جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

● مجلهٔ دانشگاه علوم پزشکی کرمان، دورهٔ نوزدهم، شمارهٔ ۳، ص ۲۵۹-۲۵۳، ۱۳۹۱

مقالهٔ پژوهشی

فراوانی جهش‌های حذف و مضاعف در اگزون‌های ژن EGFR در بیماران مبتلا به سرطان مری در کرمان

محمدرضا لشکری‌زاده[۱]، محمدرضا بذرافشانی[۲*]، محمود آقایی‌افشار[۱]، ندا ظهیری[۳]، سمیه دهقان کوهستانی[۴]

خلاصه

مقدمه: سرطان مری، ششمین سرطان کشنده در دنیا و موارد ابتلا به آن در حال افزایش می‌باشد. انواع سنگفرشی و آدنوکارسینوما ۹۵ درصد از انواع سرطان‌های مری را تشکیل می‌دهند. اختلال در بیان ژن EGFR در پاتوفیزیولوژی بسیاری از بدخیمی‌های با منشأ اپی‌تلیال از جمله سرطان مری دخالت داشته و فاکتور مهمی در بررسی پیش‌آگهی و مرحله پیشرفت بالینی بیماری است. این پژوهش با هدف بررسی ارتباط جهش‌های حذف و مضاعف در اگزون‌های ژن EGFR در بیماران مبتلا به سرطان مری با استفاده از روش MLPA (Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification) انجام شد.

روش: تعداد ۶۰ نمونه از بلوک‌های پارافینه بیمارانی که به‌علت سرطان مری تحت بررسی بودند، جهت استخراج DNA مورد استفاده قرار گرفتند و با روش MLPA جهش‌های حذف و مضاعف ژن EGFR در طول ژن و در تمامی اگزون‌های آن مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: در ۸۲ درصد از ۶۰ نمونه بررسی شده، جهش ژنی مشاهده گردید که در ۵۲ درصد موارد، جهش از نوع حذف ژنی بوده و بیشترین میزان آن در اگزون ۲ (۴۴ درصد) رخ داده بود. در ۳۰ درصد موارد نیز جهش به‌صورت مضاعف گردیدن ژنی دیده شد که بیشترین میزان این نوع جهش (۵۴ درصد) در اگزون ۲۷ بود. در مواردی نیز حذف و یا اضافه هم‌زمان در بیش از یک اگزون مشاهده گردید.

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج این مطالعه و اینکه امروزه تشخیص قطعی سرطان مری با روش نمونه‌برداری از بافت و بررسی آسیب‌شناسی انجام می‌شود پیشنهاد می‌گردد که جهت تکمیل این مطالعه، بر روی تمامی نمونه‌ها، جهش حذفی و مضاعف‌شدگی ژن EGFR به‌ویژه در اگزون شماره دو و بیست و هفت بررسی شود، تا شاید در آینده بتوان به روش تشخیصی مولکولی غیرتهاجمی دست یافت.

واژه‌های کلیدی: جهش، EGFR، سرطان، MLPA، مری

۱- استادیار گروه جراحی، دانشکده پزشکی افضلی‌پور و مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان ۲- استادیار گروه ژنتیک پزشکی، دانشکده پزشکی افضلی‌پور و مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان ۳- دستیار جراحی، دانشکده پزشکی افضلی‌پور، دانشگاه علوم پزشکی کرمان ۴- کارشناس آزمایشگاه ژنتیک پزشکی دکتر بذرافشانی

* **نویسنده مسؤول، آدرس:** کرمان، بزرگراه امام، دانشکده پزشکی افضلی‌پور، گروه ژنتیک پزشکی ● **آدرس پست الکترونیک:** bazr61@yahoo.co.uk

دریافت مقاله: ۱۳۹۰/۱/۲۲ **دریافت مقاله اصلاح شده:** ۱۳۹۰/۹/۲۸ **پذیرش مقاله:** ۱۳۹۰/۱۰/۲۱

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مقدمه

سرطان مری ششمین سرطان کشنده در دنیا و یک سرطان در حال افزایش در بین آحاد جامعه است. ایران نیز از جمله کشورهای با شیوع بالای سرطان مری است (۱) گونه‌های (سنگفرشی) اسکواموس و آدنوکارسینوما ۹۵ درصد از انواع مختلف سرطان‌های مری را تشکیل می‌دهند (۲) و سیگار از عوامل اصلی ایجاد این‌گونه سرطان مری است (۳). از آنجایی که بیش از ۹۰ درصد موارد سرطان مری در مراحل انتهایی تشخیص داده می‌شوند، بنابراین علی‌رغم پیشرفت در روش‌های تشخیص و درمان، پیش‌آگهی سرطان مری هنوز ضعیف بوده و امید به زندگی ۵ ساله بعد از تشخیص بین ۱۰ تا ۳۰ درصد است (۲).

سرطان را می‌توان یک بیماری ژنتیکی دانست که در اثر ایجاد چندین جهش (اعم از جابه‌جایی، حذف و یا افزایش نوکلئوتید) در ژن‌های یک سلول و سرانجام رشد و تکثیر کنترل نشده (عدم کنترل چرخه سلولی) سلول اتفاق می‌افتد. این ژن‌ها ممکن است برخی از انکوژن‌ها را فعال کنند و یا اینکه عملکرد برخی از ژن‌های سرکوبگر تومور را از بین ببرند (۴).

EGFR یک انکوژن است که از ۲۸ اگزون به طول ۱۸۸kbp تشکیل شده است. فعال شدن EGFR با ایجاد تغییراتی نظیر افزایش تکثیر سلولی، آنژیوژنز، افزایش قدرت تهاجم و متاستازهمراه بوده و از عوامل خطرساز در ایجاد سرطان می‌باشد (۵). EGFR ، در پاتوفیزیولوژی بسیاری از بدخیمی‌های با منشأ اپی‌تلیال از جمله سرطان مری دخالت دارد (۶). این ژن همچنین نقش مهمی در بررسی پیش‌آگهی و پیشرفت مرحله بالینی بیماری دارد. بین سطوح بالای EGFR و HER- 2 در سرطان مری از نوع سنگفرشی (اسکواموس یا Scc) و تهاجم به عروق (آنژیوژنز) و پیش‌آگهی ضعیف بیماری، ارتباط معنی‌دار گزارش شده است (۷). تعیین اختلالات این ژن همچنین می‌تواند در میزان کنترل بیماری در مواردی که استفاده از آنتی‌بادی‌های علیه آن در درمان به کار گرفته می‌شود، نقش داشته باشد (۸).

ژن درمانی به عنوان یک روش درمانی بالقوه در کنترل فرآیندهای ژنتیکی سلول‌های سرطانی و نیز درمان بیماری‌های متابولیک در حال بررسی و پیشرفت است. زمینه فعالیت ژن درمانی سرطان بسیار وسیع بوده و از جایگزین کردن یک ژن سرکوبگر تومورکه جهش یافته یا حذف شده تا تحریک سیستم ایمنی بر علیه سلول‌های سرطانی متغیر است بنابراین بررسی‌های ژنتیکی ژن‌هایی از قبیل EGFR می‌تواند کمک شایانی به پیشرفت این روش نماید (۴).

در اکثر مطالعات مربوط به سرطان مری، از مهارگرهای EGFR مانند Celuximab، Gefitinib، Erlotinib و Trastuzumab استفاده شده است. اکنون هدف درمانی (Target Therapy)، اغلب با احتیاط و به موازات شیمی درمانی و پرتوتابی استفاده می‌شود (۸). مطالعات نشان داده‌اند که ترکیب داروهای ضد EGFR و پرتوتابی می‌تواند در بهبود پیش‌آگهی این بیماران مؤثر باشد (۹). هرچند در این زمینه به مطالعات بیشتری نیاز است.

در حال حاضر در کشورهای مختلف دنیا مطالعاتی بر روی جهش‌های EGFR در انواع سرطان‌ها با تعداد محدودی رده سلولی انجام شده است. بررسی توالی کل ژن از نظر ژنتیکی مخصوصاً در زمینه سرطان از اولویت خاصی برخوردار است، به‌طوری که امروزه در مطالعات ژنتیکی بررسی توالی کل ژن، تنها روش توصیه شده برای تعیین اختلال ژنتیکی در سرطان‌ها است (۱۰).

روش (MLPA) اولین بار توسط Schouten و همکاران در سال ۲۰۰۲ توصیف شد و یک روش مولتی پلکس PCR است که قادر به تعیین جهش‌های ژنی در توالی RNA یا DNA تمایز توالی‌ها، حتی در سطح یک نوکلئوتید است (۹). بنابراین هدف از این مطالعه پیدا کردن فراوانی جهش‌های از نوع حذف و مضاعف شدن اگزون‌های ژن

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

EGFR با استفاده از تکنیک MLPA در بیماران مبتلا به سرطان مری در کرمان به‌عنوان گامی درجهت پیش‌آگهی و یافتن روش درمانی مؤثرتر می‌باشد.

روش بررسی

در این بررسی توصیفی (Cross- Sectional) تعداد ۶۰ بیمار مبتلا به سرطان مری نوع سنگفرشی که بین سال‌های ۱۳۷۶ تا ۱۳۸۹ در مرکز آموزشی درمانی افضلی‌پور کرمان تحت بررسی اندوسکوپی یا جراحی قرار گرفته بودند از نظر وجود جهش‌های حذف یا مضاعف‌شدگی در اگزون‌های ژن EGFR مورد مطالعه قرار گرفتند.

ابتدا خصوصیات آسیب‌شناسی (بافت‌شناسی و درجه پیشرفت تومور) و جمعیت‌شناختی (جنس و سن) بیماران از پرونده‌های پاتولوژی موجود در بیمارستان استخراج گردید. سپس حدود ۲۵ میلی‌گرم از بافت پارافینه هر بیمار به‌منظور انجام آزمایشات مولکولی انتخاب و با میکروتوم به‌صورت ورقه‌هایی به ضخامت یک میلی‌متر برش زده شد. برش‌ها سه بار با زایلن شستشو و پس از پارافین‌زدایی و لیزکردن بافت‌ها، DNA ژنومی با استفاده از کیت استاندارد استخراج DNA تخلیص و جهت تعیین وجود جهش‌های مورد نظر در اگزون‌های ژن با روش MLPA، استفاده شد. بدین منظور پس از دناتوره کردن DNA نمونه‌ها در ۹۵ درجه سانتی‌گراد، عمل هیبریداسیون با استفاده از پروب‌های فلورسنت انجام و در نهایت جهت تکثیر قطعات DNA هدف، نمونه‌ها در ترموسایکلر قرار گرفتند.

نمونه DNAهای فاقد حذف و مضاعف‌شدگی در ژن مورد بررسی به‌عنوان کنترل منفی استفاده شدند. بعد از اینکه روند تکثیر پروب‌ها خاتمه یافت، نمونه‌های تکثیر یافته توسط دستگاه DNA Sequencer (ABI 3130) الکتروفورز گردیده و در پایان داده‌های خام با استفاده از نرم‌افزار Gene Marker مورد آنالیز قرار گرفتند. با توجه به این که جهش‌هایی که در ژن EGFR باعث غیرفعال کردن آن می‌شود، از نوع حذف و یا مضاعف شدن نوکلئوتیدی گزارش شده‌اند، بنابراین، در صورت وجود اینگونه جهش‌های ژنی در هر یک از نمونه‌ها، مقدار محصول تکثیریافته توسط پروب‌های کیت، بسته به مورد و به ترتیب کاهش و یا افزایش خواهد یافت و با توجه به این که میزان فلورسانس ساطع شده از هر نمونه در دستگاه Sequencer متناسب با مقدار محصول می‌باشد، پس اگر میزان فلورسانس نمونه‌ای در یک ناحیه مشخص نسبت به میزان فلورسانس مرجع در همان ناحیه کمتر باشد، به‌عنوان حذف و بالعکس اگر میزان فلورسانس نمونه‌ای در یک ناحیه مشخص نسبت به میزان فلورسانس مرجع در همان ناحیه بیشتر باشد، نشان‌دهنده جهش مضاعف‌شدگی در آن ناحیه است.

نتایج

در ۶۰ نمونه سرطان مری از نوع سلول سنگفرشی که ۵۳ نمونه با جراحی و۷ نمونه از طریق بیوپسی-اندوسکوپی به‌دست آمده بودند، جهش‌های حذف یا مضاعف شدن اگزون‌های ژن EGFR با استفاده از روش MLPA مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج به‌دست آمده نشان داد که ۵۲ درصد نمونه‌ها دارای جهش حذفی در اگزون‌های ژن مورد نظر هستند. جهش‌های حذفی در اگزون‌های ۲، ۳، ۱۱، ۱۲، ۱۷، ۱۸، ۱۹ و ۲۰ مشاهده شد و بیشترین میزان حذف در اگزون ۲ و ۱۹ به‌ترتیب به‌میزان ۴۴٪ و ۲۹٪ رخ داده بود. در اگزون‌های ۱،۴، ۶ و ۲۷ حذفی مشاهده نگردید. در بعضی نمونه‌ها حذف هم‌زمان به‌صورت ترکیبی در اگزون‌های (۲ و۱۹)، (۲ و۱۷ و ۱۸ و ۲۰)، (۲ و ۲۰)، (۲ و ۳ و ۲۰)، (۲ و ۱۱ و ۱۷ و ۱۸ و۲۰) و (۲ و ۱۸ و ۲۰) اتفاق افتاده بود و بیشترین میزان حذف هم‌زمان در اگزون‌های۲ و ۱۹ (۵۵٪) دیده شد.

موارد جهش به‌صورت مضاعف شدگی در اگزون‌های ۱، ۶ و ۲۷ اتفاق افتاده بود و بیشترین میزان این نوع جهش در اگزون (۵۴٪) ۲۷ بود. به‌علاوه در برخی نمونه‌ها مضاعف‌شدگی هم‌زمان به‌ترتیب فراوانی در اگزون‌های (۱ و ۲۷)، (۱ و ۶)، (۱ و ۶ و ۲۷) مشاهده شد و بیشترین میزان آن به‌طور ترکیبی در اگزون‌های ۱ و ۲۷ (۵۷٪) بود.

بحث

سرطان مری ششمین سرطان کشنده در دنیاست (۲) و ایران یکی از کشورهای با شیوع بالای این بیماری است (۱). سرطان‌زایی یک روند پیچیده چند مرحله‌ای است و ژنتیک ملکولی شواهدی را فراهم آورده که نشان می‌دهند، فعال‌شدن پروتوانکوژن و از بین رفتن یا غیرفعال‌شدن ژن‌های سرکوبگر تومور در بدخیمی‌های متعدد زیادی نقش دارند (۱۲).

منظور از جهش در ژنتیک منحصر به تغییر یک نوکلئوتید (جایگزینی یک نوکلئوتید با یک نوکلئوتید دیگر) نیست بلکه شامل انواع حذف (Deletion)، جابجایی (Insertion) و مضاعف‌شدگی (Duplication) و ... است که این مسأله ضرورت اجرای بررسی کل ژن را در انواع بیماری‌ها از جمله سرطان تأکید می‌کند. به همین دلیل با وجود مطالعات بسیار زیاد ژنتیکی در مورد ارتباط جهش‌های ژن‌های مختلف با بیماری‌های مختلف اکنون تحقیقات ژنتیک پزشکی در جهان به سمت بررسی مجدد ژن‌های مرتبط با بیماری گزارش شده در مقالات علمی از طریق Dull Genome Sequencing یا تکنیک‌های جدید از جمله MLPA است.

یکی از تغییرات بیولوژیک که ممکن است در سرطان مری مؤثر باشد، بروز جهش در انکوژن EGFR است (۶). برای مشخص کردن موتاسیون‌های ژن EGFR و بررسی ارتباط آنها با بروز کارسینوم سلول سنگفرشی مری، باید تمامی اگزون‌های ژن EGFR را آنالیز نمود. تکنیک MLPA، روشی مؤثر و حساس برای تشخیص مولکولی بیماری‌های دارای حذف و مضاعف‌شدگی، در نواحی بزرگ ژنومیک می‌باشد. با توجه به اینکه روش MLPA کلیه اگزون‌های ژن EGFR را بررسی می‌کند، بنابراین در مطالعه حاضر تمامی ژن با پرایمرهای مربوطه مورد بررسی قرار گرفتند.

از سوی دیگر آنالیز ایمنیوهیستوشیمیایی نمی‌تواند انواع مختلف جهش‌های ژن EGFR را تشخیص دهد. MLPA راهی نوین برای آنالیز جهش‌های ژن EGFR پیشنهاد می‌کند. توالی‌یابی کل ژن با استفاده از کیت MLPA که با طراحی یکسری پروب کل ژن را پوشش می‌دهد، تنها با گذاشتن یک Multiplex PCR به‌طور هم‌زمان جهش‌های ژن EGFR شامل انواع حذف و مضاعف‌شدگی را مورد بررسی قرار می‌دهد.

هدف از این مطالعه بررسی جهش‌های از نوع حذف و مضاعف شدن در اگزون‌های ژن EGFR در بیماران مبتلا به سرطان مری با استفاده از تکنیک MLPA بود. پس از انجام PCR به‌منظور بررسی وجود یا عدم حذف یا مضاعف‌شدگی در محصول PCR نمونه‌های گوناگون با استفاده از تکنیک MLPA با یکدیگر مقایسه شدند.

در مطالعه انجام شده بر روی ۶۰ نمونه سرطان مری از نوع سلول سنگفرشی نتایج بدین صورت بود، که در ۸۲ درصد نمونه‌ها جهش در ژن EGFR دیده شد. نتایج این مطالعه با گزارشی که توسط Kawaguchi و همکاران در سال ۲۰۰۷ به چاپ رسیده است هماهنگی دارد که در آن، فراوانی معنی‌دار جهش EGFR با روش IHC (Immunohistochemical assay) در ۶۶ بیمار با سرطان مری نوع سنگفرشی، گزارش شده است (۱۳).

در مطالعه دیگری توسط Wei و همکاران بر روی ۵۱ بیمار با سرطان مری که در ۴۰ بیمار سرطان از نوع سنگفرشی بود، افزایش بیان ژن EGFR در ۶۷/۵ درصد

بیماران مشاهده شد که بیان این ژن با متاستاز به غدد لنفاوی نیز همراهی داشت (۱۴).

Kaneko با مطالعه بر روی ۵۷ بیمار با T3—T4 و یا M1 نشان داد که پلی‌مرفیسم منفرد نوکلئوتید (SNP) در کدون ۷۸۷ از اگزون ۲۰ انکوژن EGFR یک بیومارکر مفید برای تخمین پیش‌آگهی بیماران است، به‌طوری که امید به زندگی ۳ ساله در بیماران بدون ژنوتیپ هتروزیگوت EGFR ۲۱ درصد و در بیماران با ژنوتیپ هتروزیگوت EGFR صفر درصد بود (۱۵).

آنچه در این مطالعه برای اولین بار مشخص شد این بود که در هر دو جنس بیشترین میزان مضاعف‌شدگی ژنی در اگزون ۲۷ رخ داده بود و بیشترین میزان حذف نیز در هر دو جنس در اگزون ۲ به‌وقوع پیوسته بود.

از آنجا که بیشترین میزان جهش‌های همراه در اگزون‌های ۱ و ۲۷ (۵۷ درصد مضاعف‌شدگی‌های همراه) و اگزون‌های ۲ و ۱۹ (۵۵ درصد حذف‌های همراه) صورت گرفته است، به‌نظر می‌رسد که احتمالاً این دو نوع جهش در اگزون‌های مذکور به‌صورت همراه (Linkage) با یکدیگر به ارث می‌رسند. به‌طور مشابه می‌توان در مورد همراهی بین حذف ژنی در اگزون ۲ که ۴۴ درصد کل جهش‌های حذف اگزونی را شامل گردیده است و پدیده جهش مضاعف شدن اگزون ۲۷ (۵۴ درصد) اظهار نظر کرد که البته برای اثبات آن نیاز به مطالعات و حجم نمونه‌ی بیشتر است.

با وجود اینکه تکنیک MLPA نسبت به روش توالی‌یابی کل ژن بسیار مقرون به‌صرفه‌تر است و از دقت قابل مقایسه‌ای نیز برخوردار است ولی باز هم نسبتاً گران قیمت است، و از آنجا که بیشترین جهش‌ها در اگزون‌های ۲ و ۱۸ و ۱۹ و ۲۰ دیده شد؛ اگر فقط این اگزون‌ها بررسی شود ۹۱ درصد جهش‌ها را می‌توان یافت.

البته برای قضاوت در باره اینکه بیشترین جهش‌ها در ژن EGFR در کدام اگزون‌ها نسبت به بافت تومور صورت می‌گیرد و آیا اینکه در تمام تومورهای بدخیمی که این ژن دچار جهش می‌شود جهش‌ها در اگزون‌های مشابه یا متفاوتی صورت می‌گیرد نیاز به مطالعات بیشتر روی سایر سرطان‌ها با استفاده از این تکنیک می‌باشد.

با توجه به نتایج این مطالعه و مطالعات فوق‌الذکر، پیشنهاد می‌شود که بررسی جهش‌های ژن EGFR برروی تمامی نمونه‌های بیوپسی بیماران مبتلا به سرطان مری انجام شود تا بتوان تصمیم صحیح و مؤثر را در طرح درمان این بیماران انتخاب نمود به صورتی که بیشترین نتایج درمانی در این بیماران حاصل شود.

References

1. Parkin DM, Laara E, Muir CS. Estimates of the Worldwide Frequency of Sixteen major cancers in 1980. *Int J Cancer* 1988; 41(2): 184-97.

2. Hagymasi K, Tulassay Z. Risk Factors For esophageal cancer and Possible genetic background. *Orv Hetil* 2009; 150(9): 407- 13 [Article in Hungarian].

3. Engel LS, Chow WH, Vaughan T.L, Gammon M.D, Risch H.A, Stanford J.L, et al. Population attributable risks of esophageal and gastric cancer. *J Natl Cancer Inst* 2003; 95(18): 1404-13.

4. Brunicardi F, Anderson D, Billiar T, Dunn D, Hunter J, Matthews J, et al. Schwartz's principles of surgery. 9th ed., McGraw-Hill 2009; pp239-63.

5. Vegh I, Santiuste AD, Colina F, Bor L, Bermejo C, Aragon A, et al. Relationship between biomarker expression and allelic alteration in esophageal Carcinoma. *J GastroenteroL HeptoL* 2007; 22(12): 2303-9.

6. Dragovich T, Campen C. Anti-EGFR–targeted therapy for esophageal and gastric Cancers. *Journal of Oncology* 2009; Article ID 804108, 8 Pages.

7. Delektorskaya W, Chemeris Gy, Kononets PV, Grigorchuk AY. Clinical Siqnificance of hyperexpression of EGFR & HER-2 in esophageal squamous cell Carcinoma. *Bull Exp Biol Med* 2009; 148(2): 241-5.

8. Homs MY, Voest EE, Siersema PD. Emerging drugs for esophageal Cancer. *Expert Opin Emerg Drugs* 2009; 14(2): 329-39.

9. Schouten JP, McElgunn CJ, Waaijer R, Zwijnenburg D, Diepvens F, Pals G. Relative quantification of 40 nucleic acid Sequences by multiplex ligation- dependent Probe amplification. *Nucleic acid Res* 2002; 30(12): e57.

10. Jing Z, Gong L, Xie Cy, Zhang L, Su HF, Deng K, et al. Reverse resistance to radiation in KYSE- 15OR esophageal Carcinoma Cell after epidermal growth Factor receptor Signal Pathway inhibition by cetuximab. *Radiother Oncol* 2009; 93(3): 468 -73.

11. Hanawa M, Suzuki S, Dobashi Y, Yamane T, Kono K, Enomoto N, et al. EGFR Protein overexpression and gene amplification in Squamous Cell Careinomas of the esophagus. *Int J Cancer* 2006; 118(5): 1173-80.

12. Jin X, Zhou L, Zhao QA. Mutants of P53 gene Presence in Laryngeal Carcinoma and Adjacent histopathologically Normal Tissue. *ORL* 2000; 62(3): 140-2.

13. Kawaguchi Y, Kono K, Mimura K, Mitsui F, Sugai H, Akaike H, et al, Targeting EGFR & HER-2 with cetuximab & trastuzumab - mediated immunotherapy in oesophageal squamous cell carcinoma. *Br J Cancer* 2007; 97(4): 494-501.

14. Wei Q, Chen L, Sheng L, Nordgren H, Wester K, Carlssan J. EGFR, HER2 and HER3 expression in esophageal primary tumors and corresponding metastases. *Int J Oncol* 2007; 31(3): 493-9.

15. Kaneko K, Kumekawa Y, Makino R, Nozawa H, Hirayama Y, Kogo M, et al. EGFR gene alteration as a Prognostic biomarker in advanced esophageal Squamous cell Carcinoma. *Front Biosci* 2010; 15: 65-72.

Prevalence of Nucleotide Alterations of EGFR Gene in Patients with Esophageal Squamous Cell Carcinoma in Kerman

Lashkarizadeh, M.R., M.D[1]., Bazrafshani M.R., Ph.D[*2]., Aghayi Afshar M., M.D[1]., Zahiri N., M.D[3]., Dehghan- Kohestani S., M.Sc[4].

1. Assistant Professor of Surgery, Afzalipour School of Medicine & Physiology Research Center, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran
2. Assistant Professor of Medical Genetics, Afzalipour School of Medicine & Physiology Research Center, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran
3. Surgeon, Afzalipour School of Medicine, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran
4. Laboratory Staff, Dr. Bazrafshani's Medical Genetic Laboratory, Kerman, Iran

* Corresponding author; e- mail: Bazr61@yahoo.co.uk

(Received: 10 April 2011 Accepted: 10 Jan. 2012)

Abstract

Background & Aims: Esophageal Cancer is the sixth fatal cancer in the world. Squamous and adenocarcinoma account for 95% of esophageal cancer. The expression of EGFR has a role in the pathophysiology of epidermal-based malignancies such as esophageal cancer. EGFR is also an important criterion in the evaluation of disease staging and prognosis. The aim of this study was to survey the prevalence of EGFR gene mutations in patients with esophageal cancer by MLPA Technique.

Methods: A total of 60 parafinated blocks from patients with esophageal cancer were investigated for the presence of EGFR mutations by MLPA technique.

Results: EGFR mutation was discovered in 82 percent of samples of which 52% were deletion mostly seen in exon 2 (52%) and duplication mostly seen in exon 27 (54%). In some cases deletion and/or duplication were seen in more than one exon simultaneously.

Conclusion: With regard to the obtained results and since the definitive diagnosis of esophageal cancer is made by biopsy and pathology techniques, it is suggested that all biopsy specimens be detected for EGFR mutations, particularly on exons 2 and 27 in order to achieve a noninvasive molecular diagnostic technique in future.

Keywords: Esophageal neoplasm, EGFR, Mutation, MLPA

Journal of Kerman University of Medical Sciences, 2012; 19(3): 253-259