc student, Department of Genetics and Biotechnology, Faculty of Life Science, Varamin-Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran

4. Assistant professor, Department of Medical Laboratory Sciences, School of Allied Health Medicine, Aja University of Medical Sciences, Tehran, Iran

5. Associate professor, Department of Medical Genetics, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

6. Assistant professor, Department of Genetics and Biotechnology, School of Medicine, Aja University of Medical Sciences, Tehran, Iran

✉ Corresponding Author:

Mehrdad Nasrollahzadeh Sabet

Address: Department of Genetics and Biotechnology, School of Medicine, Aja University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Tel: +98 (21) 43825240

E-mail: dr.m.sabet@ajaums.ac.ir



Copyright© 2021. This open-access article is published under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License which permits Share (copy and redistribute the material in any medium or format) and Adapt (remix, transform, and build upon the material) under the Attribution-NonCommercial terms. Downloaded from: <http://www.ebnesina.ajaums.ac.ir>

### مقایسه بیان ژن OGG1 در آدنوکارسینوم معده با بافت سالم مجاور

سمیه موسایی<sup>۱</sup>، زینب افشاری<sup>۱</sup>، عبدالله عباسی<sup>۱</sup>، منوچهر قوجایی<sup>۲</sup>،  
آرزو فرهادی<sup>۳</sup>، محمدرضا حیدری<sup>۴</sup>، شیرین شهبازی<sup>۵</sup>،  
جواد بهروزی<sup>۶</sup>، مهرداد نصراللهزاده ثابت<sup>✉</sup>

#### چکیده

**زمینه و اهداف:** سرطان معده چهارمین عامل مرگ ناشی از سرطان و یک مشکل عمده برای سلامت عمومی است. رادیکال‌های آزاد اکسیژن باعث القاء آسیب به DNA شده و این فرایند در ایجاد و پیشرفت سرطان معده نقش مهمی دارد. OGG1 یکی از اجزای ضروری مسیر ترمیم برش بازی است و برای حذف نوکلئوتیدهای گوانین اکسید شده از DNA مورد نیاز است. هدف مطالعه حاضر مقایسه میزان بیان ژن OGG1 در بافت‌های سالم و سرطانی معده است.

**روش بررسی:** در این مطالعه ۵۰ جفت بافت توموری و سالم مجاور از بیماران مبتلا به سرطان معده جمع‌آوری گردید. RNA کل از این نمونه‌ها استخراج شده و از روی آن cDNA ساخته شد. بیان نسبی ژن OGG1 با استفاده از تکنیک qRT-PCR سنجیده شد. همچنین یک مطالعه داده کاوی به منظور بررسی نقش بیان OGG1 در پیش آگهی بیماران مبتلا به سرطان معده انجام گرفت.

**یافته‌ها:** بیان ژن OGG1 در نمونه‌های توموری بیماران نسبت به نمونه‌های بافت سالم مجاور افزایش معنی داری داشت. از طرفی میزان بیان این ژن در بیماران مبتلا به مراحل اولیه سرطان معده نسبت به بیماران مراحل پیشرفته‌تر، بالاتر بود. همچنین همبستگی منفی بین بیان بالای ژن OGG1 و بقای کلی بیماران مشاهده گردید.

**نتیجه‌گیری:** می‌توان نتیجه‌گیری نمود بیان OGG1 در مراحل اولیه سرطان معده افزایش پیدا می‌کند که ممکن است به دلیل افزایش آسیب اکسیداتیو به DNA باشد.

#### کلمات کلیدی: سرطان معده، آنزیم hOGG1، بیان ژن، PCR در زمان واقعی

(سال بیست و سوم، شماره دوم، تابستان ۱۴۰۰، مسلسل ۷۵)  
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۳/۲۲

فصلنامه علمی پژوهشی ابن‌سینا / اداره بهداشت، امداد و درمان نهجا  
تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۱/۷

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی واحد بناب، دانشکده علوم، گروه زیست‌شناسی، بناب، ایران
۲. استادیار، دانشگاه آزاد اسلامی واحد بناب، دانشکده علوم، گروه زیست‌شناسی، بناب، ایران
۳. دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین-پیشوا، دانشکده علوم زیستی، گروه ژنتیک و بیوتکنولوژی، ورامین، ایران
۴. استادیار، دانشگاه علوم پزشکی آجا، دانشکده پیراپزشکی، گروه علوم آزمایشگاهی، تهران، ایران
۵. دانشیار، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده پزشکی، گروه ژنتیک پزشکی، تهران، ایران
۶. استادیار، دانشگاه علوم پزشکی آجا، دانشکده پزشکی، گروه فناوری‌های نوین و ژنتیک، تهران، ایران

✉ مؤلف مسئول: مهرداد نصراللهزاده ثابت  
آدرس: دانشگاه علوم پزشکی آجا، دانشکده پزشکی، گروه فناوری‌های نوین و ژنتیک، تهران، ایران  
تلفن: ۴۲۸۲۵۲۴۰ (۲۱) ۰۹۸  
ایمیل: dr.m.sabet@ajajums.ac.ir

## مقدمه

سرطان معده با سالانه با ۹۸۹/۶۰۰ مورد جدید چهارمین بدخیمی شایع در جهان است. این سرطان با بیش از ۷۳۸ هزار مرگ و میر در سال، دومین عامل مرگ ناشی از سرطان را با خود اختصاص می‌دهد [۱، ۲]. بیش از ۷۰٪ موارد این سرطان در کشورهای در حال توسعه رخ می‌دهد و مردان نسبت به زنان هم سن خود دو برابر در معرض ابتلا به این سرطان کشنده هستند [۳]. متأسفانه در ایران نیز سرطان معده دومین علت مرگ ناشی از سرطان و دومین سرطان در مردان با شیوع ۱۴٪ و چهارمین سرطان در زنان با شیوع ۷٪ است [۴]. اکثر موارد سرطان معده در مراحل پیشرفته شناسایی می‌شوند. همین امر جراحی همراه با شیمی درمانی را به عنوان اصلی‌ترین درمان سرطان معده مطرح می‌سازد. البته در برخی موارد بسته به مرحله و درجه تومور از اشعه درمانی هم استفاده می‌شود [۵، ۶]. مکانیسم‌های مولکولی متعددی در ایجاد بدخیمی‌های مرتبط با معده دخیل هستند، از بین رفتن تنظیم بیان ژن یکی از این مکانیسم‌ها است. در اوایل سال ۲۰۰۰ مطالعات اولیه با استفاده از ریزآرایه<sup>۱</sup> تغییرات بیان ژن‌های متفاوتی را در سرطان معده مشخص کرد که با نوع خاصی از زیرگروه‌های هیستولوژیکی، وضعیت تومور و یا وضعیت بالینی در ارتباط بودند [۷، ۸].

فرایند ترمیم آسیب‌های وارد شده به DNA یک مکانیسم حیاتی برای ثبات ژنتیکی در سلول‌ها است. راه‌های متفاوتی برای ترمیم انواع آسیب‌های DNA وجود دارد. اگر این مکانیسم‌ها با شکست مواجه شود آسیب ترمیم نشده سبب آپوپتوز، تثبیت جهش، رشد غیرقابل کنترل سلول و سرطان می‌شود [۹، ۱۰]. یکی از مسیرهای مهم ترمیم آسیب‌های وارد شده به DNA، ترمیم برش بازی (BER)<sup>۲</sup> است. آنزیم OGG1 انسانی نقش مهمی در مسیر ترمیمی BER دارد و شکافی در میان باز جهش یافته و قند ایجاد می‌کند. در نتیجه باز از رشته

DNA جدا و یک جایگاه فاقد باز ایجاد می‌شود. سپس فرایند ترمیم توسط فعالیت آنزیم فسفودی استراز، DNA پلی‌مراز و DNA لیگاز کامل می‌شود [۱۱]. ژن OGG1 انسانی یک گلیکوزیلاز را کد می‌کند و نقش این آنزیم در مسیر ترمیمی، حذف و جداسازی باز اکسید شده 8-OHdG از رشته DNA است [۱۲].

با وجود پیشرفت‌های چشمگیری که در رابطه با شناسایی مکانیسم‌های ایجادکننده و پیشبرنده سرطان معده صورت گرفته هست، نیاز به مطالعات بیشتری برای شناسایی عوامل دخیل در این بیماری وجود دارد. هدف از انجام مطالعه حاضر بررسی و مقایسه میزان بیان ژن OGG1 در بافت‌های سالم و توموری سرطان معده است.

## روش بررسی

پژوهش حاضر یک مطالعه مورد-شاهدی است که در سال ۱۳۹۸ و بر روی ۵۰ نمونه بافت توموری و بافت سالم مجاور آن انجام گردید. نمونه‌های مورد استفاده در این تحقیق از بانک تومور بیمارستان امام خمینی در شهر تهران تهیه گردید و از بیمارانی به دست آمده بود که در انستیتو کانسر تحت عمل جراحی سرطان معده قرار گرفته بودند. اطلاعات مربوط به مصرف سیگار، اعتیاد به الکل و مواد مخدر بر اساس خود اظهاری بیمار در هنگام بستری و اطلاعات پاتولوژیکی نمونه‌ها بر اساس گزارش جراح و پاتولوژیست به دست آمدند. در مطالعه حاضر میانگین سنی بیماران مورد مطالعه ۶۳ سال بود. از ۵۰ نمونه مورد بررسی ۳۲ و ۱۸ مورد آنها به ترتیب مربوط به بیماران مرد و بیماران زن بود. معیارهایی که برای ورود نمونه به مطالعه وجود داشت، شامل آدنوکارسینوم‌های معده از نوع منتشره بودند که از جراحی تومورها در قسمت‌های مختلف معده شامل تنه، آنتروم، فوندوس و کاردیا به دست آمده بودند. این بیماران قبل از جراحی تحت شیمی درمانی قرار نگرفته بودند و از آنها فرم رضایت جهت استفاده از نمونه‌های اضافی جهت انجام تحقیق اخذ گردید. نمونه‌ها پس از تأیید

1. microarray

2. base excision repair

اندازه‌گیری شد. حجم نهایی هر کدام از واکنش‌ها ۲۰ میکرولیتر بود که شامل ۱۰ میکرولیتر مسترمیکس بیوفکت، ۱ میکرولیتر از هر کدام از پرایمرهای رو به جلو و رو به عقب، ۶ میکرولیتر آب عاری از نوکلئاز و همچنین ۲ میکرولیتر از cDNA ساخته شده بود. دناوراسیون اولیه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۱۵ دقیقه انجام گردید. در ادامه ۴۰ چرخه تکثیر شامل دناوراسیون در دمای ۹۰ درجه به مدت ۲۰ ثانیه و اتصال و طویل سازی در دمای ۶۰ درجه به مدت ۴۰ ثانیه انجام شد. در نهایت بررسی منحنی ذوب در دمای ۶۰ تا ۹۵ درجه سانتی‌گراد انجام شد. کمی‌سازی نسبی بیان ژن‌ها با استفاده از روش  $2^{-\Delta\Delta CT}$  انجام گردید.

داده کاوی<sup>۸</sup> بیوانفورماتیکی بیان ژن، به منظور بررسی بیشتر تغییرات بیان ژن OGG1 در نمونه‌های سالم و سرطانی با استفاده از دو پایگاه داده بیوانفورماتیکی دیگر انجام شد. در ابتدا خوانش‌های توالی‌یابی مربوط به ۸۰ جفت نمونه آدنوکارسینوم معده و بافت سالم مجاور آن از پایگاه داده GEO<sup>۹</sup> بازیابی گردید [۱۳]. پس از مراحل کنترل کیفی داده‌ها و حذف خوانش‌های با کیفیت پایین، از نرم افزار Hisat2 جهت مکان‌یابی این خوانش‌ها بر روی ژنوم مرجع استفاده گردید [۱۴]. جهت تخمین دقیق‌تر میزان بیان ژن، خوانش‌های دوتایی با استفاده از نرم‌افزار مارک‌دپلیکیت<sup>۱۰</sup> حذف شدند [۱۵]. در نهایت میزان بیان ژن OGG1 در هر کدام از نمونه‌ها بر حسب تعداد نسخه در هر میلیون خوانش (TPM) محاسبه گردید. همچنین میزان بیان ژن OGG1 در ۳۵ بافت سالم معده و ۳۶۱ بافت سرطانی معده از پایگاه داده TCGA بازیابی گردید [۱۶] و بیان آن در مراحل مختلف سرطان بررسی شد.

با توجه به گذشت مدت زمان محدود از نمونه‌گیری‌های بالینی، امکان انجام آنالیزهای بقاء بر روی این بیماران وجود نداشت. به همین منظور اطلاعات میزان بیان ژن OGG1

توسط پاتولوژیست با استفاده از تانک ازت به آزمایشگاه منتقل شده و در فریزر با دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. RNA تام طبق پروتکل محلول استخراج RNA و بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده (RNX-plus شرکت سیناژن ایران) استخراج گردید. قبل از انجام استخراج نمونه‌های بافتی با استفاده از نیتروژن مایع و هاون به صورت پودر درآمد. RNA استخراج شده با استفاده از ژل الکتروفورز و دستگاه نانودراپ تحت کنترل کیفی و کمی قرار گرفت و تا مرحله سنتز cDNA در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید. جهت ساخت cDNA از کیت شرکت بیوفکت<sup>۱</sup> (ساخت کره) استفاده گردید. برای اینکار ۱۰۰۰ نانوگرم از RNA استخراج شده با مستر میکس، رندم هگزامر و الیگو دی‌تی<sup>۲</sup> مخلوط شده و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد (جهت رونویسی معکوس) انکوبه گردید. در نهایت مخلوط واکنش به مدت ۵ دقیقه در دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد (جهت غیرفعال شدن آنزیم نسخه‌بردار معکوس توسط تیمار حرارتی) تیمار شد. محصول حاصل در ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید.

در این تحقیق از ژن GAPDH به عنوان ژن کنترل داخلی استفاده شد. طراحی پرایمر با توجه به توالی ژن‌های انسانی و با استفاده از ابزار پرایمر بلاست<sup>۳</sup> و سایت NCBI<sup>۴</sup> انجام گردید. ویژگی‌های پرایمرها در جدول ۱ آورده شده است.

جدول ۱- توالی و ویژگی‌های پرایمرهای مورد استفاده

ژن	پرایمر	توالی	اندازه محصول
GAPDH	رو به جلو	ACACCCACTCTCCACCTTTG	۱۱۲ جفت باز
	رو به عقب	TCCACCACCCTGTGTCTAG	
OGG1	رو به جلو	ACCAACAAGGAAGTGGGAAACT	۱۱۵ جفت باز
	رو به عقب	GCCTATGGGGTCCGAGAAAG	

سطوح بیان ژن‌ها با تکنیک qRT-PCR<sup>۵</sup> و به وسیله ترموسایکلر استپ‌وان‌پلاس<sup>۶</sup> (شرکت اپلاید بیوسیستم<sup>۷</sup> آمریکا)

1. BIOFACT
2. Master Mix, Random Hexamer, and Oligo(dT)
3. Primer BLAST
4. National Center for Biotechnology Information
5. Quantitative Real Time reverse transcriptase polymerase chain reaction
6. StepOnePlus
7. Applied Biosystems

8. Data Mining

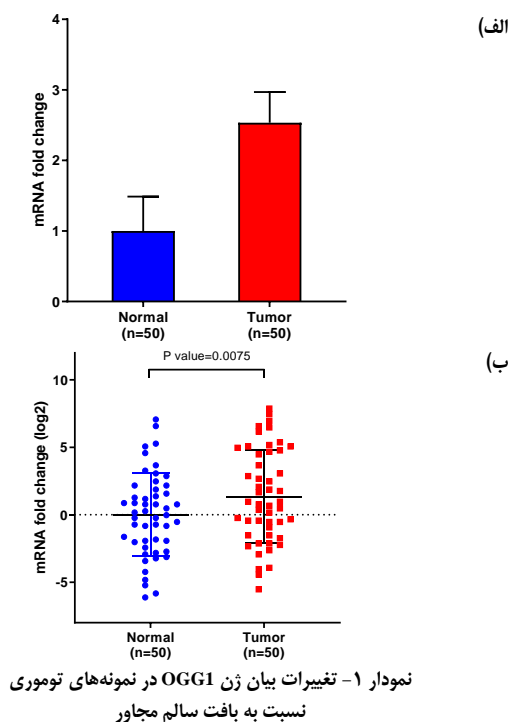
9. Gene Expression Omnibus

10. MarkDuplicate

### یافته‌ها

پس از بررسی منحنی‌های ذوب مربوط به هر دو ژن کنترل و هدف مورد و اطمینان از تک محصول بودن واکنش PCR، محصولات به دست آمده بر روی ژل آگارز الکتروفورز شده و بر اساس اندازه تکثیر اختصاصی هر دو ژن تأیید گردید. نتایج بررسی تغییرات بیان ژن OGG1 نشان داد، به طور میانگین میزان بیان این ژن در نمونه‌های تومور ۲/۵ برابر بیشتر از نمونه‌های سالم است (نمودار ۱-الف). همچنین آنالیز آماری این نتایج نشان داد که این افزایش بیان از نظر آماری معنی‌دار ( $p < 0.01$ ) است (نمودار ۱-ب). همچنین مقایسه میزان بیان ژن OGG1 در مراحل اولیه و پیشرفته سرطان معده نشان داد که بیان این ژن در مراحل یک و دو سرطان به طور معنی‌داری نسبت به مراحل سه و چهار بیشتر است (نمودار ۲).

بررسی میزان بیان ژن OGG1 در ۸۰ بیمار که از طریق آنالیزهای بیوانفورماتیکی انجام گرفت، نتایج به دست آمده در آزمایشگاه را تأیید نمود. این نتایج نشان داد که میزان بیان این ژن در بافت توموری بیماران مبتلا به سرطان معده افزایش معنی‌داری ( $p < 0.05$ ) را نسبت به بافت سالم مجاور نشان می‌دهد (نمودار ۳-الف). همچنین آنالیز نتایج کوهورت دوم نیز



مدت زمان بقاء بیماران مبتلا به سرطان معده مربوط به مطالعه‌های GSE14210، GSE15459، GSE29272، GSE51105، GSE22377 و GSE62254 از پایگاه داده کاپلان-مایر دریافت گردید [۱۷] و بر اساس این اطلاعات منحنی‌های مختلف مدت زمان بقاء برای بیماران رسم شد. این مطالعات در مجموع شامل اطلاعات بیان ژن و مدت زمان بقاء ۸۷۵ بیمار مبتلا به سرطان معده هستند. این بیماران بر اساس مقدار میانه بیان ژن OGG1 در دو گروه بیان بالا و بیان پایین تقسیم‌بندی شده و مدت زمان بقاء آنها سنجیده و مقایسه شد.

### ملاحظات اخلاقی

در طی انجام مطالعه، موارد اخلاقی همانند اخذ رضایت آگاهانه، توضیح در مورد محرمانه ماندن مصاحبه‌ها، حق کناره‌گیری از مصاحبه و تحقیق در هر زمان دلخواه، حفظ مشخصات فردی مشارکت‌کنندگان به آنها یادآوری شد و مجوز اخلاقی از کمیته اخلاق دانشگاه اخذ گردید.

### تجزیه و تحلیل آماری

جهت بررسی آماری داده‌ها از نرم افزار گراف‌پدپریسم<sup>۱</sup> نسخه ۸ استفاده شد. برای تعیین معنی‌دار بودن تغییرات بیان ژن در نمونه‌های توموری نسبت به نمونه‌های سالم از آزمون آماری تی جفت شده برای نمونه‌های توموری و سالم به دست آمده از یک بیمار و از آزمون آماری تی جفت نشده برای نمونه‌های توموری و سالم بیماران مختلف استفاده گردید. برای بررسی ارتباط میزان بیان ژن OGG1 با ویژگی‌های دموگرافیک و پاتولوژیکی بیماران از آزمون کای-اسکوار استفاده شد. همچنین برای تعیین معنی‌دار بودن تفاوت مدت زمان بقاء در بیماران با بیان بالا و پایین ژن OGG1 از آزمون مانتل-کاکس<sup>۲</sup> استفاده گردید. در تمامی موارد  $p < 0.05$  به عنوان معنی‌دار در نظر گرفته شد.

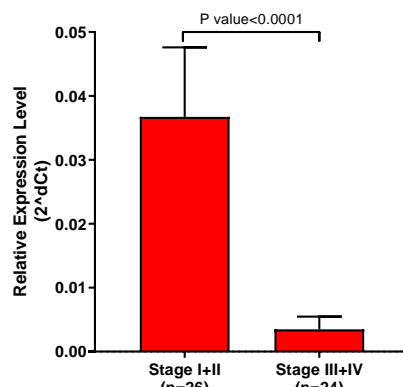
1. GraphPad Prism  
2. Mantel-Cox

در جدول ۲ مشاهده می‌شود، ارتباط معنی‌داری بین میزان بیان این ژن متغیرهای دموگرافیک شامل سن، جنس، مصرف سیگار، مواد مخدر و الکل دیده نشد. همچنین پارامترهای پاتولوژیکی شامل وجود متاستاز، محل و اندازه تومور اولیه ارتباطی با بیان این ژن نشان ندادند. در طرف مقابل مشخص گردید ارتباط معنی‌داری میان بیان بالای ژن OGG1 و سطح تمایز تومور وجود دارد ( $p=0/015$ ). این نتایج نشان داد که احتمال بیان بالاتر ژن OGG1 در مراحل اولیه تومور نسبت به مراحل پیشرفته‌تر بیشتر است ( $p=0/059$ ).

به منظور بررسی اثر بالای بیان ژن OGG1 در پیش آگهی سرطان معده اطلاعات پایگاه GEO با استفاده از منحنی کاپلان-مایر آنالیز شد. در این منحنی اطلاعات بیان ژن OGG1 و همچنین مدت زمان بقاء کلی بیماران مبتلا به

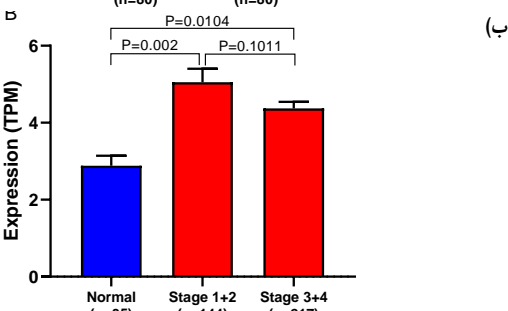
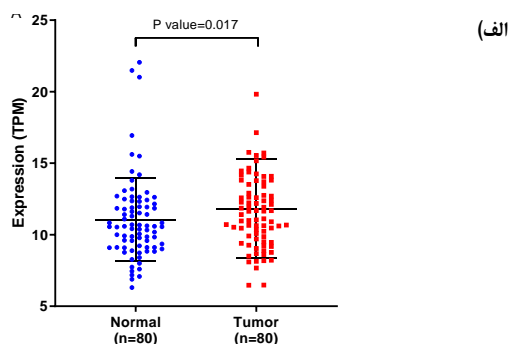
جدول ۲- رابطه بین میزان بیان ژن OGG1 با متغیرهای دموگرافیک و پاتولوژیکی بیماران

متغیر	بیان OGG1		مقدار p
	بالا (۱۷)	پایین (۳۳)	
سن	بالای ۶۳ سال	۱۰	۰/۴۸۸۲
	زیر ۶۳ سال	۱۶	
جنس	مرد	۱۱	۰/۹۴۰۵
	زن	۱۲	
استعمال سیگار	ندارد	۱۲	۰/۱۵۹۶
	دارد	۹	
استعمال الکل	ندارد	۱۶	۰/۶۹۲۰
	دارد	۳	
استعمال مواد مخدر	ندارد	۱۴	۰/۵۹۳۷
	دارد	۴	
متاستاز	ندارد	۱۴	۰/۹۶۲۸
	دارد	۶	
محل تومور اولیه	آنتروم	۶	۰/۹۸۶۰
	بدنه معده	۱۱	
سطح تمایز	کاردیا	۴	۰/۰۱۵۲
	فوندوس	۲	
	خوب	۶	
اندازه تومور اولیه	متوسط	۶	۰/۰۹۱۲
	ضعیف	۳	
	بدون تمایز	۲	
مرحله سرطان	بیشتر از ۵/۸ سانتیمتر	۱۲	۰/۰۵۹
	کمتر از ۵/۸ سانتیمتر	۵	
	مرحله ۱ و ۲	۱۲	
	مرحله ۳ و ۴	۵	



نمودار ۲- میزان بیان نسبی ژن OGG1 در مراحل اولیه و پیشرفته سرطان معده نشان داد که ژن OGG1 در نمونه‌های سرطانی نسبت به بافت سالم افزایش معنی‌داری نشان می‌دهد ( $p=0/002$  و  $p=0/01$ ). میزان افزایش بیان ژن در مراحل اولیه سرطان معده نسبت به مراحل پیشرفته‌تر بیشتر بود (نمودار ۳-الف).

به منظور بررسی ارتباط بین ویژگی‌های بالینی و پاتولوژیکی بیماران با میزان بیان ژن OGG1، نمونه‌های توموری بیماران بر اساس میانگین بیان این ژن در دو گروه بیان بالا و بیان پایین تقسیم بندی شدند. بر این اساس ۱۷ بیمار دارای بیان بالاتر از میانگین بیان کل بیماران و در مقابل ۳۳ بیمار دارای بیان کمتر از میانگین بودند. سپس ارتباط بین متغیرهای مختلف و میزان بیان سنجیده شد. همانطور که

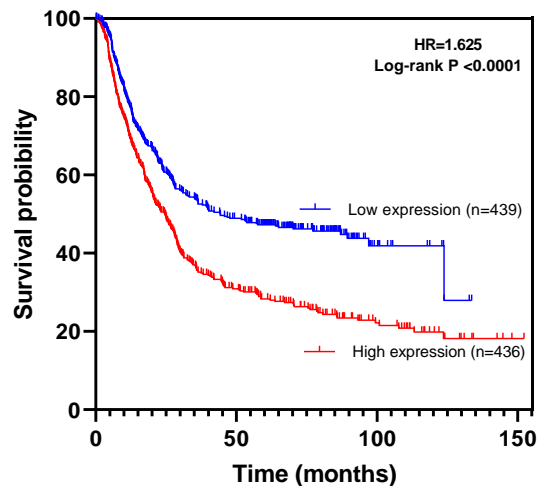


نمودار ۳- بیان ژن OGG1 در ۸۰ بیمار مبتلا به سرطان معده شامل جفت نمونه‌های توموری و بافت سالم مجاور (الف) و در یک کوهورت مستقل شامل ۱۴۴ بیمار در مراحل اولیه و ۲۱۷ بیمار در مراحل پیشرفته سرطان معده (ب)

جایگزینی سیتوزین-آدنین و گوانین-تیمین جلوگیری می کند و در صورت عدم عملکرد OGG1 این جهش ها تثبیت شده و در تومورزایی ایفای نقش می کنند [۲۳].

نتایج مطالعه حاضر در سه گروه مختلف از بیماران (نمونه های بالینی و آنالیزهای بیوانفورماتیکی) نشان داد که میزان بیان ژن OGG1 در بافت سرطانی معده نسبت به بافت سالم مجاور افزایش معنی داری داشت. همراستا با این نتایج، کوماگا<sup>۱</sup> و همکارانش نشان دادند که افزایش بیان این ژن در بدخیمی های مرتبط با کولون رخ می دهد و می تواند به دلیل افزایش التهاب و استرس اکسیداتیو در فرایند تومورزایی باشد [۲۴]. برخلاف این نتایج در مطالعه ای که توسط ناسیمتو<sup>۲</sup> و همکارانش انجام گردید بیان ژن OGG1 در نمونه های توموری سرطان کلورکتال نسبت به بافت سالم مجاور کاهش معنی داری نشان داد [۲۵]. با توجه به اینکه مطالعات قبلی مشخص کرده اند که افزایش بیان OGG1 به منظور محافظت از تمامیت ژنوم و حذف جهش ها رخ می دهد [۲۶، ۲۷]، شاید بتوان اینگونه نتیجه گیری نمود که افزایش بیان OGG1 در برخی از سرطان ها به عنوان راهکار سلول برای غلبه بر تومورزایی و افزایش آسیب های DNA است، در مقابل برخی از سرطان ها هم با مکانیسم های مختلفی بیان این ژن را پایین می آورند.

در مطالعه ناسیمتو و همکارانش مشخص گردید بیان ژن OGG1 با متغیرهایی مانند سن، جنسیت، محل و اندازه تومور، میزان تمایز و مرحله تومورهای کلورکتال ارتباط معنی دار دارد [۲۵]. برخلاف این یافته ها، در مطالعه حاضر ارتباطی بین سن، جنسیت، مصرف دخانیات و الکل، محل تومور، متاستاز و همچنین اندازه تومور و افزایش بیان ژن OGG1 مشاهده نگردید. ولی ارتباط معنی داری میان میزان تمایز تومور و همچنین مرحله سرطان با میزان بیان ژن OGG1 دیده شد. تومورهایی که در مراحل اولیه سرطان قرار داشتند و یا تمایز



نمودار ۴- مدت زمان بقا کلی در بیماران با بیان بالا و پایین ژن OGG1 سرطان معده وارد و بررسی گردید. همانطور که در نمودار ۴ مشاهده می شود بیمارانی که بیان OGG1 بالاتر داشتند (۴۳۶ بیمار مبتلا به سرطان معده)، احتمال زنده ماندن پایین تری نیز داشتند. بقا متوسط بیمارانی که بیان بالای این ژن را داشتند ۲۴/۶ ماه بود در حالی که بیمارانی که بیان پایین تری داشتند دارای بقا متوسط ۴۴/۳ ماه بودند.

## بحث و نتیجه گیری

آدنوکارسینوما عمده ترین نوع سرطان معده است که حدود ۹۰ تا ۹۵٪ از کل بدخیمی های معده را به خود اختصاص می دهد [۱۸]. مانند همه سرطان های دیگر، این نوع از سرطان معده نیز در اثر ترکیبی از عوامل ژنتیکی و محیطی ایجاد می گردد. آسیب های DNA یکی از عوامل اصلی در ایجاد پیشبرد سرطان معده هستند و توسط رادیکال های آزاد ناشی از متابولیسم درون سلولی و یا سموم خارجی ایجاد می شوند [۱۹]. ژن های و مسیرهای ترمیمی خاصی به منظور مقابله با این آسیب ها عمل می کنند. OGG1 یکی از اجزای اصلی سیستم ترمیمی برش بازی است و به منظور حذف نوکلئوتیدهای گوانین اکسید شده از ژنوم مورد استفاده قرار می گیرد [۲۰]. مطالعات قبلی نشان داده اند که میزان بیان و فعالیت OGG1 در پاسخ به افزایش سطوح رادیکال های آزاد اکسیژن و همچنین آسیب اکسیداتیو DNA افزایش می یابد [۲۱، ۲۲]. حذف گوانین اکسید شده توسط OGG1 از ایجاد جهش های

1. Kumagae  
2. Nascimento

## تشکر و قدردانی

محققان مراتب تشکر و قدردانی خود را از تمامی بیمارانی که با اهدای نمونه زمینه را برای انجام این تحقیق مهیا کردند اعلام می‌نمایند. این مطالعه در کمیته اخلاق دانشکده پزشکی دانشگاه تربیت مدرس مورخ ۱۳۹۷/۱۰/۱۵ با کد IR.MODARES.REC.1397.205 به تصویب رسیده است.

## تعارض در منافع

هیچ گونه تضاد منافی برای نویسندگان وجود نداشته است.

## سهم نویسندگان

همه نویسندگان در ایده‌پردازی و انجام طرح، همچنین نگارش اولیه مقاله یا بازنگری آن سهیم بودند و همه با تأیید نهایی مقاله حاضر، مسئولیت دقت و صحت مطالب مندرج در آن را می‌پذیرند.

## منابع مالی

تأمین مالی تحقیق با هزینه شخصی نویسندگان بوده است.

## References

1. Sitarz R, Skierucha M, Mielko J, Offerhaus GJA, Maciejewski R, Polkowski WP. Gastric cancer: epidemiology, prevention, classification, and treatment. *Cancer management and research*. 2018;10:239-248. doi:10.2147/cmar.s149619
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. Fock K. The epidemiology and prevention of gastric cancer. *Alimentary pharmacology & therapeutics*. 2014;40(3):250-260. doi:10.1111/apt.12814
4. Almasi Z, Rafiemanesh H, Salehiniya H. Epidemiology characteristics and trends of incidence and morphology of stomach cancer in Iran. *Asian Pacific journal of cancer prevention*. 2015;16(7):2757-2761.
5. Liu Y, Chen L, Zhang R, Chen B, Xiang Y, Zhang M, et al. Efficacy and safety of elemene combined with chemotherapy in advanced gastric cancer: a Meta-analysis. *Medicine* 2020;99(11):e19481. doi:10.1097/md.00000000000019481
6. Joharatnam-Hogan N, Shiu KK, Khan K. Challenges in the treatment of gastric cancer in the older patient. *Cancer treatment reviews*. 2020;85:101980. doi:10.1016/j.ctrv.2020.101980

یافتگی بیشتری داشتند، بیان بالاتری از ژن OGG1 را نشان دادند. مطالعه ساتوس<sup>۱</sup> و همکارانش در رابطه با میزان بیان این ژن در سرطان کلورکتال نیز در تطابق با مشاهده ما بود. این گروه دریافتند که میزان بیان ژن OGG1 در مراحل اولیه تومورهای کلورکتال بالاتر از مراحل پیشرفته‌تر سرطان است [۲۸]. همچنین گروه هاگیوارا<sup>۲</sup> و همکارانش نشان دادند که کارسینوم سلول سنگفرشی مری با حذف آلی OGG1 منجر به کاهش بیان این ژن شده و به این ترتیب فرآیند پیشرفت تومور را تسهیل می‌نماید [۲۹]. در مطالعه ما نیز بیان ژن OGG1 در مراحل اولیه تومورهای معده به طور معنی‌داری بیشتر از مراحل پیشرفته سرطان بود. این نتایج می‌توانند نشان دهنده گرایش سلول‌های سرطان به پایین آوردن فعالیت OGG1 باشد که نتیجه آن تجمع آسیب‌های DNA و جهش‌ها خواهد بود و مکانیسم احتمالی آن حذف آلی ژن OGG1 است.

مطالعه حاضر با بررسی میزان بیان ژن OGG1 و بقاء کلی در ۸۷۵ بیمار مبتلا به سرطان معده نشان داد افزایش بیان این ژن با کاهش احتمال بقاء کلی بیماران همراه است. این یافته می‌تواند به عنوان یک فاکتور پیش‌گویی کننده در مورد پیش‌آگهی سرطان معده مورد استفاده قرار بگیرد.

به طور کلی مطالعه ما نشان داد بیان ژن OGG1 در تومورهای معده نسبت به بافت سالم مجاور افزایش پیدا می‌کند، هرچند با پیشرفت مرحله تومور میزان بیان این ژن نیز کاهش پیدا می‌نماید. همچنین مشخص گردید هر چه سطح تمایز سلول‌های تومور معده کمتر باشد میزان بیان این ژن در آنها پایین‌تر خواهد بود. این نتایج پیشنهاد می‌کنند که بیان افزایش ژن OGG1 در مراحل اولیه تومور به عنوان سد دفاعی در برابر آسیب‌های DNA و جهش‌ها است ولی با پیشرفت بیشتر سرطان میزان بیان این ژن نیز کاهش پیدا می‌کند.

1. Santos
2. Hagiwara



7. Nishizawa T, Suzuki H. Gastric carcinogenesis and underlying molecular mechanisms: helicobacter pylori and novel targeted therapy. *BioMed research international*. 2015;2015. doi:10.1155/2015/794378
8. Servetas SL, Bridge DR, Merrell DS. Molecular mechanisms of gastric cancer initiation and progression by *Helicobacter pylori*. *Current opinion in infectious diseases*. 2016;29(3):304-310. doi:10.1097/qco.0000000000000248
9. Puigvert JC, Sanjiv K, Helleday T. Targeting DNA repair, DNA metabolism and replication stress as anti-cancer strategies. *The FEBS journal*. 2016;283(2):232-245. doi:10.1111/febs.13574
10. Goodwin JF, Knudsen KE. Beyond DNA repair: DNA-PK function in cancer. *Cancer discovery*. 2014;4(10):1126-1139. doi:10.1158/2159-8290.cd-14-0358
11. Sampath H, Lloyd RS. Roles of OGG1 in transcriptional regulation and maintenance of metabolic homeostasis. *DNA Repair (Amst)*. 2019;81. doi:10.1016/j.dnarep.2019.102667
12. Mitra S, Izumi T, Boldogh I, Bhakat KK, Hill JW, Hazra TK. Choreography of oxidative damage repair in mammalian genomes. *Free radical biology & medicine*. 2002;33(1):15-28. doi:10.1016/s0891-5849(02)00819-5
13. Clough E, Barrett T. The gene expression omnibus database. In: Mathé E, Davis S. (eds). *Statistical genomics: Methods in molecular biology*. Humana Press, New York, NY. 2016;pp.93-110. doi.org/10.1007/978-1-4939-3578-9\_5
14. Kim D, Langmead B, Salzberg SL. HISAT: a fast spliced aligner with low memory requirements. *Nature methods*. 2015;12(4):357-360. doi:10.1038/nmeth.3317
15. Zhao Q. A Study on optimizing mark duplicate in genome sequencing pipeline. In: *Proceedings of the 2018 5<sup>th</sup> International Conference on Bioinformatics Research and Applications*. 2018; pp. 8-15.
16. Tomczak K, Czerwińska P, Wiznerowicz M. The Cancer Genome Atlas (TCGA): an immeasurable source of knowledge. *Contemporary oncology* 2015;19(1A):A68-A77. doi:10.5114/wo.2014.47136
17. Szász AM, Lániczky A, Nagy Á, Förster S, Hark K, Green JE, et al. Cross-validation of survival associated biomarkers in gastric cancer using transcriptomic data of 1,065 patients. *Oncotarget*. 2016;7(31):49322-49333. doi:10.18632/oncotarget.10337
18. Soleimani F, Ahmadi AH, Mohammad Soltani B, Behmanesh M. Decrease of inosine triphosphatase gene expression in human gastric adenocarcinoma tumors. *Pathobiology research*. 2015;18(2):97-105. [Persian]
19. Zhou PT, Li B, Ji J, Wang MM, Gao CF. A systematic review and meta-analysis of the association between OGG1 Ser326Cys polymorphism and cancers. *Medical oncology* 2015;32(2):472. doi:10.1007/s12032-014-0472-z
20. Nishioka K, Ohtsubo T, Oda H, Fujiwara T, Kang D, Sugimachi K, et al. Expression and differential intracellular localization of two major forms of human 8-oxoguanine DNA glycosylase encoded by alternatively spliced OGG1 mRNAs. *Molecular biology of the cell*. 1999;10(5):1637-1652. doi:10.1091/mbc.10.5.1637
21. Ishchenko A, Sinitsyna O, Krysanova Z, Vasyunina EA, Saparbaev M, Sidorkina O, et al. Age-dependent increase of 8-oxoguanine-, hypoxanthine-, and uracil-DNA glycosylase activities in liver extracts from OXYS rats with inherited overgeneration of free radicals and Wistar rats. *Medical science monitor* 2003;9(1):BR16-BR24.
22. Jankowska AM, Gondek LP, Szpurka H, Nearman ZP, Tiu RV, Maciejewski JP. Base excision repair dysfunction in a subgroup of patients with myelodysplastic syndrome. *Leukemia*. 2008;22(3):551-558. doi:10.1038/sj.leu.2405055
23. Sunaga N, Kohno T, Shinmura K, Saitoh T, Matsuda T, Saito R, et al. OGG1 protein suppresses G:C-->T:a mutation in a shuttle vector containing 8-hydroxyguanine in human cells. *Carcinogenesis*. 2001;22(9):1355-1362. doi:10.1093/carcin/22.9.1355
24. Kumagae Y, Hirahashi M, Takizawa K, Yamamoto H, Gushima M, Esaki M, et al. Overexpression of MTH1 and OGG1 proteins in ulcerative colitis-associated carcinogenesis. *Oncology letters*. 2018;16(2):1765-1776. doi:10.3892/ol.2018.8812
25. Nascimento EFR, Ribeiro ML, Magro DO, Carvalho J, Kanno DT, Martinez CAR, et al. Tissue expression of the genes mutyh and ogg1 in patients with sporadic colorectal cancer. *Arquivos brasileiros de cirurgia digestiva*. 2017;30(2):98-102. doi:10.1590/0102-6720201700020005
26. Osterod M, Hollenbach S, Hengstler JG, Barnes DE, Lindahl T, Epe B. Age-related and tissue-specific accumulation of oxidative DNA base damage in 7,8-dihydro-8-oxoguanine-DNA glycosylase (Ogg1) deficient mice. *Carcinogenesis*. 2001;22(9):1459-1463. doi:10.1093/carcin/22.9.1459
27. de Souza-Pinto NC, Eide L, Hogue BA, Thybo T, Stevnsner T, Seeberg E, et al. Repair of 8-oxodeoxyguanosine lesions in mitochondrial dna depends on the oxoguanine dna glycosylase (OGG1) gene and 8-oxoguanine accumulates in the mitochondrial dna of OGG1-defective mice. *Cancer research*. 2001;61(14):5378-5381.
28. Santos JC, Funck A, Silva-Fernandes IJ, Rabenhorst SH, Martinez CA, Ribeiro ML. Effect of APE1 T2197G (Asp148Glu) polymorphism on APE1, XRCC1, PARP1 and OGG1 expression in patients with colorectal cancer. *International journal of molecular sciences*. 2014;15(10):17333-17343. doi:10.3390/ijms151017333
29. Hagiwara A, Kitajima Y, Sato S, Miyazaki K. Allelic loss of the DNA repair gene OGG1 against oxidative damage in esophageal squamous cell carcinoma. *Oncology reports*. 2005;13(6):1009-1016.