دوماهنامه طبّ جنوب
پژوهشکده زیست- پزشکی خلیج فارس
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی بوشهر
سال بیست و یکم، شماره ۱، صفحه ۲۸ - ۱۹ (فروردین و اردیبهشت ۱۳۹۷)
Iran South Med J 2018;21(1): 19-28

بررسی پلی‌مورفیسم کدون ۷۲ ژن *TP53* در بیوپسی‌های سرویکس با هیستولوژی غیرطبیعی در استان بوشهر

مرضیه ذاکرحسینی (MSc)[۱*]، سیروس نعیمی (PhD)[۱]، مریم مرادی‌نسب (MSc)[۲]، سکینه طاهرخانی (PhD)[۳]، فاطمه فرشادپور (PhD)[۴]، اکرم انصاری‌فر (MSc)[۴]، رضا طاهرخانی (PhD)[۲**]

[۱] گروه ژنتیک، دانشکده علوم پایه، واحد کازرون، دانشگاه آزاد اسلامی کازرون، کازرون، ایران
[۲] مرکز تحقیقات طب گرمسیری و عفونی خلیج‌فارس، پژوهشکده علوم زیست پزشکی خلیج‌فارس، دانشگاه علوم پزشکی بوشهر، بوشهر، ایران
[۳] گروه مامایی و بهداشت باروری، دانشکده پرستاری و مامایی، دانشگاه علوم پزشکی شاهرود، شاهرود، ایران
[۴] مرکز تحقیقات زیست فناوری دریایی خلیج‌فارس، پژوهشکده علوم زیست پزشکی خلیج‌فارس، دانشگاه علوم پزشکی بوشهر، بوشهر، ایران

(دریافت مقاله: ۹۶/۱/۹- پذیرش مقاله: ۹۶/۸/۲۰)

چکیده

زمینه: ژن سرکوبگر تومور *TP53*، در ترمیم آسیب‌های وارد شده به DNA و همچنین در آپوپتوزیس سلولی نقش دارد. این پژوهش به بررسی ارتباط بین پلی‌مورفیسم کدون ۷۲ ژن *TP53* در انواع نمونه‌های بافتی غیرطبیعی سرویکس در مقایسه با نمونه‌های زنان سالم به‌عنوان گروه کنترل و همچنین فراوانی ویروس‌های هرپس سیمپلکس انسانی در این نمونه‌ها پرداخته است.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه موردی- شاهدی، تعداد ۱۱۰ نمونه بیوپسی سرویکس با پاتولوژی غیرنرمال از آرشیو بخش پاتولوژی بیمارستان شهدای خلیج‌فارس بوشهر مورد بررسی قرار گرفت و تعداد ۱۶۴ نفر از زنان سالم به‌عنوان گروه کنترل انتخاب شدند. جهت شناسایی ویروس هرپس سیمپلکس از آزمون PCR یک مرحله‌ای و به‌منظور آنالیز پلی‌مورفیسم کدون ۷۲ ژن *TP53* از روش Allele-specific PCR استفاده گردید. داده‌ها با نرم‌افزار SPSS ویرایش ۱۷ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

یافته‌ها: توزیع ژنوتیپ‌های *TP53* در دو گروه بیمار و کنترل، از نظر آماری معنی‌دار نبود. در بررسی فراوانی دو آلل آرژنین و پرولین مشخص گردید که افراد فاقد آلل پرولین در گروه بیمار (۱۹ درصد) نسبت به گروه کنترل (۳۰/۱ درصد) کمتر می‌باشند که این تفاوت از نظر آماری معنی‌دار است (p=۰/۰۴) (۳/۳۶-۱/۰۳: CI ۹۵ درصد، OR=۱/۸۶). همچنین ارتباط آماری معنی‌داری میان نتایج مختلف پاتولوژی، سن، قومیت و محل سکونت با ژنوتیپ *TP53* مشاهده نگردید. در این بررسی، ویروس HSV در نمونه‌های مورد مطالعه شناسایی نشد.

نتیجه‌گیری: به دلیل مشاهده اختلاف معنی‌دار آلل پرولین بین دو گروه بیمار و کنترل به نظر می‌رسد که این آلل با نتایج پاتولوژی غیرنرمال دهانه رحم در استان بوشهر ارتباط داشته باشد.

واژگان کلیدی: پلی‌مورفیسم، ژن *TP53*، ویروس هرپس سیمپلکس، Allele-specific PCR

** بوشهر، مرکز تحقیقات طب گرمسیری و عفونی خلیج فارس، پژوهشکدهٔ علوم زیست پزشکی خلیج‌فارس، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی بوشهر
Email: taherkhanireza2005@yahoo.com
*ORCID: 0000-0002-7046-6653
** ORCID: 0000-0002-4099-7584

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2025-11-05]
[DOI: 10.29252/ismj.21.1.19]

مقدمه

سرطان دهانه رحم یک بیماری بسیار شایع و خطرناک در میان زنان در کشورهای در حال توسعه می‌باشد (۱). بیش از ۸۰ درصد از تمام مرگ ومیر زنان بر اثر سرطان دهانه رحم در کشورهای کم درآمد می‌باشد (۲). نقش تغییرات ژنتیکی در انکوژن‌ها و جهش در ژن‌های سرکوب کننده تومور در بروز بسیاری از سرطان‌ها شناخته شده است. ژن سرکوبگر تومور *TP53* دارای ۱۱ اگزون می‌باشد، که یک فسفوپروتئین را تولید می‌کند، که در ترمیم آسیب‌های وارد شده به DNA و همچنین در آپوپتوزیس نقش دارد. بنابراین هر گونه جهش و یا تغییر در این ژن که منجربه عملکرد نامناسب و یا تجزیه این پروتئین شود بسیار اهمیت دارد (۵-۳). وجود اشکال مختلف آللی در یک ژن، پلی‌مورفیسم نامیده می‌شود. پلی‌مورفیسم اشکال مختلفی دارد که یکی از انواع آن تغییر در کدون و به دنبال آن تغییر در ژنوتیپ ایجاد شده است. این تغییر منجر به ایجاد تفاوت در عملکرد طبیعی پروتئین اصلی می‌شود (۶). پلی‌مورفیسم با فراوانی بیش از یک درصد در جمعیت رخ می‌دهد در حالی‌که جهش با فراوانی کمتر از یک درصد در جمعیت رخ می‌دهد (۷ و ۸). کدون ۷۲ اگزون ۴ ژن *TP53* دارای پلی‌مورفیسم شایعی است که در اثر جابجایی C→G موجب تولید دو پروتئین (دارای اسیدآمینه آرژنین با کدون CGC یا پرولین با کدون CCC) با عملکرد متفاوت می‌شود و با بروز انواع سرطان‌های انسانی همانند کولورکتال، پستان و ریه ارتباط دارد (۱۱-۹). این جابجایی باعث ایجاد سه نوع ژنوتیپ می‌شود: هموزیگوت آرژنین (Arg/Arg)، هموزیگوت پرولین (Pro/Pro) و ژنوتیپ هتروزیگوت (Arg/Pro). این پلی‌مورفیسم ممکن است روی عملکرد آپوپتوتیک پروتئین p53 اثر بگذارد (۱۲ و ۱۳).

علاوه بر این نقش ویروس‌های پاپیلومای انسانی (Human Papillomavirus-HPV) به‌عنوان علل اساسی ضایعات خوش‌خیم و بدخیم مجاری تناسلی خصوصاً دهانه رحم ثابت شده است (۱۴) ولی سایر ویروس‌ها آلوده کننده نواحی تناسلی همانند ویروس‌های هرپس سیمپلکس (Herpes simplex viruses-HSV)، دارای نواحی ژنی می‌باشند که در ترانسفرماسیون سلولی نقش دارند و می‌توانند به‌عنوان فاکتورها یا کوفاکتورهای احتمالی در ایجاد ضایعات خوش‌خیم و بدخیم دستگاه تناسلی همانند سرویکس مطرح باشند (۱۵ و ۱۶). در ژنوم HSV دو ناحیه مجزا بنام mtrII و mtrIII وجود دارد که در ترانسفرماسیون سلولی نقش دارند، این دو ناحیه حاوی ژن‌های کدکننده تحت واحد کوچک و بزرگ ریبونوکلئوتید ردوکتاز می‌باشند و بیان نامناسب این آنزیم ممکن است نقش مهمی در ترانسفرماسیون سلولی توسط تغییر دادن مخازن دِاکسی نوکلئوزید تری‌فسفات داشته باشد. پروتئین RRA که جزء زیر واحد بزرگ آنزیم ریبونوکلئوتید ردوکتاز ویروس HSV است نقش بسیار مهمی در جهش و تقسیم سلولی بدون برنامه‌ریزی دارد که این امر خود باعث تمایل سلول به سمت سرطانی شدن می‌شود (۱۷ و ۱۸). در نتیجه بررسی نقش ویروس هرپس سیمپلکس، در ایجاد عفونت تناسلی و پیشرفت آسیب‌های بافتی حائز اهمیت می‌باشد. بنابراین مطالعه حاضر به‌منظور بررسی فراوانی ویروس‌های هرپس سیمپلکس انسانی نوع ۱ و ۲ (HSV-1,2) و ارزیابی دقیق پلی‌مورفیسم کدون ۷۲ ژن *TP53* در نمونه‌های بیوپسی سرویکس با هیستولوژی غیرنرمال در مقایسه با زنان سالم (به‌عنوان گروه کنترل) به روش Allele-specific PCR طراحی گردید.

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2025-11-05]
[DOI: 10.29252/ismj.21.1.19]

مواد و روش‌ها

در این تحقیق موردی- شاهدی، تعداد ۱۱۰ نمونه بیوپسی سرویکس با پاتولوژی غیرنرمال مربوط به ۱۱۰ بیمار، از آرشیو بخش پاتولوژی بیمارستان شهدای خلیج‌فارس بوشهر انتخاب شد و با استفاده از میکروتوم و تیغ‌های یکبار مصرف از هر نمونه ۱۰ برش با ضخامت ۱۰ میکرون تهیه گردید. همچنین جهت گروه کنترل تعداد ۱۶۴ نفر از نمونه‌های خانم‌های سالم به‌طور تصادفی، بعد از کسب رضایت شفایی انتخاب شدند. حجم نمونه با استفاده از نرم‌افزار GPower ۱۰-۰-۳ محاسبه گردید. میزان خطای الفا و بتا به‌ترتیب برابر ۰/۰۵ و ۰/۲۰ در نظر گرفته شد. در این مطالعه جهت استخراج DNA ، ابتدا پارافین‌زدایی با استفاده از زایلن انجام شد و بعد از شستشو با اتانول مطلق نمونه‌ها خشک گردید و سپس استخراج با کیت تجاری High Pure PCR Template Preparation Kit شرکت Rocheساخت کشور آلمان و براساس دستورالعمل آن صورت گرفت. سپس کیفیت و کمیت DNA استخراج شده با استفاده از دستگاه نانودراپ ساخت شرکت ترمو (کشور اوکراین) اندازه‌گیری گردید، میانگین غلظت DNA استخراج شده برابر ۱۰۰ نانوگرم بر میکرولیتر با دامنه ۵۰ تا ۲۰۰ نانوگرم بر میکرولیتر بود.

آنالیز ژنوتیپ ژن *TP53* در کدون ۷۲ با تکثیر اگزون شماره ۴ ژن *TP53* با استفاده از روش Allele-specific PCR انجام گردید (۱۹ و ۲۰). شناسایی ویروس هرپس سیمپلکس، با استفاده از پرایمرهای اختصاصی که ناحیه گلیکوپروتئین D(Glycoprotein D) را در بر می‌گرفتند، انجام شد (۲۱). واکنش PCR در حجم ۲۵ میکرولیتر، شامل ۲/۵ میکرولیتر از 10X بافر PCR، ۳/۴ میکرولیتر از $15mM\ MgCl_2$ (غلظت نهایی۲mM)، ۰/۵ میکرولیتر dNTP (۲۰۰ µM)، ۱ میکرولیتر از هر پرایمر مستقیم و معکوس (۱۰ پیکومول)، ۰/۲ میکرولیتر (یک واحد) آنزیم DNA پلی‌مراز Taq (شرکت Roche، کشور آلمان)، ۲ میکرولیتر DNA ژنومیک (غلظت نهایی ۱۰۰ تا ۱۵۰ نانوگرم) بود و با ۱۴/۴ میکرولیتر آب استریل تزریقی حجم نهایی به ۲۵ میکرولیتر رسانده شد (۲۲). توالی پرایمرهای اختصاصی جهت تکثیر آلل پرولین، آلل آرژنین و توالی پرایمرهای اختصاصی جهت تکثیر همزمان ویروس‌های HSV-1 و HSV-2 در جدول ۱ آورده شده است.

جدول ۱) توالی پرایمرهای استفاده شده در این مطالعه

ژن هدف	نام پرایمرها	توالی پرایمرها از جهت '3→'5	طول آمپلیکون	دما اتصال	زمان اتصال	رفرنس
HSV1,2-gD	HSV-F1	ATCCGAACGCAGCCCCGCTG	۳۸۳ bp	۶۵C	۳۰ ثانیه	(۲۱)
	HSV-R1	TCCGGSGGCAGCAGGGTGCT				
Proline allele-TP53	Pro-F	GCCAGAGGCTGCTCCCCC	۱۷۷ bp	۵۶ C	۳۰ ثانیه	(۱۹ و ۲۰)
	Pro-R	CGTGCAAGTCACAGACTT				
Arginine allele-TP53	Arg-F	TCCCCCTTGCCGTCCCAA	۱۴۱ bp	۶۲C	۳۰ ثانیه	(۱۹ و ۲۰)
	Arg-R	CTGGTGCAGGGGCCACGC				

شرایط دمایی و زمانی هر دو PCR به‌صورت زیر در دستگاه ترموسایکلر تنظیم گردید: ۱) مدت زمان ۵ دقیقه واسرشت‌سازی اولیه برای هر سه PCR، ۲) PCR جهت آلل پرولین با ۳۵ چرخه در دماهای ۹۴ درجه

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2025-11-05]

[DOI: 10.29252/ismj.21.1.19]

به‌مدت ۳۰ ثانیه، ۵۶ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۳۰ ثانیه و ۷۲ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱ دقیقه، ۳) PCR جهت آلل آرژنین با ۳۵ چرخه در دماهای ۹۴ به‌مدت ۳۰ ثانیه، ۶۲ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۳۰ ثانیه و ۷۲ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱ دقیقه، ۴) PCR جهت تشخیص ویروس‌های HSV1 و HSV2 با ۳۵ چرخه در دماهای ۹۴ به‌مدت ۳۰ ثانیه، ۶۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۳۰ ثانیه و ۷۲ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱ دقیقه، ۵) مدت زمان ۱۰ دقیقه بسط نهایی برای هر سه PCR. محصول PCR برای آلل پرولین، آلل آرژنین و ویروس HSV به‌ترتیب برابر ۱۷۷bp، ۱۴۱bp و ۳۸۳bp می‌باشد، که بر روی ژل آگاروز ۳ درصد در ولتاژ ۱۰۰V به‌مدت ۹۰ دقیقه الکتروفورز گردید و با استفاده UV Transluminator مشاهده گردید (۱۹ و ۲۰).

تجزیه و تحلیل داده‌ها با نرم‌افزار SPSS ویراست ۱۷ و با آزمون‌های آماری مربع کای و آزمون دقیق فیشر مورد بررسی قرار گرفتند. جهت مقایسه توزیع فراوانی سه ژنوتیپ مختلف کدون ۷۲ ژن *TP53* در نمونه‌های سرویکس با هیستولوژی غیرنرمال با توزیع فراوانی این سه ژنوتیپ در نمونه‌های گروه کنترل از آزمون رگرسیون لجستیک استفاده شد. مقادیر p کمتر از ۰/۰۵ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

در این پژوهش، تعداد ۱۱۰ نمونه جمع‌آوری گردید که ۵ نمونه به دلیل نداشتن شرایط مناسب حذف شدند و عملیات استخراج DNA روی ۱۰۵ نمونه انجام شد. در نهایت ۱۰۵ نمونه سرویکس با هیستولوژی غیر نرمال و ۱۶۴ نمونه سالم در شهر بوشهر مورد بررسی قرار گرفت. میانگین سنی در گروه بیماران برابر ۹/۴۶±۴۴/۶۷ با دامنه سنی ۱۹ تا ۶۸ سال می‌باشد. در گروه کنترل میانگین سنی برابر ۱۱/۶۱ ±۴۷/۲۷ با دامنه سنی ۲۳ تا ۸۰ سال می‌باشد. نمونه‌های بافتی بیماران دارای نتایج پاتولوژی متاپلازی، Metaplasaia، Dysplasia، Hyperplasia Papillary، Polypoid، Cancer بودند. برای مشخص نمودن پلی‌مورفیسم کدون ۷۲ ژن *TP53* از پرایمرهای اختصاصی برای آلل آرژنین و آلل پرولین با روش واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) استفاده شد که طول محصول PCR برای آلل پرولین ۱۷۷ جفت باز و آلل آرژنین ۱۴۱ جفت باز بود. توزیع ژنوتیپ‌های کدون ۷۲ ژن *TP53* در اگزون ۴ در گروه بیمار و کنترل در جدول ۲ نشان داده شده است.

جدول ۲) توزیع فراوانی ژنوتیپ و آلل کدون ۷۲ ژن *TP53* در گروه کنترل و بیمار

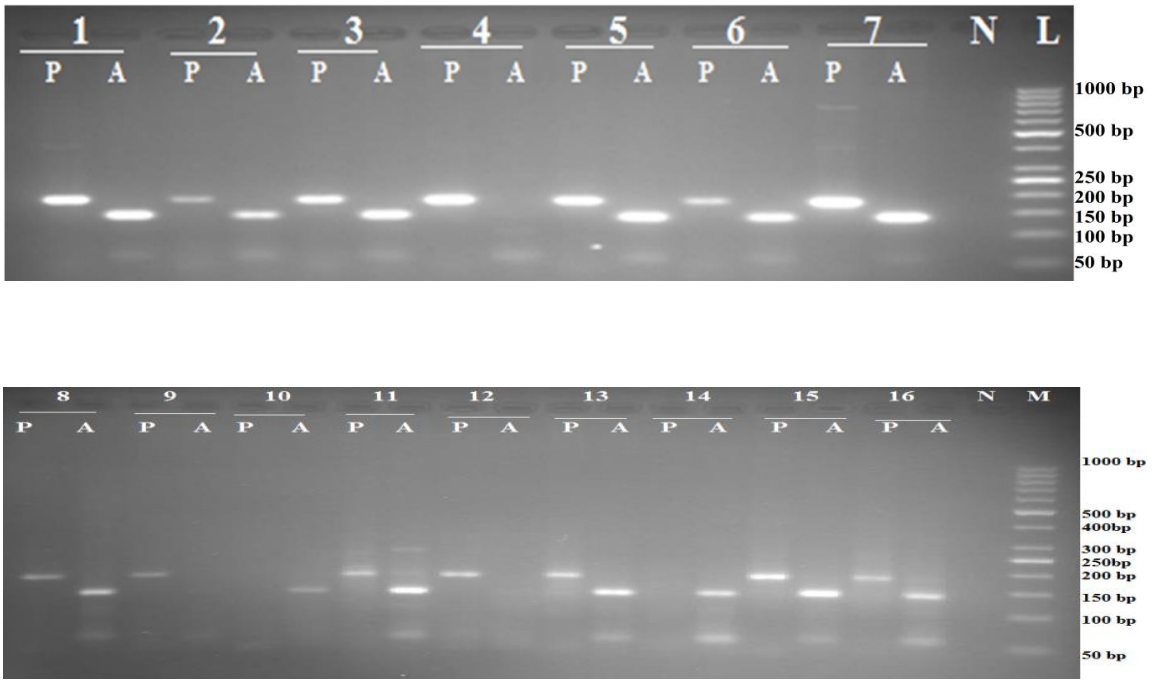
		فراوانی بیمار (٪)	فراوانی کنترل (٪)	OR (CI ٪ ۹۵)	*p* value
ژنوتیپ	Arg/Pro	۶۵(۶۱/۹)	۹۲(۵۶/۱)	۱/۰	۰/۱۲
	Arg/Arg	۲۰(۱۹/۰۵)	۵۰(۳۰/۱)	۱/۷۶	۰/۰۷
	Pro /Pro	۲۰(۱۹/۰۵)	۲۲(۱۳/۴)	۰/۷۷	۰/۴۷
آلل پرولین	Pro +	۸۵(۸۱)	۱۱۴(۶۹/۵)	۱/۰	۰/۰۴
	Pro -	۲۰(۱۹)	۵۰(۳۰/۵)	۱/۸۶(۱/۰۳-۳/۳۶)	
آلل آرژنین	Arg +	۸۵(۸۱)	۱۴۲(۸۶/۶)	۱/۰	۰/۲۲
	Arg -	۲۰(۱۹)	۲۲(۱۳/۴)	۰/۶۶(۰/۳۴-۱/۲۷)	
	کل	۱۰۵(۱۰۰)	۱۶۴(۱۰۰)		

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2025-11-05]

[DOI: 10.29252/ismj.21.1.19]

فراوانی ژنوتیپی هموزیگوت Arg/Arg در نمونه‌های بیمار ۱۹/۰۵ درصد و در نمونه‌های کنترل ۳۰/۱ درصد بود. فراوانی ژنوتیپ هموزیگوت Pro/Pro در نمونه‌های بیمار ۱۹/۰۵ درصد و در نمونه‌های کنترل ۱۳/۴ درصد می‌باشد. فراوانی ژنوتیپ هتروزیگوت Arg/Pro در نمونه‌های بیمار ۶۱/۹ درصد و در نمونه‌های کنترل ۵۶/۱ درصد بود.

نتایج با استفاده از آزمون رگرسیون لجستیک بررسی گردید مقدار *p* در سه ژنوتیپ Arg/Pro، ۰/۱۲ و ژنوتیپ Arg/Arg، ۰/۰۷ و ژنوتیپ Pro/Pro، ۰/۴۷ بود، بنابراین ارتباط معنی‌داری بین ژنوتیپ‌های هتروزیگوت و هموزیگوت‌های کدون ۷۲ ژن *TP53* در گروه بیمار و کنترل وجود نداشت. همچنین در این مطالعه دو آلل آرژنین و پرولین نیز بررسی گردید که نتایج حاصل از بررسی فراوانی دو آلل آرژنین و پرولین در دو گروه بیمار و کنترل نشان داد که افراد فاقد آلل پرولین در گروه بیمار (۱۹ درصد) نسبت به گروه کنترل (۳۰/۵ درصد) کمتر بوده‌اند. با استفاده از آزمون رگرسیون لجستیک مشخص شد که ارتباط معنی‌دار بین آلل پرولین در میان افراد سالم و افراد بیمار وجود دارد (p=۰/۰۴) (۳/۳۶-۱/۰۳: ۹۵ درصد CI، OR=۱/۸۶). همچنین افراد فاقد آلل آرژنین در گروه بیمار (۱۹ درصد) بیشتر از گروه کنترل (۱۳/۴ درصد) می‌باشد ولی این اختلاف از لحاظ آماری معنادار نبود (p=۰/۲۲). در این مطالعه ویروس HSV در هیچ‌کدام از نمونه‌های بیوپسی شناسایی نگردید.



شکل ۱) نتایج الکتروفورز ژل آگاروز محصولات PCR مربوط به آلل پرولین (A) باند ۱۴۱bp و آلل آرژنین (P) باند ۱۷۷bp مربوط به ۱۶ نمونه را نشان می‌دهد. L: نشانگر مولکولی ۵۰bp شرکت فرمنتاز، M: نشانگر مولکولی ۱۰۰bp شرکت سیموبیو، N: کنترل منفی.

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2025-11-05]
[DOI: 10.29252/ismj.21.1.19]

بحث

پروتئین طبیعی سرکوبگر تومور p53 نقش محافظت از ژنوم در مقابل صدمات وارده را بر عهده دارد که منجر به ترمیم ژنوم و یا آپوپتوزیس سلولی می‌شود. تغییرات مولکولی در ژن *TP53* از جمله جهش و پلی‌مورفیسم کدون ۷۲ بر روی عملکرد آپوپتوزی این پروتئین نقش داشته و با رشد و توسعه سرطان ارتباط دارد (۵ و ۶). وجود یک SNP (دارای اسیدآمینه آرژنین با کدون CGC یا پرولین با کدون CCC) در اگزون ۴ ژن *TP53* باعث حضور اسیدآمینه آرژنین یا پرولین در کدون ۷۲ می‌گردد (۱۹). این پلی‌مورفیسم تحت تأثیر نژاد و موقعیت جغرافیایی است (۲۳).

نتایج به‌دست آمده از مطالعه ما نشان داد که ارتباط معنی‌داری میان پلی‌مورفیسم کدون ۷۲ ژن *TP53* (سه ژنوتیپ Arg/Pro، Arg/Arg و Pro/Pro) و ضایعات بافت دهانه رحم در زنان بوشهری وجود ندارد. در این مطالعه میانگین سنی در گروه بیمار برابر ۹/۴۶±۴۴/۶۷ با دامنه سنی ۱۹ تا ۶۸ سال و در گروه کنترل میانگین سنی برابر ۱۱/۶۱±۴۷/۲۷ با دامنه سنی ۲۳ تا ۸۰ سال می‌باشد. در پژوهش حاضر، از طریق تجزیه و تحلیل آماری نتایج ۱۰۵ نمونه بیمار و مقایسه آن با ۱۶۴ نمونه کنترل در شهر بوشهر ارتباط معنی‌داری بین ژنوتیپ‌های هتروزیگوت و هموزیگوت‌های کدون ۷۲ ژن *TP53* با بیوپسی‌های سرویکس با هیستولوژی غیرنرمال مشاهده نشد. فراوانی ژنوتیپی هموزیگوت Arg/Arg در نمونه‌های بیمار ۱۹/۰۵ درصد و در نمونه‌های کنترل ۳۰/۱ درصد، فراوانی ژنوتیپ هموزیگوت Pro/Pro در نمونه‌های بیمار ۱۹/۰۵ درصد و در نمونه‌های کنترل ۱۳/۴ درصد و فراوانی ژنوتیپ هتروزیگوت Arg/Pro در نمونه‌های بیمار ۶۱/۹ درصد و در نمونه‌های کنترل ۵۶/۱ درصد بود.

در مطالعه ما نتایج حاصل از بررسی فراوانی دو آلل آرژنین و پرولین نشان داد که افراد فاقد آلل پرولین در گروه بیمار (۱۹ درصد) نسبت به گروه کنترل (۳۰/۵ درصد) کمتر بوده‌اند و ارتباط معنی‌دار بین آلل پرولین در میان افراد سالم و افراد بیمار وجود دارد (p=۰/۰۴)، همچنین افراد فاقد آلل آرژنین در گروه بیمار (۱۹ درصد) بیشتر از گروه کنترل (۱۳/۴ درصد) بودند ولی این اختلاف از لحاظ آماری معنادار نبود (p=۰/۲۲). نتایج به‌دست آمده از بررسی توزیع آلل آرژنین و پرولین توسط اُمُری (Omori) و همکاران در میان زنان ژاپنی (۲۴)، پیلای (Pillai) و همکاران در جنوب هند (۲۵) و کوآمو (Kouamou) و همکاران در زیمبابوه (۲۶) نشان دادند فراوانی آلل پرولین در گروه بیمار بیشتر از گروه کنترل می‌باشد که با مطالعه حاضر مطابقت دارد، درحالی‌که با نتایج به‌دست آمده توسط دُمُنت (Domont) و همکاران (۱۳) و باسیار (Basyar) و همکاران (۲۷) مغایرت دارد.

همچنین در مطالعه‌ای که توسط آسومو (Assoumou) و همکاران (۲۸) در بین زنان گابنی و مالیسیس (Malisice) و همکاران (۲۹) در میان زنان صربستانی انجام دادند، مشخص گردید پلی‌مورفیسم کدون ۷۲ ژن *TP53* نقشی در ابتلا به سرطان دهانه رحم در بین این جمعیت‌ها ندارد، که این نتیجه نیز با مطالعه حاضر مطابقت دارد. در مطالعهٔ کوآمو (Kouamou) و همکاران که در میان زنان زیمبابوه‌ای انجام دادند نیز ارتباط معنی‌داری بین ژنوتیپ‌های هتروزیگوت و هموزیگوت‌های کدون ۷۲ ژن *TP53* در میان دو گروه بیمار و کنترل وجود نداشت و مشخص گردید پلی‌مورفیسم کدون ۷۲ ژن *TP53* نقشی در ابتلا به سرطان دهانه رحم در بین این جمعیت ندارد (۲۶).

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2025-11-05]

[DOI: 10.29252/ismj.21.1.19]

همان‌طور که ملاحظه می‌شود سایر مطالعات گذشته از بعضی جنبه‌ها متفاوت و در بعضی دیگر مشابه می‌باشد و این نشان دهنده آن است که ژنوتیپ کدون ۷۲ ژن *TP53* می‌تواند عملکردهای مختلف اپی‌ژنتیکی در مناطق مختلف جغرافیایی داشته باشد و یا عواملی دیگر می‌تواند در عملکرد این ژن بسیار مهم نقش داشته باشد.

در یک مطالعه متاآنالیز که توسط لی (Li) و همکاران در سال ۲۰۱۵ در کشور چین انجام گردید، ارتباط معنی‌دار آماری بین توزیع پلی‌مورفیسم ژن *TP53* در گروه کنترل و مبتلایان به سرطان دهانه رحم وجود دارد، مطالعه لی (Li) نشان داد که ژنوتیپ هموزیگوت Pro/Pro کدون ۷۲ ژن *TP53* ممکن است یکی از عوامل مستعد کننده ژنتیکی برای سرطان دهانه رحم در چین باشد (۱/۴۶-۱/۰۱: ۹۵ درصد CI، OR=۱/۲۲) (۳۰)، در مطالعه ما نیز ژنوتیپ هموزیگوت Pro/Pro در گروه مورد بیشتر از گروه کنترل بود گرچه این افزایش از نظر آماری معنی‌دار نبود. همچنین در مطالعه‌ای که توسط دُمُنت (Domont) و همکاران انجام گرفت مشاهده گردید که فرم دارای آرژنین پروتئین p53 دارای قدرت بیشتری برای القاء آپوپتوز می‌باشد (۱۳) آنها با استفاده از فرم جهش یافته پروتئین p53 حساس به حرارت مشاهده کردند که فرم آرژنین‌دار p53 به‌طور مؤثری به میتوکندری انتقال می‌یابد جایی که با پروتئین‌های پروآپوپتوتیک نظیر GRP57 و Hsp60 واکنش نشان می‌دهد و سبب راه اندازی آپوپتوز می‌شود (۳۱). علاوه بر این در سه مطالعه دیگر انجام گرفته اشاره شد که فرم آرژنین‌دار پروتئین p53 هم در حضور (۳۱) و هم در عدم حضور شیمی درمانی دارای قدرت بیشتری برای آپوپتوز نسبت به فرم دارای واریانت پرولین می‌باشد (۳۲ و ۳۳).

بنابراین با توجه به مطالعات فوق یکی از دلایل فراوانی کم واریانت آرژنین در نمونه‌های بیمار نسبت به کنترل و همچنین فراوانی بیشتر واریانت پرولین در نمونه‌های بیمار نسبت به نمونه‌های کنترل در مطالعه ما احتمالاً می‌تواند ناشی از این خصوصیت باشد که افراد دارای پرولین در مقایسه با افراد دارای آرژنین کمتر به فرایند آپوپتوز پاسخ می‌دهند.

همچنین در مطالعات مختلفی به بررسی ویروس HSV در نمونه‌های سرطانی یا با هیستولوژی غیرنرمال دهانه رحم پرداخته‌اند. در مطالعه‌ای که شانه‌ساززاده و همکاران به روش (Real time-PCR) انجام دادند میزان جداسازی ویروس HSV فقط ۲/۳ درصد بود که این محققان اعلام کردند هیچ ارتباطی بین این ویروس و بدخیمی دهانه رحم وجود ندارد (۳۴). در مطالعه ما نیز ارتباط میان عفونت HSV در نمونه‌های سرطانی یا نمونه‌هایی با هیستولوژی غیرنرمال دهانه رحم یافت نشد.

نتیجه‌گیری

بطورکلی نتایج حاصل از مطالعه ما نشان داد که با توجه به توزیع ژنوتیپ‌های کدون ۷۲ ژن *TP53*، ارتباط آماری معناداری بین ژنوتیپ‌ها در میان دو گروه بیمار و کنترل وجود ندارد ولی با توجه به بررسی فراوانی دو آلل آرژنین و پرولین در دو گروه بیمار و کنترل مشخص شد که افراد فاقد آلل پرولین در گروه بیمار نسبت به گروه کنترل کمتر بوده‌اند همچنین افراد فاقد آلل آرژنین در گروه بیمار بیشتر از گروه کنترل می‌باشد بنابراین احتمالاً بیشتر بودن آلل پرولین و کمتر بودن آلل آرژنین

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2025-11-05]

[DOI: 10.29252/ismj.21.1.19]

در گروه بیمار می‌تواند با نتایج پاتولوژی غیر نرمال دهانه رحم در استان بوشهر ارتباط داشته باشد.

با این وجود پیشنهاد می‌شود که جهت ارزیابی نقش دقیق‌تر پلی‌مورفیسم کدون ۷۲ ژن *TP53* در بدخیمی‌ها و سرطان دهانه رحم مطالعه اثرات برهم‌کنش ژن *TP53* با سایر ژن‌ها از قبیل *MDM-2* و *AKT* و همچنین بررسی اثر جهش‌ها نیز به‌کار گرفته شود. از محدودیت‌های مطالعه ما این است که به سایر فاکتورهای خطر دخیل در ضایعات دهانه رحم از جمله مصرف دخانیات و یا وضعیت تأهل دسترسی نداشتیم. همچنین کم بودن حجم نمونه باعث کاهش دقت مطالعه می‌گردد بنابراین انجام مطالعات بیشتر با حجم نمونه وسیع‌تر برای ارزیابی نقش دقیق‌تر این پلی‌مورفیسم همراه با بکارگیری روش‌های مولکولی حساس‌تر همانند real-time PCR و بررسی سایر عوامل از جمله ابتلای به ویروس HPV پیشنهاد می‌شود.

سپاس و قدردانی

این مقاله حاصل پایان نامهٔ مقطع کارشناسی ارشد ژنتیک می‌باشد که تحت حمایت مالی سازمانی یا موسسه‌ای نیست. محققان و نویسندگان این مقاله بدین‌وسیله مراتب تقدیر و تشکر خود را از همکاری صمیمانه همکاران مرکز تحقیقات طب گرمسیری و عفونی خلیج‌فارس اعلام می‌نمایند.

تضاد منافع

هیچ گونه تعارض منافع توسط نویسندگان بیان نشده است.

References:

1.Sankaranarayanan R, Thara S, Esmy PO, et al. Cervical cancer: screening and therapeutic perspectives. Medical Principles and Practice 2008;17(5):351-64.
2.Ferlay J, Steliarova-Foucher E, Lortet-Tieulent J, Rosso S, et al. Cancer incidence and mortality patterns in Europe: estimates for 40 countries in 2012. European journal of cancer 2013;49(6):1374-403.
3.Khan SA, Thomas HC, Toledano MB, et al. p53 Mutations in human cholangiocarcinoma: a review. Liver international 2005; 25(4): 704-16.
4.Gomez-Lazaro M, Fernandez-Gomez FJ, Jordan J. p53: twenty five years understanding the mechanism of genome protection. Journal of physiology and biochemistry 2004; 60(4):287-307.
5.Pietsch E, Humbey O, Murphy M. Polymorphisms in the p53 pathway. Oncogene 2006; 25(11):1602-11.
6.Murphy M. Polymorphic variants in the p53 pathway. Cell Death & Differentiation 2006;13(6):916-20.
7.Vogelstein B, Lane D, Levine AJ. Surfing the p53 network. Nature 2000; 16; 408(6810): 307-10.
8.Karki R, Pandya D, Elston RC, et al. Defining "mutation" and "polymorphism" in the era of personal genomics. BMC Medical Genomics 2015; 8:37.
9.Fan R, Wu MT, Miller D, et al. The p53 codon 72 polymorphism and lung cancer risk. Cancer epidemiology, biomarkers & prevention: a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology 2000; 9(10):1037-42.
10.Noma C, Miyoshi Y, Taguchi T, et al. Association of p53 genetic polymorphism (Arg72Pro) with estrogen receptor positive breast cancer risk in Japanese women. Cancer letters 2004; 210(2):197-203.
11.Pérez LO, Abba MC, Dulout FN, Evaluation of p53 codon 72 polymorphism in adenocarcinomas of the colon and rectum in La

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2025-11-05]
[DOI: 10.29252/ismj.21.1.19]

Plata, Argentina. World J Gastroenterol 2006; 12(9):1426-9.
12.Trifa F, Karray-Chouayekh S, Mabrouk I, et al. Haplotype analysis of p53 polymorphisms: Arg72Pro, Ins16bp and G13964C in Tunisian patients with familial or sporadic breast cancer. Cancer epidemiology 2010; 34(2): 184-8.
13.Dumont P, Leu JI, Della Pietra AC, The codon 72 polymorphic variants of p53 have markedly different apoptotic potential. Nature genetics 2003; 33(3):357-65.
14.IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Human papillomaviruses. IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum. 2007; 90: 1-6.
15.Ermel AC, Brown DR. Viral Infections. In: Kasper DL, Fauci AS, editors. Harrison's Infectious Diseases. 3rd ed. New York: The McGraw-Hill Companies, 2017, 768-73.
16.Miller S. Human Tumour Viruses. In: Carroll KC, Butel JS, Morse SA, Mietzner TA, editors. Jawetz, Melnick, & Adelberg's Medical Microbiology. 27th ed. New York: McGraw-Hill Education, 2016, 619-39.
17.Jones C. Cervical cancer: is herpes simplex virus type II a cofactor? Clinical microbiology reviews 1995; 8(4): 549-56.
18.Alibek K, Baiken Y, Kakpenova A, et al. Implication of human herpesviruses in oncogenesis through immune evasion and supression. Infectious agents and cancer 2014; 9(3):1-8.
19.Storey A, Thomas M, Kalita A, et al. Role of a p53 polymorphism in the development of human papilloma-virus-associated cancer. Nature 1998; 393(6682):229-34.
20.Lattuada D, Vigano P, Somigliana E, et al. Analysis of the codon 72 polymorphism of the TP53 gene in patients with endometriosis. Molecular human reproduction 2004;10(9):651-4.
21.Read SJ, Kurtz JB. Laboratory diagnosis of common viral infections of the central nervous system by using a single multiplex PCR screening assay. Journal of clinical microbiology 1999;37(5):1352-5.
22.Taherkhani R, Farshadpour F, Makvandi M, et al. Determination of Cytomegalovirus Prevalence and Glycoprotein B Genotypes Among Ulcerative Colitis Patients in Ahvaz, Iran. Jundishapur journal of microbiology 2015;8(2):e17458.
23.Beckman G, Birgander R, Själander A, et al. Is p53 polymorphism maintained by natural selection? Human heredity 1994;44(5):266-70.
24.Omori S, Yoshida S, Kennedy SH, et al. Polymorphism at codon 72 of the p53 gene is not associated with endometriosis in a Japanese population. Journal of the Society for Gynecologic Investigation 2004;11(4):232-6.
25.Pillai RM, Sreevidya S, Pollock BH, Polymorphism at codon 72 of p53, human papillomavirus, and cervical cancer in South India. Journal of cancer research and clinical oncology 2002;128(11):627-31.
26.Kouamou V, Chin'ombe N, Matimba A, Ket al. P53 Codon 72 Polymorphism and the Risk of Cervical Cancer in Zimbabwean Women. International Journal of TROPICAL DISEASE & Health 2016;15(3):1-6.
27.Basyar R, Saleh AZ, Sastradinata I, et al. p53 Gene Codon 72 Polymorphisms among Cervical Carcinoma Patients. Indonesian Journal of Obstetrics and Gynecology 2015; 3(3):165-9.
28.Assoumou SZ, Boumba ALM, Ndjoyi-Mbiguino A, et al. The preliminary study of p53 codon 72 polymorphism and risk of cervical carcinoma in Gabonese women. Medical Oncology 2015;32(1):281.
29.Malisic E, Jankovic R, Brotto K, Radulovic S. TP53 codon 72 polymorphism and risk of cervical carcinoma in Serbian women. Archives of gynecology and obstetrics 2013; 288(3):621-5.
30.Li B, Wang X, Chen H, et al. TP53 codon 72 polymorphism and susceptibility to cervical cancer in the Chinese population: an update meta-analysis. International journal of clinical and experimental medicine 2015;8(6):9055-62.
31.Sullivan A, Syed N, Gasco M, et al. Polymorphism in wild-type p53 modulates response to chemotherapy in vitro and in vivo. Oncogene 2004; 23: 3328-37.
32.Pim D, Banks L. p53 polymorphic variants at codon 72 exert different effects on cell cycle progression. International journal of cancer 2004; 108(2): 196-9
33.Bergamaschi D, Samuels Y, Sullivan A, et al. iASPP preferentially binds p53 proline-rich region and modulates apoptotic function of codon 72-polymorphic p53. Nature genetics 2006; 38(10):1133-41.
34.Shanehsazzadeh M, Sharifi-Rad J, Behbahani M, et al. Analysis of Human Papillomavirus and Herpes Simplex Virus Genus-2 from Patients with Cervical Cancer in Isfahan, Iran. Mater Sociomed 2014; 26(4): 234-6.

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2025-11-05]

[DOI: 10.29252/ismj.21.1.19]

Iran South Med J 2018; 21(1): 19-28

Original Article

Codon 72 Polymorphism of *TP53 Gene* in Cervical Biopsies with Abnormal Histology in Bushehr Province

M. Zaker Hosseini (Msc)[1*], S. Naeimi (PhD)[1], M. Moradinasab (Msc)[2], S. Taherkhani (PhD)[3], F. Farshadpour (PhD)[4], A. Ansarifar (Msc)[4], R. Taherkhani (phD)[2**]

[1] Department of Genetics, Colleague of Science, Kazerun branch, Islamic Azad University, Kazerun, Iran
[2] The Persian Gulf Tropical Medicine Research Center, The Persian Gulf Biomedical Sciences Research Institute, Bushehr University of Medical Sciences, Bushehr, Iran
[3] Reproductive Health and Midwifery Department, School of Nursing and Midwifery, Shahroud University of Medical Sciences, Shahroud, Iran
[4] The Persian Gulf Marine Biotechnology Research Center, The Persian Gulf Biomedical Sciences Research Institute, Bushehr University of Medical Sciences, Bushehr, Iran

(Received 29 Mar, 2017 Accepted 11 Nov, 2017)

Abstract

Background: *TP53* tumor suppressor gene plays a role in repairing DNA damage as well as in cell apoptosis. This study was conducted to compare codon 72 polymorphism of *TP53* gene between abnormal cervical tissue samples and samples of healthy women as a control group. In addition the frequency of human herpes simplex viruses (HSV) in these samples was determined.
Material and Methods: In this case-control study, 110 biopsies of the cervix with abnormal pathology were examined from archives of the Department of Pathology at Shohadaye Khalij Fars Hospital, and 164 healthy women were selected as the control group. PCR test was used for detection of HSV, and Allele-specific PCR was used for analyzing codon 72 polymorphism of *TP53* gene. Data was analyzed in SPSS software.
Results: Distribution of codon 72 of *TP53* genotypes in patient and control groups was not statistically significant. Evaluation of the frequency of arginine and proline alleles in the patient and control groups revealed that fewer patients were without proline allele (19%) compared to the control (30.1%), and this difference was statistically significant (p=0.04), (OR: 1.03-3.36 ،CI 95%=1.86). Furthermore, there was no significant correlation between TP53 genotype and variables of the pathology report, age, ethnicity and place of residence. In this study, HSV was not detected in the samples.
Conclusion: Because of the significant difference in proline allele between the case and control groups, it appears that this allele is associated with the abnormal cervical pathology results in Bushehr Province.

Keywords: Polymorphism, *TP53* gene, Herpes simplex virus, Allele-specific PCR

©Iran South Med J. All rights reserved.

Cite this article as: Zaker Hosseini M, Naeimi S, Moradinasab M, Taherkhani S, Farshadpour F, Ansarifar A. Taherkhani R. Study of Codon 72 Polymorphism of TP53 Gene in Cervical Biopsies with Abnormal Histology in Bushehr Province. Iran South Med J 2018; 21(1): 19-28

Copyright © 2018 Zaker Hosseini, et al. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-noncommercial 4.0 International License which permits copy and redistribute the material just in noncommercial usages, provided the original work is properly cited.

***Address for correspondence:* The Persian Gulf Tropical Medicine Research Center, The Persian Gulf Biomedical Sciences Research Institute, Bushehr University of Medical Sciences, Bushehr, Iran. Email: taherkhanireza2005@yahoo.com
*ORCID: 0000-0002-7046-6653
**ORCID: 0000-0002-4099-7584

Website: http://bpums.ac.ir
Journal Address: http://ismj.bpums.ac.ir

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2025-11-05]

[DOI: 10.29252/ismj.21.1.19]