

# ژنتیک مولکولی و ژن درمانی در سرطان تخمدان

محمد رضا نوری دلویی<sup>1</sup> - زهرا رشوند<sup>2</sup>

## چکیده

تخمدان به شکل دو غده کوچک در دو سوی جسم رحم قرار گرفته که توسط انتهای لوله تخمدان پوشانده شده اند. سرطان اپی تلیال تخمدان رایج ترین نوع این سرطان بوده و تا هنگام متاستاز معمولاً بدون علامت باقی می ماند. به همین دلیل در بین همه بدخیمی های دستگاه تناسلی زنان، از بالاترین موارد مرگ و میر برخوردار است. این سرطان، ششمین سرطان زنان در کشورهای غربی و پنجمین علت مرگ به دلیل سرطان در زنان ایالات متحده آمریکا است. ژن های متعددی در شروع و پیدایش این سرطان دخیل هستند. در پژوهش های گسترده، جهش در BRAF KRAS و p53 به اثبات رسیده است. از سوی دیگر افرادی که برای ژن BRCA1 و BRCA2 هتروزیگوت بوده اند، مستعد ابتلا به این نوع سرطان هستند. هم چنین تغییرات ریز RNA که بیان ژن را کنترل می کند، در این سرطان به چشم می خورد. تغییر در الگوی متیله شدن در ناحیه پروموتور ژن ها نیز از دیگر پیشامدهای سرطان تخمدان است. به ویژه، بیش متیله شدن در پروموتور ژن های سرکوبگر تومور رخ می دهد و موجب خاموشی ژن می شود. از این رخداد می توان به عنوان نشان گر جهت تشخیص زود هنگام استفاده کرد. روش های درمان این سرطان متعدد بوده و می توان به جراحی همراه با شیمی درمانی، داروهای ضد رگ زایی، هورمون درمانی و روش های جدیدتر مانند ژن درمانی اشاره کرد. در ژن درمانی این سرطان، بیش تر از ناقلان آدنووایروس جهت انتقال ژن به درون بافت مورد نظر استفاده می کنند. ژن های متعددی جهت ژن درمانی انتخاب و مورد پژوهش قرار گرفته اند، ژن Calponin h<sub>1</sub> که به اکتین متصل شده و موجب پایداری آن می گردد، ژن PNAS-4 که نقش Pro-apoptotic دارد؛ ژن Rhob که به عنوان ژن بازدارنده تومور شناخته می شود و ژن Cytokine Interleukin-12 که یکی از فعال ترین سیتوکاین ها جهت القاء برای فعالیت ضد سرطانی دستگاه ایمنی است، از آن جمله است. در این مقاله مروری با استفاده از ده ها منبع معتبر و جدید و هم چنین تجربیات نگارنده، ژنتیک مولکولی و ژن درمانی سرطان تخمدان مورد بررسی قرار گرفته است.

**کلید واژه ها:** تخمدان؛ سرطان؛ ژنتیک مولکولی؛ ژن درمانی

افق دانش؛ فصلنامه ی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی گنبد (دوره ی 16؛ شماره ی 3؛ پاییز سال 1389)

پذیرش: 1389/9/17

اصلاح نهایی: 1389/8/18

دریافت: 1389/5/2

1- نویسنده ی مسؤول؛ دکتری تخصصی ژنتیک مولکولی پزشکی، استاد، گروه ژنتیک پزشکی، دانشکده ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران  
آدرس: تهران - خیابان انقلاب - خیابان قدس - خیابان پورسینا  
تلفن: 021-88953005    شماره: 021-88953005    پست الکترونیکی: nooridalooi@sina.tums.ac.ir  
2- دانشجوی کارشناسی ارشد ژنتیک انسانی، گروه ژنتیک پزشکی، دانشکده ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

## مقدمه

تخمدان، نقطه ی پیوستن تخمدان به مزووارיום<sup>1</sup> است. این بخش حاوی اعصاب، عروق خونی و سلول های نافی<sup>2</sup> است که قادرند در روند استروئید سازی فعال شوند. بیرونی ترین بخش قشری، تونیکا آلبوژینا<sup>3</sup> نام دارد که با یک لایه اپی تلیوم مکعبی پوشیده می شود. این لایه، اپی تلیوم سطحی تخمدان یا مزوتلیوم تخمدان نامیده می شود. تقریباً 90 درصد سرطان های تخمدان را سرطان اپی تلیال تخمدان تشکیل می دهد که هتروژن بوده و رده بندی آن براساس نوع سلول درگیر است که مشتمل بر سروزی<sup>4</sup>؛ موسینوسی<sup>5</sup>؛ اندومتريال<sup>6</sup>؛ سلول روشن<sup>7</sup>، برنر<sup>8</sup> می باشد و با انواع گوناگون سلول های اپی تلیال تخمدان در دستگاه تناسلی زنانه منطبق است (1).

هر یک از این تومورها به نوبه ی خود به سه گروه خوش خیم، بینابینی و بدخیم تقسیم می شوند. تومورهای موسینوس و اندومتريال معمولاً کارسینومای بدخیم و مهاجم هستند. اما تومورهای سروز معمولاً مهاجم نیستند (4).

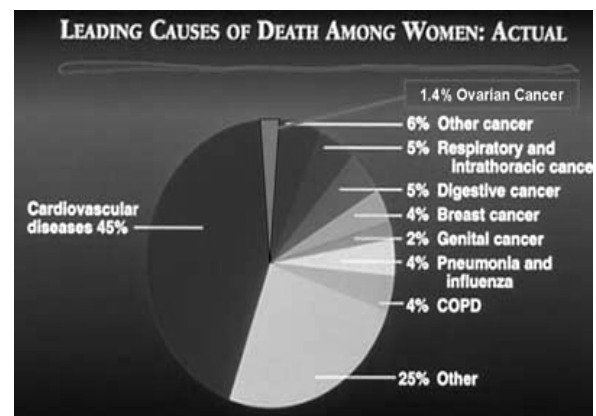
الگوهای انتشار این سرطان به شرح زیر است:

1- انتشار ترانس سلومیک<sup>9</sup>: در این الگو سلول های سرطانی ریزش کرده و در سطح حفره صفاق کاشته می شوند. این سلول ها معمولاً مسیر گردشی مایع صفاق را دنبال می کنند. این راه رایج ترین و زودرس ترین مسیر انتشار این سرطان است.

2- انتشار لنفاتیک: روشی رایج است که در بردارنده ی گسترش تومور از راه لنف، به ویژه در مراحل پیشرفته است.

3- انتشار خونی: انتشار خونی در زمان تشخیص رایج نیست. انتشار به پارانسیم اعضای حیاتی مانند ریه ها، کبد، تنها در 2 تا 3 درصد بیماران دیده می شود (1). عامل هایی را که در ایجاد این سرطان مؤثر هستند می توان به دو دسته کلی تقسیم کرد. یک دسته مانند نازایی، چاقی، مصرف زیاد

در بین همه سرطان های دستگاه تناسلی زنان، بدخیمی های تخمدان، بررسی های بسیار گسترده بالینی را به خود اختصاص داده اند. سرطان های اپی تلیال تخمدان به دلیل آن که تا هنگام متاستاز معمولاً بدون علامت باقی می مانند، رایج ترین بدخیمی های تخمدان هستند که در بیش از دو سوم بیماران در هنگام تشخیص در مراحل پیشرفته بیماری هستند. سرطان تخمدان یکی از مباحث عمده در حیطه جراحی است، که نیاز به درمان جدی و غالباً پیچیده دارد و اثرژی روانی و فیزیکی بیمار را تحلیل می برد. این سرطان، نسبت به موارد بیماری در بین همه بدخیمی های دستگاه تناسلی زنان، از بالاترین موارد مرگ و میر برخوردار است. سالانه بیش از 23300 مورد جدید از این سرطان در ایالت متحده آمریکا دیده می شود و انتظار می رود که هر سال 13900 زن قربانی این بیماری شوند. خطر بروز سرطان تخمدان در خلال زندگی زنان حدود 1/5 درصد و خطر مرگ به دلیل سرطان تخمدان تقریباً 1 درصد است. این سرطان، ششمین سرطان زنان در کشورهای غربی است و پنجمین علت مرگ به دلیل سرطان در زنان ایالات متحده آمریکاست و در واقع سرطانی بسیار کشنده است. در شکل 1 میزان مرگ و میر در اثر سرطان تخمدان در مقایسه با شماری از علل مرگ و میر در زنان مشاهده می شود (3-1).



شکل 1: میزان مرگ و میر در سرطان تخمدان در مقایسه با شماری از علل مرگ و میر در زنان  
www.ovaryresearch.com/ovarian\_cancer.htm

از جنبه ی تشریحی تخمدان دارای سه بخش عمده ی قشر بیرونی، مدولای مرکزی و شبکه ی تخمدانی است. ناف

- 1- Mesoovarium
- 2- Hilus Cells
- 3- Tunica Albuginea
- 4- Serouse
- 5- Mosinous
- 6- Endometrial
- 7- Clear Cell
- 8- Brenner
- 9- Trance Coelomic

خود از یک سیست آدنوم<sup>1</sup> و یا آدنوفیبروما<sup>2</sup> منشأ گرفته است. این دسته از تومورها رشد کندی دارند، اکثراً بزرگ بوده و در زمان تشخیص محدود به تخمدان هستند (5).

تیپ 2: در هنگام تشخیص در مراحل پیشرفته هستند و شامل سرور کارسینومای پیشرفته، مزودرمال تومور، کارسینوما سارکوما و کارسینومای تمایز نیافته سلول روشن هستند. معمولاً از یک پیش ساز اولیه ایجاد نمی شوند؛ بلکه از اپی تلیوم سطحی تخمدان و یا کیست تخمدان به صورت novo de به وجود می آیند (6) و به سرعت تکامل پیدا کرده، متاستاز داده و بسیار مهاجم هستند. این تیپ نیز مانند تیپ 1 به صورت مرحله ای پیشرفت می کند؛ اگر چه که سرعت آن بیش تر است و آسیب اولیه هنوز به شکل دقیق در سطح مولکولی و شکل شناسی مشخص نشده است. شاید بتوان گفت به دلیل سرعت پیشرفت زیاد نمی توان پیش ساز اولیه را تعیین کرد. در این تومورها، بیان نشانگر هسته ای ki-67 که نمایه یا شاخصی برای تکثیر زیاد است، نسبت به تومورهای تیپ 1 بیش تر می باشد. این دو مسیر به صورت طرح وارده در شکل 2 نشان داده شده است (7).

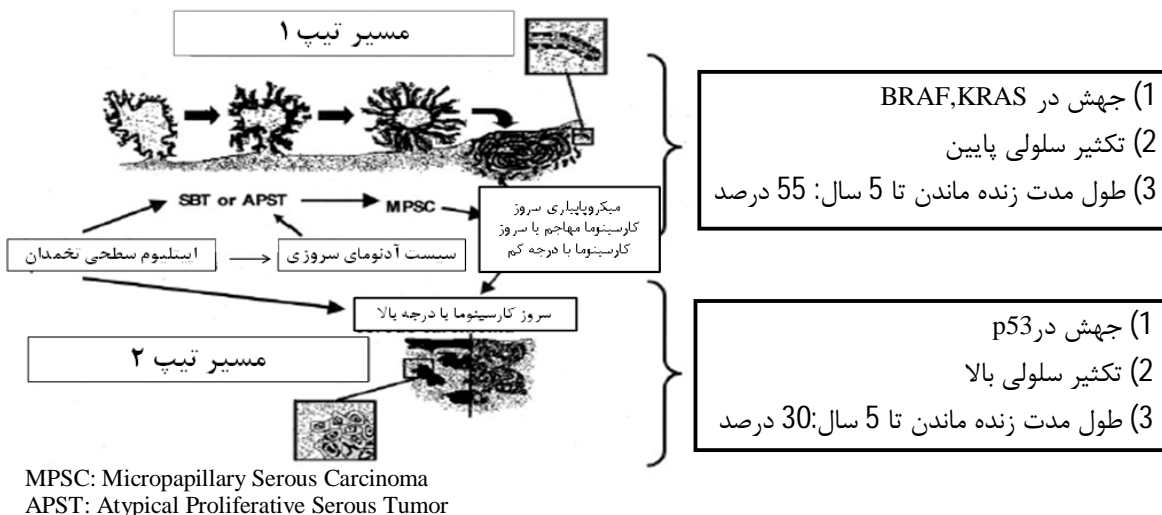
رده بندی تومورها به دو نوع مورد اشاره در بالا، گامی برای مشخص کردن آسیب شناسی مولکولی سرطان تخمدان به حساب می آید؛ اگر چه نمی توان ادعا کرد که مسیر دیگری جهت تومورزایی وجود ندارد (8).

چربی های اشباع شده حیوانی و افزایش سن که موجب افزایش خطر بروز این سرطان می شوند، دسته ی دیگر از جمله زایمان های متعدد، مصرف قرص های ضد بارداری که گفته می شود مصرف بیش از 5 سال آن، خطر ابتلا به سرطان تخمدان را به میزان 50 درصد کاهش می دهد و بارداری است که هر بارداری خطر بروز این سرطان را به میزان 13 تا 19 درصد کاهش می دهد و اثر محافظتی بر روی این سرطان دارند (4-1).

### مشاهدات بالینی و آسیب شناختی

مطالعات ژنتیک مولکولی در جهت نشان دادن یک الگو برای سرطان تخمدان، نشان داده است که بر اساس تیپ 1 و تیپ 2 تومورها دو مسیر برای تومورزایی وجود دارد. شایان ذکر است که اصطلاح تیپ 1 و تیپ 2 در واقع مسیر تومورزایی را توصیف می کند و یک اصطلاح آسیب شناسی بافتی ویژه نیست.

تیپ 1: شامل تومورهای با درجه ی پیشرفت کم سرور کارسینوما، موسینوس کارسینوما، اندومتریال کارسینوما، Tumor Malignant Brenner و کارسینومای سلول روشن هستند. این تومورها به صورت مرحله ای پیشرفت می کنند. بدین ترتیب که از یک پیش ساز اولیه کاملاً شناخته شده، مانند تومور Border Line به وجود می آیند که این تومور،



شکل 2: نمایش طرح وارده ی مسیر تیپ 1 و 2 در تکامل زیستی سرطان تخمدان

1- Cystadenoma  
2- Adenofibroma

## تغییرات مولکولی

بیش تر تغییرات مولکولی در تومورهای تیپ 1، مشتمل بر رخدادهای جهش در BRAF و KRAS می باشد. مسیر ERK, MEK, RAF و RAS در انتقال سیگنال رشد و تکثیر به هسته اهمیت شایانی دارند (9) و جهش در BRAF, KRAS موجب فعال شدن این مسیر و تاریختی<sup>1</sup> می شود (8). در مطالعاتی که در سال 2003 توسط سینگر<sup>2</sup> و همکاران انجام گرفت، جهش در K.RAS در کدون 12 و 13 در 35 درصد سرروز کارسینوما با درجه پیشرفت کم و 33 درصد تومورهای Border Line دیده شد؛ گرچه در تومورهای پیشرفته مشاهده نگردد. هم چنین جهش BRAF در کدون 599 در 30 درصد موارد تومورهای با درجه پیشرفت کم و 28 درصد تومورهای Border Line رخ می دهد؛ اما در تومورهای پیشرفته سرروز کارسینوما مشاهده نمی شود (10). گفتنی است که جهش BRAF در تومورهای یافت می شود که KRAS به شکل طبیعی وجود دارد (10). هم چنین جهش در BRAF و KRAS شبیه یافته های موجود در ملانوما و کارسینوم کولورکتال است (11) و این موضوع را مطرح می کند که BRAF و KRAS در انواع سرطان ها تأثیرات مساوی بر روی تومورزایی دارند؛ اگرچه که جهش در BRAF و KRAS در مراحل اولیه تکامل سرروز کارسینوما با درجه پیشرفت کم ایجاد می شود (12). بیش تر تغییرات مولکولی در تومورهای تیپ 2، رخداد جهش در p53 است. در واقع 50 تا 80 درصد تومورهای سرروز کارسینوما پیشرفته، جهش در p53 را نشان می دهند و این جهش در مراحل اولیه رخ می دهد (13). این یافته ها از رهگذر مطالعه روی تومورهای اولیه سرروز کارسینوما تخمدان زنانه که برای ژن BRCA هتروزایگوت بودند و به منظور پیشگیری، تخمدان های آن ها را بیرون آورده اند، به دست آمده است. این یافته ها نشان می دهد که جهش در BRCA، فرد را برای ابتلا به سرطان تخمدان مستعد می کند (2,3,14). سرطان تخمدان مربوط به جهش در BRCA1 و BRCA2 و تظاهرات بافت شناسی متفاوتی دارد. این نوع سرطان با

الگوی غالب از نوع سرزوی و اندومترئوئیدی است و معمولاً در درجه بالاست (15).

افزون بر p53 در تومورهای پیشرفته، بیان بیش از حد طبیعی و تقویت ژنی، ژن HER-2/neu تیروزین کیناز در 20 تا 60 درصد موارد (16) و AKT2 سرین، تیروزین کیناز در 12 تا 18 درصد موارد گزارش شده است (17). غیرفعال شدن p16 به دلیل متیلاسیون پروموتور، جهش و حذف هموزیگوسیتی در انواع گوناگون سرطان ها از جمله سرروز کارسینوما تخمدان پیشرفته رخ می دهد (2,18,19).

## نیمرخ بیان ژن

در کنار تغییرات مولکولی در تومورهای تیپ 1 و تیپ 2، نیمرخ<sup>3</sup> بیان ژن در هر دو تیپ کاملاً متفاوت است. برای نمونه بیان HLA-G16 APO- E17 در تومورهای تیپ 2 بالاست در حالی که در تومورهای تیپ 1 بیان آن کم است. HLA-G در 45 تا 74 درصد سرروز کارسینوما پیشرفته دیده می شود (20). احتمالاً HLA-G سلول های بدخیم را از لیز کردن توسط سلول کشنده ی طبیعی<sup>4</sup> محافظت می کند (21). هم چنین بیان APO E در تومور تخمدان گزارش شده است. در کنار کارکرد مشخص APO E در بیماری زایی آترواسکلروز و آلزایمر یک نقش جدید در تکامل زیستی سرطان های انسانی برای آن در نظر گرفته اند. مشاهده شده است که در محیط In Vitro جلوگیری از بیان APO E به توقف چرخه سلولی و آپوپتوز منجر می شود. از این رو می توان نتیجه گرفت APO E نقش مهمی در رشد و بقا دارد. هم چنین در مطالعات انجام گرفته در سال 2003 مشخص شده که عامل هپاتوسیت هسته ای (β1) و گلوکوتایون پراکسیداز 3 به عنوان نشانگر سرروز کارسینوما سلول روشن تخمدان مطرح شده است و در انواع دیگر بسیار نادر است (22).

از دیگر تغییرات مولکولی رخ داده در این نوع سرطان، تغییر بیان ریز RNA<sup>5</sup> است. ریز RNA، یک RNA غیر رمز دهنده<sup>6</sup> است، که بیان ژن را در درون سلول کنترل

3- Profile

4- Natural Killer Cell

5- Micro RNA

6- Non Coding RNA

1- Transformation

2- Singer

می کند. بر اساس مطالعه آوریو نشان داده شد که miRNA به شکل غیر طبیعی در کارسینومای تخمدان بیان می شود و برای نمونه miR-200a، miR-200b، miR-200c، miR-141، بیان افزایش یافته دارند. در حالی که miR-140، miR-125b، miR-145 و miR-199a و دیگر miR های بررسی شده بیان پایینی را نشان می دهند. نتایج این پژوهش در جدول شماره 1ی ارائه شده و به صورت طرح واره در شکل های 3 و 4 نشان داده شده است. این یافته ها از این جهت مهم هستند که نشان می دهند miRNA می تواند هم نقش سرطان زایی<sup>1</sup> و هم نقش سرکوبگر تومور<sup>2</sup> را ایفا کند (25-3,23).

جدول 1: بیان متفاوت miRNA در سلول طبیعی و سرطانی

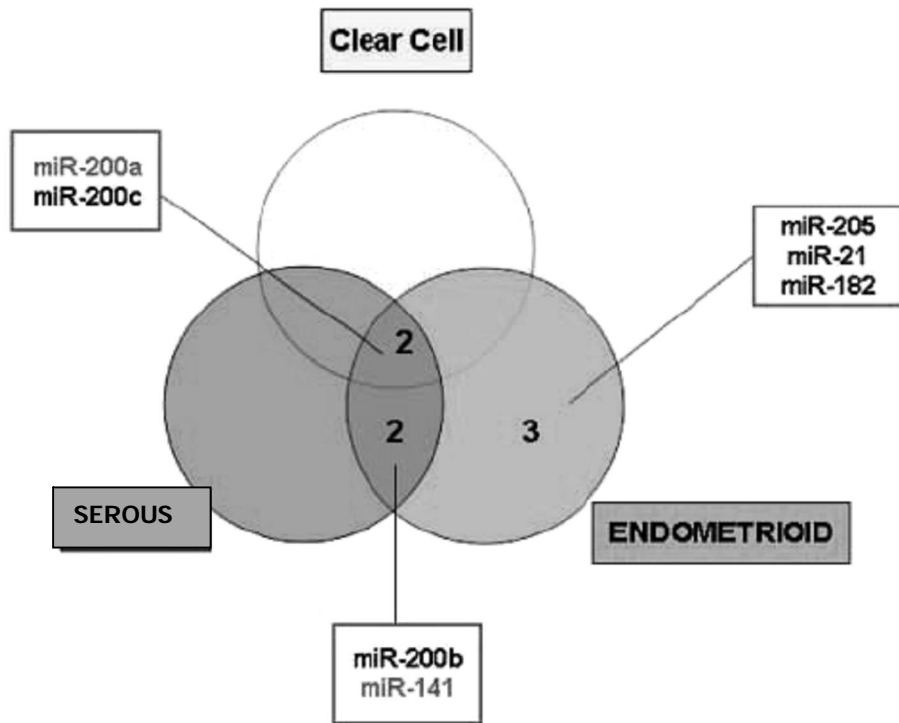
CV confusion matrix (threshold = 3.23866)

True/predicted	Cancer	Normal	Class error rate
Cancer	63	8	0.112676056
Normal	1	14	0.066666667
Misclassification error = 0.11			

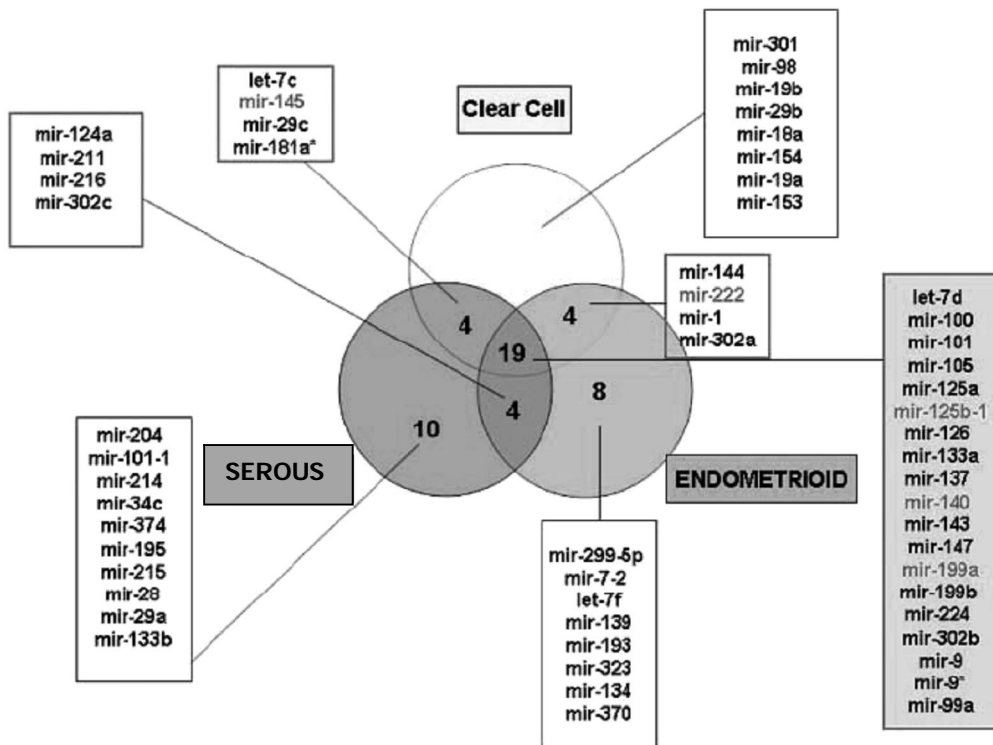
miRNAs	Cancer score	Normal score
hsa-mir-200c*	0.1152	-0.5454
hsa-mir-200a*	0.1059	-0.5012
hsa-mir-199a †	-0.098	0.4637
hsa-mir-143 †	-0.0946	0.4479
hsa-mir-199b †	-0.0887	0.4197
hsa-mir-141*	0.0874	-0.4138
hsa-mir-145 †	-0.0734	0.3473
hsa-mir-147*	-0.0679	0.3212
hsa-mir-133a †	-0.0671	0.3176
hsa-mir-101*	-0.0616	0.2917
hsa-mir-214 †	-0.0607	0.2873
hsa-mir-100 †	-0.0535	0.2533
hsa-mir-140*	-0.0523	0.2474
hsa-mir-126 †	-0.0501	0.2371
hsa-mir-224 †	-0.0485	0.2294
hsa-mir-9*	-0.0481	0.2277
hsa-mir-105	-0.0461	0.2184
hsa-mir-99a †	-0.037	0.1753
hsa-mir-125a †	-0.0315	0.1489
hsa-mir-211*	-0.0248	0.1174
hsa-mir-127*	-0.0232	0.11
hsa-mir-200b*	0.0179	-0.0847
hsa-mir-125b-1 †	-0.0177	0.0837
hsa-let-7c †	-0.0152	0.0719
hsa-let-7d*	-0.0138	0.0654
hsa-mir-124a*	-0.0121	0.0574
hsa-mir-374	-0.0119	0.0563
hsa-let-7a*	-0.0113	0.0533
hsa-mir-134*	-0.0014	0.0068

1- Oncogenic

2- Tumor Suppressor Gene



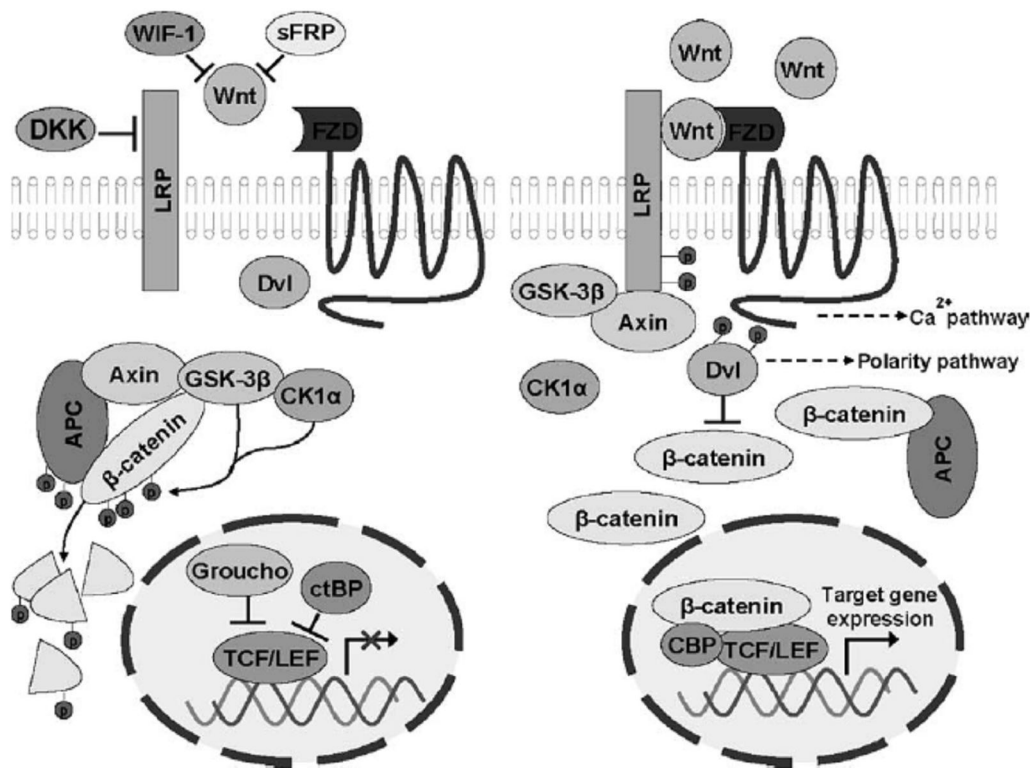
شکل 3: miRNA های با بیان افزایش یافته



شکل 4: miRNA های با بیان کاهش یافته

لیگاند Wnt برون سلولی به گیرنده های FZD و LRP متصل شود. این امر موجبات فسفریلاسیون DVL توسط Kinase-1 Casein و غیرفعال شدن GSK3B و عدم فسفریلاسیون B-catenin و Axin را فراهم می آورد. B-catenin غیر فسفریله تجزیه نمی شود و در نتیجه میزان آزاد آن در سیتوپلاسم افزایش یافته و مقداری از آن وارد هسته می شود. در فقدان B-catenin هسته ای، TCF/LEF به عنوان سرکوبگر رونوشت برداری عمل می کند. اگرچه در حضور B-catenin، TCF/LEF با B-catenin تشکیل مجموعه ای را می دهند که رونوشت برداری را فعال کرده و بیان ژن های مورد هدف را موجب می گردد و در نهایت، تغییرات سرطانی در سلول را ایجاد می کند (شکل 5).

از نظر تاریخی در سال 1990 پژوهشگران متوجه شدند که علامت دهی Wnt نیز می تواند در سرطان تخمدان نقش داشته باشد. این پژوهشگران وجود جهش در ژن B-catenin در نوع آندومتریوئید سرطان تخمدان را گزارش کردند (26). در وضعیت فقدان علامت دهی Wnt، B-catenin در سیتوپلاسم محدود شده و به وسیله مجموعه پروتئینی GSK3B، APC، Axin فسفریله می شود. GSK3B نیز موجب فسفریله شدن Axin/Apc می شود. این رخدادها تشکیل داریستی را می دهند که B-catenin تمایل بالایی به اتصال به آن دارد. در واقع B-catenin نیز توسط GSK3B فسفریله می شود و این رخداد موجب تجزیه شدن B-catenin و کاهش میزان آزاد آن در سیتوپلاسم می گردد. اگرچه زمانی علامت دهی Wnt وجود دارد که

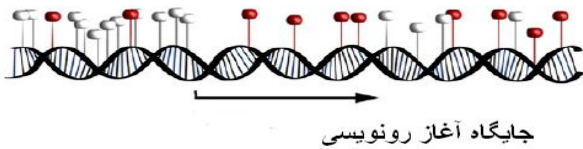


شکل 5: نمایش طرح واره ی مسیر علامت دهی Wnt

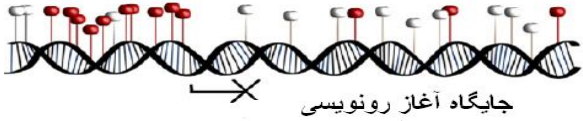
B-catenin (کدون 45-32) رخ داده و موجب می شود که پروتئین جهش یافته به تخریب شدن، مقاومت نشان دهد و چنان چه پیش تر اشاره شد، موجب تجمع آن در سیتوپلاسم و هسته می گردد و به طور اختصاصی در نوع آندومتریوئید رخ می دهد (28).

در انسان ژن CTNNB1، که روی کروموزوم p213 قرار گرفته، B-catenin را رمز دهی می کند. جهش در اگزون 3 واقع در قلمرو CTNNB1 در پژوهش های متعددی روی سرطان تخمدان به اثبات رسیده است (27). هم چنین جهش بد مفهوم بر روی انتهای NH<sub>2</sub> قلمرو تنظیمی

## DNA ی سلول طبیعی



## DNA ی سلول سرطانی



دو نوکلئوتید CpG متیله نشده | دو نوکلئوتید CpG متیله شده

شکل 7: الگوی متیله شدن در ناحیه پر موترون های سرکوبگر تومور در سلول طبیعی و سرطانی

- بررسی تغییرات اپی ژنتیک شامل تغییر در الگوی متیله شدن مزایای متعددی مشتمل بر موارد زیر دارد:
- 1- تجزیه و تحلیل رخداد در متیله شدن، از DNA استفاده می شود که بسیار پایدارتر از RNA و پروتئین است.
  - 2- تغییرات متیله شدن DNA به عنوان یک علامت دوسویه است. یعنی حضور آن نشان دهنده ی سلول سرطانی است؛ رخدادی که در تراکم های پایین هم قابل شناسایی است.
  - 3- تغییرات اپی ژنتیک، معمولاً در یک ناحیه مشخص از ژن رخ می دهد، بنابراین، بررسی کامل یک ژن برای یافتن یک جهش، ضروری نیست.
  - 4- نشانگرهای زیستی متیله شدن در سرم، پلاسما و دیگر مایعات که از ناحیه تومور گرفته می شود، قابل تشخیص است و می تواند به عنوان یک آزمون غیر تهاجمی در نظر گرفته شود (3,30).

## نشانگرهای تشخیص زودهنگام

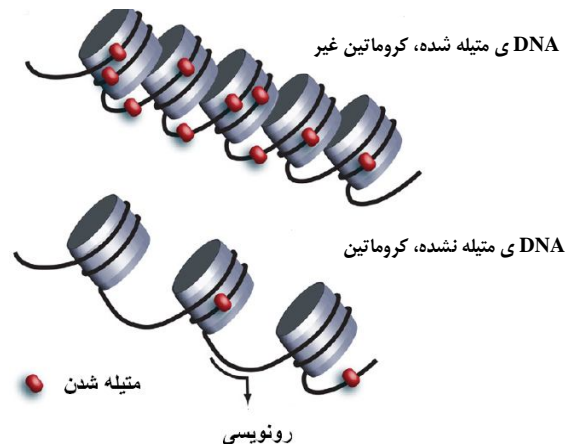
به نظر می رسد که تغییرات در الگوی متیله شدن از جمله اولین تغییرات مولکولی در مراحل سرطانی شدن سلول است (19,31). این تغییرات در سرم، پلاسما و مایع پریتونئال بیماران سرطان تخمدان قابل تشخیص است (32). دست کم یک ژن از ژن های سرکوبگر تومور در ناحیه پر موترون خود دچار بیش متیله می شود. این ژن ها که شامل DAPK, CDKN2A, APC, BRCA1, RASSF1A هستند، در سرم یا پلاسمای فرد بیمار مبتلا به سرطان تخمدان با ویژگی های 100 درصد و حساسیت 82 درصد، قابل شناسایی هستند (32). جدول 2 بسیاری از ژن هایی را

گفتنی است که میانکنش بین APC, B-catenin و Axin نقش اساسی برای فسفریلاسیون B-catenin و در نهایت تجزیه آن دارد. بنابراین جهش های دیگری که می تواند به تجمع B-catenin منجر شود، شامل جهش نامفهوم (nonsense) در ژن APC، که موجب به وجود آمدن کدون ایست (Stop codon) شده، جهش در ژن Axin1 که موجب تولید یک پروتئین کوتاه شده و جهش تغییر قالب در Axin2 می باشد (2,3,29).

علائم اولیه ی سرطان تخمدان معمولاً خفیف و غیر اختصاصی است. به همین دلیل تشخیص زود هنگام آن را دشوار می سازد و اکثر بیماران در هنگام تشخیص در مراحل پیشرفته بیماری یعنی انتشار به ناحیه Peritoneal قرار دارند به همین دلیل تشخیص زودهنگام و یا تشخیص نشانگرهای زیستی یکی از هدف های اصلی پژوهش های جاری به شمار می رود.

## تغییرات اپی ژنتیک در سرطان تخمدان

این تغییرات، هم به عنوان نشانگر زیستی برای تشخیص زودرس، کنترل پیشرفت بیماری و هم به مثابه نشانگر جهت پاسخ به درمان مورد استفاده قرار می گیرند. الگوی متیله شدن به ویژه در ناحیه جزایر CPG در سلول سرطانی و طبیعی به نحو قابل توجهی متفاوت است. هیپرمتیله شدن معمولاً، در جزایر CPG پر موترون های سرکوبگر تومور رخ می دهد و موجب خاموشی ژن می شود که به صورت شماتیک در شکل های 6 و 7 نشان داده شده است (30).



شکل 6: بسته شدن کروماتین و غیر فعال شدن آن در اثر رخداد متیله شدن



که دچار بیش متیله شده اند نشان می دهد.

### نشانه‌های پاسخ به درمان

### نشانه‌های پیشگویی کننده

رخداد متیله شدن دست کم در یکی از ژن هایی که در ترمیم DNA نقش دارند، مانند MGMT GSTp1، و BRCA1 با پیشرفت پاسخ به شیمی درمانی در بیماران با درجه بالای بیماری ارتباط دارد (36). افزون بر این، بیماران با بیان بالای HSU1 F-1 در مقایسه با بیمارانی که بیان پایین و یا متوسط این ژن را دارند، افزایش پاسخ به شیمی درمانی را نشان می دهند (37). هم چنین بیش متیله شدن ژن hMLH1 که در ترمیم باز ناجور جفت (mismatch repair DNA) دخالت دارد. در نتیجه خاموشی آن، با ایجاد مقاومت در برابر داروهای پلاتینوم که در بیماران سرطان تخمدان استفاده می شود، روبرو می گردد (38-40).

فرایند بیش متیله شدن ژن هایی مانند IGFBP-3 با پیشرفت بیماری و در نهایت با مرگ بیمار ارتباط دارد. زمانی که بیش متیله شدن ژن IGFBP-3 با متیله شدن ناحیه پروموتور ژن های CDRN2A یا MLH1 و یا BRCA1 همراه است، خطر پیشرفت بیماری با سه ژن بیش متیله شده، حدود 7 برابر می شود (33). در حالی که بیش متیله شدن 18S، rDNA، 28S با پیشرفت کند بیماری همراه است (3,19,34). کم متیله شدن در ناحیه کروموزومی معین نیز می تواند یک عامل پیشگویی کننده قوی باشد. بیماران با کم متیله شدن کم و یا فقدان آن در Chr1 Sat x یا Chr1 Sat2x به نحو قابل ملاحظه ای پیشرفت کندتری دارند (35).

جدول 2: ژن هایی که در ناحیه پروموتور خود دچار بیش متیله شدن، متیله شدن متوسط و کم متیله شدن گردیده اند.

نام ژن	درصد متیله شده	کسر متیله شده	نوع بافت شناختی آنالیز شده	همراهی های معنی دار با نوع بافت شناختی
<b>High methylation</b>				
<i>OPCML</i>	33-83%	57/69; 25/75; 20/43	S+ non-S	
<i>HSulf-1</i>	75%	12/16	Unspecified	
<i>GATA4</i>	60%	9/15	CC, E	
<i>DAPK</i>	0-67%	0/106; 3/16; 0/80; 20/30	S, CC, E, M, U/m	
<i>CDH13</i>	13-67%	9/49; 6/46; 10/51; 4/6	S, M, CC, E, U, A	CC [115]
<i>TES</i>	70%	7/10	Unspecified	
<b>Moderate methylation</b>				
<i>BRCA1</i>	5-31%	13/106; 5/49; 12/50; 4/31; 12/98; 8/50; 44/215; 8/49; 11/88; 20/64; 2/43; 18/221; 2/20	S, M, CC, E, U/m, A	S [45,118]
<i>HIC1</i>	16-52%	13/75; 17/49; 14/88; 46/89	S, M, CC, E, A, m, other	
<i>DLEC1</i>	50%	7/14	S	
<i>CDKN2A (p16)</i>	0-41%	1/26; 5/49; 5/16; 89/215; 9/49; 12/46; 0/88; 17/89; 100/249; 0/57; 7/46; 6/23	S, M, CC, E, U/m	S+M [45] or U [124]
<i>CTGF</i>	59%	39/66	Unspecified	
<i>HOXA9</i>	51%	26/51	S, E, M, CC	CC
<i>GATA5</i>	33%	5/15	CC, S, E	
<i>DCR1</i>	31-43%	23/75; 10/23	S+ non-S	
<i>SFN</i>	41-55%	22/54; 11/20	S, E, M, CC	S [130] and CC [49]
<i>ESR1</i>	56%	117/215	CC, E, M, S, U, other	
<i>RASSF1A</i>	10-50%	28/106; 2/21; 8/20; 20/49; 25/50; 7/46; 23/47	S, M, CC, E, U, A	
<i>IGFBP3</i>	44%	104/235	CC, E, M, S, U, other	
<i>PYCARD</i>	5-40%	4/77; 8/20; 15/80; 14/89	S, E, CC, M, U, other	CC [47]
<i>WT1</i>	50%	21/42	S, CC	88% CC, 24% S
<i>APC</i>	11-47%	9/49; 5/16; 5/46; 12/51; 42/89	S, M, CC, E, U, A, other	
<i>MINT31</i>	50-52%	46/88; 45/89	S, M, CC, E, m, other	
<i>CDH1</i>	22-42%	14/49; 10/46; 34/80	S, M, CC, E, U, A	
<b>Low methylation</b>				
<i>FANCF</i>	0-28%	0/106; 4/19; 5/18	S+ non-S	
<i>ING1</i>	24%	21/88	S, M, E, CC, U	
<i>SOCS1</i>	23%	10/43	Unspecified	
<i>SOCS2</i>	14%	6/42	Unspecified	
<i>TCF2</i>	26%	26/98	S, M, E, CC, U/m	
<i>MLH1</i>	2-13%	6/106; 19/215; 6/88; 3/24; 1/51; 7/75; 5/68	S, M, CC, E, U/m	
<i>HOXB5</i>	12%	6/52	S, E, M, CC	
<i>THRA</i>	24%	20/88	S, M, CC, E, m	
<i>TP73</i>	0-10%	0/106; 7/88	S, M, CC, E, m	
<i>GPR150</i>	27%	4/15	S, E, M, CC, m	S and CC
<i>ITGA8</i>	13%	2/15	S, E, M, CC, m	S, m
<i>SCGB3A1</i>	10%	5/52	S, E, M, CC	CC and M
<i>CRABP1</i>	4%	2/48	S, E, M, CC	CC
<i>PRTFDC1</i>	7%	1/15	S, E, M, CC, m	S
<i>HOXD11</i>	7%	1/15	S, E, M, CC, m	S
<i>CCND2</i>	23%	16/71	S, E, CC, M	
<i>RIZ1</i>	23%	20/89	S, E, M, CC, other	
<i>CDKN2B</i>	0-19%	0/88; 17/89	S, M, CC, E, m, other	
<i>P TEN</i>	8-17%	5/58; 4/49; 15/89;	S, M, E, CC	M [45]
<i>RARB</i>	2-17%	1/49; 5/46; 15/89	S, M, CC, E, U, A, other	
<i>SFRP1</i>	5-12%	4/76; 2/17	S, E, M	
<i>MGMT</i>	4-9%	1/26; 2/46	S, M, CC, E, U	
<i>UCHL1</i>	6%	1/17	Unspecified	
<i>CDKN2A (p14)</i>	9-24%	3/16; 12/49; 4/46	S, M, E, CC, other	
<i>MYO18B</i>	13%	2/15	S, E, M, CC, m	
<i>DR4</i>	28%	10/36	Unspecified	
<i>MINT25</i>	12-16%	9/75; 13/88	S, M, CC, E, m	

Legend: S serous, M mucinous, CC clear cell, E endometriod, U undifferentiated, A adenocarcinoma. Highly methylated ≥60%; Moderately methylated 30>60%; Lowly methylated <30%.

## تغییرات پردازش متناوب در سرطان تخمدان

تغییرات پردازش متناوب (Alternative Splicing) از پیش ساز اولیه mRNA می تواند mRNA های گوناگون بسازد. این مرحله تنظیمی در 70 درصد ژن ها برای افزایش تنوع پروتئوم رخ می دهد. در واقع رخداد پردازش متناوب می تواند به مثابه ی یک عامل تنظیمی بر روی ترجمه، مکان قرارگیری و پایداری mRNA تأثیر بگذارد.

در سرطان تغییرات اختصاصی در مکان های پردازش می تواند روی بیان ژن های متعددی از جمله ژن های دخیل در تکثیر سلول، متاستاز، رگ زایی، مرگ سلول تأثیر گذاشته و موجب پیشرفت سرطان شوند. بر این اساس، پژوهش در مورد واریانت های پردازش که به نحو اختصاصی در سرطان رخ می دهد، می تواند به عنوان نشانگرهای زیستی تشخیصی و پیشگویی کننده و هم چنین هدف های درمانی جدید استفاده شود. در مطالعه ای توسط راسکو کلینک با استفاده از یک روش بیوانفورماتیک به نام اختصاری LISA (layered and integrate system for splicing annotation) الگوی پردازش متناوب در میان بافت طبیعی و توموری کاملاً متفاوت گزارش شده است. در سرطان تخمدان به شکل اختصاصی 3 ژن گزارش شده است که در سطح پردازش کنترل می شوند؛ که پروتئین مقاومت چند دارویی ABCC1 و ژن p53 که تنظیم کننده ی MDMx از آن جمله است، در سرطان تخمدان این سه ژن دچار تغییرات پردازش شده اند. پژوهشگران امیدوارند که از این روش بتوانند جهت تشخیص نشانگرهای زیستی و هدف های درمانی استفاده کنند (41).

## روش های درمان

**1- داروهای ضد رگ زایی:** رگ زایی مرحله ای بسیار پیچیده و تنظیم شده است که موجب رشد توده توموری می گردد. رگ زایی به وسیله مولکول های پیش رگ زایی<sup>1</sup> و ضد رگ زایی<sup>2</sup> که حضورشان برای هموستاز ضروری است، تنظیم می شود. از بین بردن این مراحل پیچیده از جمله روش های درمانی جدید برای سرطان تخمدان است. این روش خود به دو رویکرد، ضد رگ زایی و درمان های Vascular-Disrupting تقسیم می شود.

**(الف) روش ضد رگ زایی:** در این روش گیرنده VEGF-VEGF یکی از اصلی ترین هدف ها است؛ زیرا نقش اصلی در رگ زایی و رشد تومور دارد. خانواده VEGF شامل VEGFA، VEGFB، VEGFC، VEGFD، Placenta growth factor (PlGF1) و VEGFE است. از داروی Beracizumab نیز علیه VEGF در این بیماران استفاده شده و عدم پیشرفت بیماری مشاهده گردیده است. از دیگر داروها می توان از VEGF Trap نام برد که یک پروتئین الحاقی است که به VEGF متصل شده و موجب غیر فعال شدن نوع A و B می شود. هم چنین AZDX171 که یک مولکول کوچک است و اثر VEGFR2 را مهار می کند، در درمان به شکل موفقیت آمیز استفاده شده است.

**(ب) درمان های Vascular-disrupting:** این دسته داروها مانند داروهای AS1404، DMXAA<sup>3</sup> موجب از بین بردن رگ های تومورال و نیز مرگ سلول های توموری به علت ایسکمی و نکروز می شوند (42).

**2- هورمون درمانی:** گزارش شده که هورمون های استروئیدی مانند هورمون گنادوتروپین، استروژن و آندروژن در تکامل زیستی سرطان تخمدان نقش دارند. به همین دلیل از داروهایی مانند تاموکسیفن<sup>4</sup> که اثرات ضد استروژنی دارد، همراه با شیمی درمانی جهت درمان استفاده می شود و یا آگونیست های GnRH نیز به کار برده می شوند. هم چنین هورمون پروژسترون اثر محافظتی بر روی سرطان تخمدان دارد (43).

**3- ژن درمانی:** در این روش بیشتر از ناقلان آدنووایروس جهت انتقال ژن به درون بافت مورد نظر استفاده می کنند (3,39,40,44,45). برای نمونه در مطالعه آگورا و همکاران از Adenovirus-Mediated Calponin h1 استفاده شد که Calponin h1 جزء دسته ای از پروتئین هاست که به اکتین متصل شده و موجب پایداری فیلامنت اکتین می شود. گسترش سرطان تخمدان به ناحیه پریتونئال یکی از مهم ترین موانع بهبود پیش آگهی در این بیماران بوده و برای گذر از این مراحل، تغییرات مداوم اسکلت سلولی نه تنها در

3- 5,6-dimethylxantenone-4-acetic acid  
4- Tamoxifen

1- Proangiogeni  
2- Antiangiogenic

از رشد سرطان تخمدان در محیط های *in vivo* و *in vitro* جلوگیری کند. از سوی دیگر این ژن به عنوان یکی از هدف های ژن p53 نیز در نظر گرفته می شود. در این پژوهش سلول های توموری تخمدان (SKOV3) با پلاسمیدی که ژن hPNAS-4 را بیان می کند، آلوده شدند. نتایج نشان داد که این ژن موجبات مرگ سلولی و جلوگیری از رشد سلول های توموری را فراهم آورد. هم چنین این پلاسمید hPNAS-4-p/liposome از راه تزریق درون رگی به بدن *nude mouse* که از سرطان تخمدان رنج می برد، وارد شد و موجب سرکوب رشد تومور و افزایش طول مدت زنده ماندن این موش ها گردید. این نتایج به دلیل القاء مرگ سلولی و جلوگیری از رگ زایی توسط این ژن به دست می آید. این پژوهشگران عوارض جانبی این درمان را با ارزیابی اندام های اصلی مانند قلب، کبد، طحال، ریه، کلیه بررسی کردند. نتایج هیچ تغییر آسیب شناختی را نشان نداد (48).

ژن دیگری که در ژن درمانی علیه سرطان تخمدان استفاده شده است، Rho Homologous gene B (RhoB) است. Rho پروتئین ها، یک GTPase با وزن مولکولی پایین هستند که متعلق به خانواده Ras بوده و در واکنش های متفاوت سلولی شرکت می کنند. پروتئین های Rho در تنظیم سازماندهی اسکلت سلولی و اکتین نیز دخالت دارند.

اگرچه اکثر پروتئین های Rho خاصیت سرطان زایی، تهاجم و متاستاز دارند، اما پژوهش های اخیر نشان داده است که RhoB خاصیت بازدارندگی تومور را دارد. برای نمونه، بیان نا به جای RhoB در شرایط *in vitro* موجب جلوگیری از رشد تومور و متاستاز می شود و هم چنین بیان RhoB در رده سلول های سرطانی مانند سرطان تخمدان، ریه و پستان کاهش پیدا کرده است. بر اساس این یافته ها کاودرک و همکاران از ناقلی که قادر به همانند سازی نیست (replication-defective Ad vector) و دارای پروموتور سایتومگالوویروس (CMV) است، استفاده کردند که ژن RhoB را بیان می کرد، و سپس آن را به درون رده سلولی IGROV-1 و OVCAR-3 وارد کردند. نتایج به دست آمده نشان داد که این ژن قویاً بر تکثیر سلول ها تأثیر گذاشته و موجب کاهش تعداد آن ها شده است. البته رده ی سلولی

سلول توموری بلکه در سلول های پریتونئال نیز ضروری است. پژوهش های متعدد نشان داده اند که در تومورهایی که متاستاز می دهند، 9 ژن کاهش بیان پیدا می کند که 4 ژن آن مربوط به اسکلت سلولی و اکتین است. این ژن ها شامل: Myosin light and Heavy chain kinase- $\alpha$ -actin, Calponin h1 می باشد. Calponin h به طور عمده در سلول ماهیچه ای صاف بیان می شود و یک پروتئین متصل شونده به اکتین است که در سازماندهی فیبر های اکتین پایدار نقش مهمی به عهده دارد. هم چنین مشاهده شده است که ارتباط نزدیکی بین تهاجم تومور و کاهش بیان Calponin h1 وجود دارد. در این پژوهش از رده های سلولی SHIN, MCAS/as, OVAS-21/om and KOV3i.p.1 از *Nude Mouse* استفاده کردند. سپس ژن CNh1-green Fluorescen Protein را به درون آدنو ویروس وارد نموده و ADCNh1 را شکل دادند. زمانی که ADCNh1 به درون سلول پریتونئال وارد شد، پایداری فیلامنت های اکتین و ثبات شکل سلول مشاهده گردید. همچنین ورود ADCNh1 به درون رده های سلولی موجب تشکیل فیبرهای ضخیم و دراز استرسی اکتین (actin stress fibers) و القاء شکل سلول به حالت مسطح و کشیده می گردد. از سویی دیگر موجب کاهش رشد سلول توموری و نیز کاهش ویژگی تهاجم این سلول ها می شود. افزون بر این زمانی که ADCNh1 به درون ناحیه پریتونئال *nude mouse* تزریق شود، افزایش طول مدت زنده ماندن موش ها را در پی دارد. همه این مشاهدات بر این موضوع دلالت دارد که CNh1 هم فعالیت سرطان تخمدان را کاهش می دهد و هم موجب افزایش ساز و کار دفاعی پریتونئال می شود. با این روش، در واقع به طور موفقیت آمیز از تهاجم سرطان تخمدان جلوگیری به عمل آمده است (46).

در مطالعه ای دیگر فن یانگ و همکاران از ژن hPNAS-4 انسانی جهت ژن درمانی استفاده کردند. این ژن نقش پیش آپوپتوزی Pro-Apoptotic داشته و در پاسخ اولیه به آسیب DNA بیان می شود و نقش مهمی در نگهداری یکپارچگی و سلامت ژنوم بازی می کند (47). امروزه تشخیص داده اند که آپوپتوز یک پاسخ بسیار مهم به سلول های توموری است و مطالعات بسیاری ثابت کرده اند که کنترل ژن های Pro-Apoptotic به نحو مؤثر می تواند

IGROV-1 نسبت به بیان RhoB و پدیده آپوپتوز ناشی از آن حساسیت بیشتری نشان داد، با وجود این که میزان بیان RhoB پس از ورود آدنووایروس در دو رده سلولی یکسان بود. از سوی دیگر برای اثبات این که RhoB موجب القاء آپوپتوز در سلول های سرطانی شده است، بیان Apo2.7 که یک پروتئین میتوکندریایی است و در مراحل اولیه آپوپتوز بیان می شود، را اندازه گرفتند. این پژوهشگران از پادتن علیه Apo2.7 استفاده کردند تا به طور مستقیم تعداد سلول هایی را که دچار آپوپتوز شده اند به وسیله فلوسیتومتری اندازه گیری کنند. این پژوهش ها نشان داد که سلول هایی که RhoB را بیان کردند، Apo2.7 مثبت بودند. هم چنین این پژوهشگران افزایش میزان کاسپاز-3 (caspase-3) را نیز مشاهده کردند. این یافته ها ثابت می کند که RhoB موجب القاء آپوپتوز شده است. افزون بر این ها ارتباط میان RhoB و p53 نیز مورد آزمون قرار گرفت، زیرا پیش تر گزارش شده بود که p53 از جنبه کارکردی به شبکه Rho GTPase وابسته است. آن ها وضعیت بیان و فسفریله شدن p53 را پیش و پس از بیان RhoB در دو رده سلولی ذکر شده بررسی کردند، و در نتیجه بیان و فسفریلاسیون p53 را مشاهده نکردند. از سوی دیگر این پژوهشگران با تزریق درون پریتونئال رده سلولی OVCAR-3 به nude mouse، آدنو کارسینوما پیشرفته با تعداد بالایی آسیت به وجود آوردند. سپس آدنووایروس حاوی ژن RhoB را به طور مستقیم به درون آسیت ها تزریق کردند که در 75 درصد موش ها کاهش رشد تومور و در 50 درصد آن ها درمان کامل مشاهده شد. در نهایت، RhoB در سلول های سرطان تخمدان می تواند موجبات القاء آپوپتوز در محیط آزمایشگاه و سرکوب تومور در محیط *in vivo* را فراهم آورد (49-51).

این پژوهشگران افزایش میزان کاسپاز-3 (caspase-3) را نیز مشاهده کردند. این یافته ها ثابت می کند که RhoB موجب القاء آپوپتوز شده است. افزون بر این ها ارتباط میان RhoB و p53 نیز مورد آزمون قرار گرفت، زیرا پیش تر گزارش شده بود که p53 از جنبه کارکردی به شبکه Rho GTPase وابسته است. آن ها وضعیت بیان و فسفریله شدن p53 را پیش و پس از بیان RhoB در دو رده سلولی ذکر شده بررسی کردند، و در نتیجه بیان و فسفریلاسیون p53 را مشاهده نکردند. از سوی دیگر این پژوهشگران با تزریق درون پریتونئال رده سلولی OVCAR-3 به nude mouse، آدنو کارسینوما پیشرفته با تعداد بالایی آسیت به وجود آوردند. سپس آدنووایروس حاوی ژن RhoB را به طور مستقیم به درون آسیت ها تزریق کردند که در 75 درصد موش ها کاهش رشد تومور و در 50 درصد آن ها درمان کامل مشاهده شد. در نهایت، RhoB در سلول های سرطان تخمدان می تواند موجبات القاء آپوپتوز در محیط آزمایشگاه و سرکوب تومور در محیط *in vivo* را فراهم آورد (49-51).

یکی دیگر از روش های ژن درمانی، درمان از راه خاموش سازی بیان ژن با استفاده از siRNA است. در این رابطه گروهی از پژوهشگران به سرپرستی آناستازیا ملک و همکاران ژن HMGA2 را مورد هدف قرار دادند. در این پژوهش ها، این ژن تنظیمات پس از رونوشت برداری را نشان داده است که توسط ریز RNA انجام می شود. HMGA2 یک پروتئین چند کاره است که متعلق به گروه با تحرک بالا

high mobility group) که فسفو پروتئین های غیر هیستونی هسته ای هستند، تعلق دارد. این پروتئین ها قادرند که به شیار کوچک DNA متصل شوند و کارکردهای متنوعی انجام دهند. در بسیاری از واکنش های سلولی مانند: سازماندهی کروماتین، کنترل چرخه سلولی و تمایز شرکت می کنند. افزون بر این به دلیل خاصیت اتصال به DNA، این پروتئین ها قادرند به شکل اختصاصی با شماری از عامل های رونوشت برداری واکنش نشان دهند. از سوی دیگر، بیان دوباره این ژن در بسیاری از سلول های سرطانی از جمله سرطان تخمدان نشان داده شده است. در این مطالعه از رده های سلولی SKOV-3، A27/80، CAOV-3، OAW-42 استفاده شد.

شده به ناحیه پریتون را داشتند، استفاده کردند. پس از تزریق IL-12 به درون پریتون؛ مایع آسیت از لحاظ IL-12 و (IFN- $\gamma$ ) و mVEGF بررسی شد. بالاترین میزان IL-12 حدود یک روز پس از تزریق مشاهده شد و میزان آن به تدریج کاهش یافت. شایان ذکر است که برای بالا نگه داشتن سطح آن چند بار تزریق انجام گرفت. پس از تزریق، کاهش رشد تومور و حجم آسیت ها مشاهده شد. در حالی که در گروه کنترل رشد سریع تومورها دیده شد. برای مشخص کردن تغییرات ایمنی مربوط به IL-12، بیان ژن هایی که در فعال کردن سیستم ایمنی دخیل هستند در مایع آسیت و ندول های توموری، 1 روز پس از تزریق بررسی شد. همه این ژن ها نسبت به گروه کنترل یا بیان افزایش یافته و یا کاهش یافته داشتند. چنان چه می دانیم، VEGF در تشکیل آسیت ها و رشد آن ها نقش کلیدی دارد. در این پژوهش بیان IL-12 موجب بازدارندگی پروتئین VEGF شده و در نتیجه از رشد آسیت ها جلوگیری به عمل می آید. گفتنی است که به دلیل ماهیت چند عاملی پدیده سرطان، طبیعتاً درمان منحصر به این شیوه نیست. در واقع استفاده از این روش همراه با شیمی درمانی بسیار مؤثر می باشد (54).

گفتنی است در مبحث ژن درمانی یکی از مسائل مهم، طراحی ناقل هایی است که بتوانند وارد شمار بیشتری از سلول ها شده و ژن مورد نظر را بیان کنند. اتصال آدنوویروس به سطح سلول هم به گیرنده آدنوویروسی (coxsackie) و هم به وارد شدن به واکنش اینتگرین رده avb3 و avb5 بستگی دارد. کاهش در تعداد پروتئین های غشاء موجب مقاومت به ورود ناقل های آدنوویروسی می شود و این رخداد می تواند انتقال آدنوویروس به درون سلول و سرانجام انتقال ژن را محدود کند. شایان تأکید است که برای عبور از چالش ها، شناسایی دقیق عامل های ژنتیکی و اپی ژنتیکی سلول توموری مورد هدف، مانند گیرنده های سطح سلول که ورود آدنوویروس ها را کنترل می کنند، بسیار ضروری است، تا بتوان انواع متفاوتی از ناقل ها را که هر کدام ویژه ی یک نوع سلول توموری بوده و بالاترین تأثیر را داشته باشد، طراحی کرد.

Liposome-encapsulated Adenovirus کمک گرفته شده است. این رویکرد، سیستم ایمنی میزبان را کمتر تحریک می کند و از سویی موجب افزایش بازدهی انتقال ژن به درون سلول هدف می گردد. این انتقال، سرانجام موجب کاهش تعداد رگ های خونی و افزایش مرگ سلول های توموری می شود. این ناقل از راه درون رگی<sup>1</sup> وارد بدن می شود (53).

در مطالعه ی فول و همکاران از روش ایمنی درمانی برای درمان سرطان تخمدان استفاده شد که موجب افزایش پاسخ ایمنی سیستمی و موضعی بر علیه سلول سرطانی می شود و می تواند همراه با درمان های مرسوم مانند شیمی درمانی برای نتیجه گیری بهتر استفاده شود. در این روش از ژن ضد سرطان که ثابت شده است یکی از فعال ترین سیتوکین ها برای القاء برای فعالیت ضد سرطانی دستگاه ایمنی است، استفاده شد. اینترلوکین 12 موجب تکثیر لنفوسیت های نوع T و سلول کشنده طبیعی و ترشح اینترفرون گاما می شود. این رخدادها از رشد تومور جلوگیری می نماید. افزون بر این فعالیت اینترلوکین 12 همراه با اینترفرون گاما اثرات قوی ضد رگ زایی دارد. استفاده از پروتئین نوترکیب IL-12 به دلیل نیمه عمر کوتاه آن اثرات قابل توجهی بر سلول های سرطانی ندارد. به همین دلیل از روش ژن درمانی که تراکم مناسب برای مدت طولانی تر در محیط تومور به وجود می آورد تا اثرات درمانی آن ظاهر شود، بهره گرفته می شود. برای ژن درمانی از یک سیستم انتقال ژن صناعی که از ماده پلی اتیلن ایمین با وزن مولکولی پایین و فعالیت آلوده سازی<sup>2</sup> و سمیت پایین با پلی اتیلن گلیکول و کلاسترول جهت افزایش فعالیت آلوده سازی بدون افزایش سمیت آن، استفاده شد. این پلیمر صناعی قادر است DNA را با استفاده از واکنش های الکترواستاتیک و شارژ منفی خود مولکول، فشرده کرده و از حمله نوکلئازها محافظت کند و در واقع موجب افزایش اتصال DNA به سیستم های زیستی شود. در این مطالعه از رده سلولی ID8 و موش هایی که سرطان تخمدان منتشر

1- Intravenously

2- transfection

**References:**

- 1- Jonathan S. Berek, Novaks Gynecology. Vol. 2. 2002: 1065-1129.
- 2- Noori-Dalooi MR. Principles of medical genetics. Translated and Compiled from: [Peter Trnpy - CNN Alard. 13<sup>th</sup> ed. 2007] Tehran: Game & Salemi, 1386. [In Persian]
- 3- Noori-Dalooi MR. Molecular genetics in the third millennium. Vol.1-2. Tehran: Samer & Akher, 1388. [In Persian]
- 4- Seidman JD RP, Kurman RJ. Surface epithelial tumors of the B.s.P.o.t.F.G. Tract. New York, 2002: 791-904.
- 5- Singer G KR, Chang H-W, Cho SKR, Shih I-M. Diverse tumorigenic pathways in ovarian serous carcinoma. Am J Pathol 2002(160): 1223-1228.
- 6- Bell DA SR. Early de novo ovarian carcinoma. A study of fourteen cases. Cancer 1994; 73: 1859-1864.
- 7- Garzetti GG CA, Goteri G, De Nictolis M, Stramazotti D, Lucarini G. Ki67 antigen immunostaining(MIB 1 monoclonal antibody)in serous ovarian tumors index of proliferative activity with prognostic significance. Gynecol Oncol 1995; 56: 169-174.
- 8- Kurman RJ. Ovarian Tumorigenesis, a proposed model based on morphological and molecular genetic analyses. Ame Path 2004; 164: 8.
- 9- Peyssonnaud C EA. The Raf/MEK/ERK pathway: new concepts of activation. Biol Cell 2001; 93: 9.
- 10- Singer G O.I.R., Cohen Y, Wang BG, Sidransky D, Kurman RJ, Shih Ie M. Mutations in BRAF and KRAS characterize the development of low-grade ovarian serous carcinoma. J Nat Cancer Inst 2003; 95: 484-486.
- 11- Rajagopalan H BA, Lengauer C, Kinzler KW, Vogelstein B. Tumorigenesis: RAF/RAS oncogenes and mismatchrepair status. Natu 2002; 418.
- 12- Cheng EJ K.R, Wang M, Oldt III R, Berman DM, Shih I-M. Molecular genetic analysis of ovarian serous cystadenomas, 2004. [In press]
- 13- Chan W-Y, C.K.-K, Schorge JO, Huang L-W, Welch WR, Bell B.R DA, Mok SC. Bcl-2 and p53 protein expression, apoptosis and p53 mutation in human epithelial ovarian cancers. Ame J Path 2000; 156: 8.
- 14- Pothuri B L M, Barakat R, Akram M, Bogomolnii F, Olvera N, Lin O. Genetic analysis of ovarian carcinoma histogenesis. Gynecol Oncol 2001; 80.
- 15- Lakhani SR M.S, Penault-Llorca F, Flanagan A, Arnout L, Merrett S, et al. Pathology of ovarian cancers in BRCA1 and BRCA2 carriers. Clin Cancer Res 2004; 10: 8.
- 16- Ross JS YF, Kallakury BV, Sheehan CE, Ambros RA, Muraca PJ. HER-2/neu oncogene amplification by fluorescence in situ hybridization in epithelial tumors of the ovary. Am J Clin Path 1999; 111: 5.
- 17- Bellacosa A DFD, Godwin AK, Bell DW, Cheng JQ, Altomare DA, Wan M, Dubeau L, Scambia G, Masciullo V. Molecular alterations of the AKT2 oncogene in ovarian and breast carcinomas. Int J Cancer 1995; 64: 5.
- 18- Rocco JW SD. P16 (MTS-1/CDKN2/INK4a) in cancer progression. Exp Cell Res 2001; 264: 13.
- 19- Noori-Dalooi MR, Sharifi M. The repression of transcription process by the occurrence of DNA methylation. Roshd J 2001(1380); 15(48): 39-30. [In Persian]
- 20- Singer G R V, Y-C C, Liu H-T, Ali SZ, Reinsberg J, McMaster M, Pfeiffer K, Chan DW, Wardelmann E, Grosse-Wilde H, Kurman RJ, Shih I-M. HLA-G is a potential tumor marker in malignant ascites. Clin Cancer Res 2003; 9: 4.
- 21- Urosevic M WJ, Mueller B, Kempf W, Burg G, Dummer R. HLA-G protein up-regulation in primary cutaneous lymphomas is associated with interleukin-10 expression in large cell T-cell lymphomas and indolent B-cell lymphomas. Blood 2002; 99: 8.
- 22- Tsuchiya A SM, Yasuda J, Chuma M, Ohta T, Ohki M, Yasugi T, Taketani Y, Hirohashi S. Expression profiling in ovarian clear cell carcinoma: identification of hepatocyte nuclear factor-1beta as a molecular marker and a possible molecular target for therapy of ovarian clear cell carcinoma. Ame J Path 2003; 163: 9.
- 23- Iorio MV VR, Di Leva G, Donati V, Petrocca F, Casalini P, Taccioli C, Volinia S, Liu CG, Alder H, Calin GA, Menard S. MicroRNA signatures in human ovarian cancer. Cancer Res 2007; 67: 8.
- 24- Parag P S, Lauren E H, Sham S K. Emerging role of microRNAs in diagnosis and treatment of various diseases including ovarian cancer. J Ovar Res 2009; 2(11).
- 25- Noori-Dalooi MR, Alvandi E. Small RNA: small but strategic, and full of mystery (review article). J Fac Med. Tehran University of Medical Sciences 2006; 64(6): 5-19. [In Persian]
- 26- Palacios J GC. Mutations in the beta-catenin gene (CTNNB1) in endometrioid ovarian carcinomas. Cancer Res 1999; 58: 3.
- 27- Saegusa M OI. Frequent nuclear beta-catenin accumulation and associated mutations in endometrioid-type endometrial and ovarian carcinomas with squamous differentiation. J Path 2001; 194: 8.
- 28- Sagae S, Kobayashi K, Nishioka Y, Sugimura M, Ishioka S, Nagata M, Terasawa K, Tokino T, Kudo R. Mutational analysis of beta-catenin gene in Japanese ovarian carcinomas: frequent mutations in endometrioid carcinomas. Jpn J Can Res 1999; 90: 5.

- 29- Gatliff TA, Planutisy BJM, Holcombey RF. Wnt signaling in ovarian tumorigenesis. *Int J Gynecol Can* 2008; 18: 8.
- 30- Caroline A, Barton A, Susan J, Clark A, Philippa M, Brien O. DNA Methylation changes in ovarian cancer: Implications for early diagnosis, prognosis and treatment. *Gynecol Oncol* 2008; 109: 10.
- 31- Jones PA BS. The fundamental role of epigenetic events in cancer. *Nat Rev Genet* 2002; 3: 13.
- 32- Ibanez de Caceres I B.C, Esteller M, Herman JG, Dulaimi E, Edelson MI, Bergman C, et al. Tumor cell-specific BRCA1 and RASSF1A hypermethylation in serum, plasma and peritoneal fluid from ovarian cancer patients. *Can Res* 2004; 64: 5.
- 33- Wiley A D, Chen H, Rigault de la Longrais IA, Beeghly A, Puopolo M, Singal R, et al. Aberrant promoter methylation of multiple genes in malignant ovarian tumors and in ovarian tumors with low malignant potential. *Can* 2006; 107: 9.
- 34- Chan MW W.S, Wen P, Wang Z, Matei DE, Liu JC, Liyanarachchi S, et al. Hypermethylation of 18S and 28S ribosomal DNAs predicts progression- free survival in patients with ovarian cancer. *Clin Can Res* 2005; 11: 7.
- 35- Widschwendter M JG, Woods C, Muller HM, Fiegl H, Goebel G, Marth C, et al. DNA hypomethylation and ovarian cancer biology. *Can Res* 2004; 64: 8.
- 36- Teodoridis JM HJ, Marsh S, Kannall HD, Smyth C, Curto J, Siddiqui N, et al. CpG island methylation of DNA damage response genes in advanced ovarian cancer. *Can Res* 2005; 65: 6.
- 37- Staub J CJ, Pan Y, Qian X, Narita K, Aletti G, Scheerer M, et al. Epigenetic silencing of HSulf-1 in ovarian cancer: implications in chemoresistance. *Oncogene* 2007; 26: 52.
- 38- Strathdee G MM, Illand M, Brown R. A role for methylation of the hMLH1 promoter in loss of hMLH1 expression and drug resistance in ovarian cancer. *Oncogene* 1999; 18: 6.
- 39- Noori-Dalooi MR. A view on gene therapy and its perspective; Part I. Iran Urology Association. *Iran J Urol* 1994(1373); 1(4): 65-75. [In Persian]
- 40- Noori-Dalooi MR. A view on the present and future of Genetic Engineering and Molecular Medicine. *Nabz J* 1995; 5(10): 4-8. [In Persian]
- 41- Oscoe Klinck A.B. Lyna Inkel. Genevie`ve Dufresne-Martin, Julien Gervais-Bird, et al. Multiple Alternative Splicing Markers for Ovarian Cancer 2008; 68(3): 7.
- 42- Whitney A S, Anil K S, Robert L Coleman. Angiogenesis as a strategic target for ovarian cancer therapy. *Nat clin prac Oncol* 2008; 5: 1.
- 43- Zhengy H, Kavanagh JJ, Hu W, Liao Q, FU S. Hormonal therapy in ovarian cancer. *Int J Gynecol Cancer* 2007; 17: 13.
- 44- Noori-Dalooi MR. A view on gene therapy and its perspective; Part II. Iran Urology Association. *Iran J Urol* 1995; 2(5-6): 13-21.
- 45- Noori-Dalooi MR, Nikpour B. Gene therapy in cancer and its improvement. *Pakhsh-e- Razi Co. Razi J* 1999; 10(5): 9-28.
- 46- Tomonori O HK, Yousuke U, Kaoru O, Kiyoko K, Toshio H, Shigenari H, Shun I T, Norio W, Hitoo N. Adenovirus-Mediated, Calponin Gene. Therapy directed against Peritoneal Dissemination of Ovarian Cancer: Bifunctional Therapeutic Effects on Peritoneal Cell Layer and Cancer Cells. *Can Ther* 2006; 12(17).
- 47- Filippov V, Filippova M, Sinha D, Duerksen-Hughes PJ. PNAS-4, a novel pro-apoptotic gene activated during the early response to DNA damage. *Proceedings of the AACR 96<sup>th</sup> annual meeting*, 2005.
- 48- Zhao X, Zhong Q, Wen YJ. Growth and prolonged survival by transfection with a novel Pro-apoptotic gene, hPNAS-4, in a mouse model. *Oncol* 2008; 75: 7.
- 49- Couderc1 B, Pradines A, Raffi A, Golzio M, Deviers A, Allal C, Berg D, Penary M, Teissie J, Favre G. In vivo restoration of RhoB expression leads to ovarian tumor regression. *Can Gene Ther* 2008; 15: 8.
- 50- Noori-Dalooi MR, Yaghoobi MM. Apoptosis or programmed cell death and its relationship with cancer. Part I. *Pakhsh-e- Razi Co. Razi J* 1999; 11(1): 7-27, 111-112.
- 51- Noori-Dalooi MR, Yaghoobi MM. Apoptosis or programmed cell death and its relationship with cancer. Part II. *Pakhsh-e- Razi Co. Razi J* 1999; 11(1): 18-36, 111-112.
- 52- Anastasia M EB, Aurelia N, Christine S, Achim A, Reinhold S, Oleg T. HMGA2 gene is a promising target for ovarian cancer silencing therapy. *IJC* 2008; 123(2): 348-356.
- 53- Yang L, Wang L, Su XQ, Chen XC, Li D, Luo St, et al. Suppression of ovarian cancer growth via systemic administration with liposome-encapsulated adenovirus-encoding endostatin. *Nature Publishing Group* 2009; 17: 49-57.
- 54- Fewell JG, Matar MM, Rice JS, Brunhoeber E, Slobodkin G, Pence C, et al. Treatment of disseminated ovarian cancer using nonviral interleukin-12 gene therapy delivered intraperitoneally. *Chichester, UK: John Wiley & Sons Ltd* 2009; 11: 718-28.

## Molecular Genetics and Gene Therapy in Ovarian Cancer

Mohammad Reza Noori-Dalooi<sup>1</sup> and Zahra Rashvand<sup>2</sup>

### Abstract

Ovaries are oval shaped and are located on each side of the uterus in the pelvis. They are not attached to the fallopian tubes but are covered with their end. Surface epithelial tumor (carcinomas) is the most common type of ovarian cancer and is often asymptomatic in its early stages, and due to the lack of early detection strategies, most patients are diagnosed with disseminated disease. Thus, it has the highest mortality rate of cancers of the reproductive organ. Several genes are involved in initiation and progression of this cancer. For example, recent studies have demonstrated that there is mutation in BRAF, KRAS and P53 genes. Also, Germline mutations in BRCA1 and BRCA2 account for the vast majority of families with hereditary breast and ovarian cancer syndrome. On the other hand, siRNA that controls gene expression changes in this cancer. Ovarian cancer is the fifth leading cause of cancer death in women. Aberrant DNA methylation in ovarian cancer is observed in early cancer development, especially CpG island DNA methylation, and silencing of genes including tumor suppressors can be detected in DNA circulating in the blood and; hence, it provides the promise of a noninvasive cancer detection test. Several therapeutic methods are used for this cancer including Surgery, Antivascular drugs, Hormone therapy and Gene therapy. Adenoviruses have been developed as gene delivery vehicles or vectors. Many genes are selected for gene therapy and are studied. For example, Calponin h<sub>1</sub> gene, actin binding protein, that cause stability of acting filament, Human PNAS-4 (hPNAS-4), a novel pro-apoptotic gene participating during the early response to DNA damage, RhoB as a tumor suppressor gene and cytokine interleukin-12 gene for induced anticancer activity of immune system. In this article, with the use of many articles and our experiments, the molecular genetics and gene therapy in ovarian cancer were reviewed.

**Keywords:** Cancer, gene therapy, molecular genetics, ovarian

*Ofogh-e-Danesh. GMUHS Journal. 2010; Vol. 16, No. 4*

---

1- **Corresponding Author:** PhD in Molecular Medical Genetic, Department of Medical Genetic, Faculty of Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

**Tel:** +98 21 88953005

**FAX:** +98 21 88953005

**E-mail:** nooridalooi@sina.tums.ac.ir

2- Department of Medical Genetic, Faculty of Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran