مجله دانش و تندرستی، دوره ۱۳، شماره ۱، بهار ۱۳۹۷
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شاهرود

DOI: 10.22100/jkh.v13i1.1825

مقاله پژوهشی

مقایسه بیان ژن VEGF-A در پولیپ‌های آدنومای کولون و رکتوم

زهرا پزشکیان[۱]، احسان ناظم الحسینی مجرد*[۲]، فلورا فروزش[۱]

۱- گروه ژنتیک- واحد علوم پزشکی تهران- دانشگاه آزاد اسلامی- تهران- ایران.

۲- مرکز تحقیقات بیماری‌های گوارش و کبد- پژوهشکده بیماری‌های گوارش و کبد- دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی- تهران- ایران.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۸/۳۰، **تاریخ پذیرش:** ۱۳۹۷/۲/۱۰

چکیده

مقدمه: *سرطان روده بزرگ اغلب از پولیپ‌های آدنوما منشأ گرفته می‌شود. بررسی میزان بیان ژن‌هایی که در رگزایی نقش دارند می‌تواند به‌عنوان عاملی برای تشخیص مولکولی سیرپیشرفت پولیپ به سمت بدخیمی باشد. هدف از این مطالعه مقایسه بیان ژن VEGF-A در پولیپ‌های آدنومای کولون و رکتوم و ارتباط آن با بروز بدخیمی می‌باشد.*

مواد و روش‌ها: *در این مطالعه ۵۰ نمونه از بیوپسی بیماران دارای پولیپ آدنومای روده بزرگ و ۲۰ نمونه طبیعی افراد سالم از بیمارستان طالقانی تهران تهیه شد. اطلاعات بالینی بیمار ان جمع‌آوری گردید. استخراج RNA و cDNA سازی نمونه‌ها صورت گرفت. بررسی میزان بیان با استفاده از روش Real time PCR و کمیت‌سنجی مطلق توسط دستگاه ABI۷۵۰۰ سنجیده شد. از روش ($۲^{-\Delta\Delta ct}$) جهت بررسی تغییرات بیان ژن بهره گرفته شد. یافته‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری Prism تجزیه و تحلیل گردید.*

نتایج: *میزان بیان ژن VEGF-A در پولیپ‌های آدنوما نسبت‌به گروه کنترل افزایش‌یافته بود اما دارای تفاوت معنادار نبود($P>۰/۰۵$) و در پولیپ‌های آدنومای ناحیه کولون بالاتر از رکتوم بوده اما این تفاوت از لحاظ آماری معنادار نبود ($P>۰/۰۵$).*

نتیجه‌گیری: *در میزان در مطالعه حاضر افزایش محسوس بیان ژن VEGF-A در نمونه‌ها (مقدار P بسیار نزدیک به معنادار بودن) مشاهده شد. از آنجایی که پولیپ‌های آدنوما پتانسیل بدخیمی بیشتری برای ایجاد بدخیمی دارند و افزایش بیان ژن VEGF-A در این نوع پولیپ‌ها ممکن است نقش مهمی در ایجاد این روند داشته باشد. همچنین محل قرارگیری پولیپ‌های آدنوما می‌تواند در میزان بیان ژن VEGF-A مؤثر باشد.*

واژه‌های کلیدی: پولیپ آدنوما، سرطان روده، بیان ژن، **VEGF-A**، کولون، رکتوم.

***نویسنده مسئول:** مرکز تحقیقات بیماری‌های گوارش و کبد، پژوهشکده بیماری‌های گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، **تلفن:** ۰۲۱۲۲۴۳۲۵۱۸، **نمابر:** ۰۲۱۲۲۴۳۲۵۱۷، **Email:** ehsanmojarad@gmail.com

ارجاع: پزشکیان زهرا، ناظم الحسینی مجرد احسان، فروزش فلورا. مقایسه بیان ژن VEGF-A در پولیپ‌های آدنومای کولونورکتوم. مجله دانش و تندرستی ۱۳۹۷؛۱۳(۱):۶۵-۷۰.

مقدمه

سرطان یک مشکل فراگیر در سطح جهانی می‌باشد که علت مرگ و میر ۱ نفر از هر ۸ نفر است. سرطان روده بزرگ سومین عامل مرگ و میر در زنان و مردان است و حدود ۱۰٪ از مرگ و میرهای ناشی از سرطان را شامل می‌شود (۳-۱). سرطان روده بزرگ از بافت‌های داخلی کولون و یا رکتوم شروع می شود و رشد بافت‌های آن پولیپ نام دارد (۴). پولیپ‌های روده ای شامل هایپرپلاستیک ، التهابی و آدنوماتوز می‌باشد (۵ و ۶) نوع آدنوما در جمعیت‌ها شایع‌تر بوده و حدود ۶۷٪ از همه‌ی پولیپ‌های روده‌ای را شامل می‌گردد (۷ و ۸) و همچنین دارای خطر بیشتری برای ایجاد سرطان روده بزرگ می‌باشد. پولیپ‌های آدنوماتوز براساس تظاهرات بافت‌شناسی به سه دسته توبولار ویلوس و توبولو- ویلوس تقسیم‌بندی می‌شوند. همه‌ی انواع پولیپ‌های آدنوما درجات متفاوتی از دیس پلازی را که یک نوع ساختار غده‌ای می‌باشد را دارا هستند. این ساختار غده‌ای شکل می‌تواند به ساختارهای بین سلولی آسیب وارد کند و در پولیپ‌های آدنومای نوع ویلوس بیشتر مشاهده شده (۹). مسیر ژنتیکی جهش در ژن APC و تغییرات متیلاسیون DNA باعث تبدیل اپیتلیوم طبیعی به اپیتلیوم تکثیر شونده و از اپیتلیوم تکثیر شونده به آدنوما می‌گردد. در مرحله آدنوما جهش در ژن‌های BRAF و KRAS ایجاد می‌گردد و در نهایت ایجاد توالی آدنوما –کارسینوما با جهش در ژن P53 همراه است (۱۰ و ۱۱) ایجاد توالی آدنوما –کارسینوما و سپس پدیده متاستاز با تغییرات ژنتیکی مانند جهش یا حذف ژن‌های تنظیمی رخ می‌دهد (۱۲).

این طور ثابت شده است که عوامل رشد به طرز چشمگیری بر روی سیر پیشرفت بیماری مثل سرطان و همچنین پاسخ‌های درمانی تأثیر می‌گذارند (۱۳). از جمله عوامل رشد که باعث رگ‌زایی می‌شود VEGF است (۱۴). VEGF یک پروتئین همودایمر با وزن مولکولی ۴۵ کیلو دالتون است (۱۵) در مطالعات این طور مشاهده شده است که مهمترین ایزوفورم از خانواده VEGF، VEGF-A می‌باشد که به اختصار به آن VEGFگفته می‌شود و قادر است با بیان بیش از حد خود اثرات رگ زایی قدرتمندی را در بافت‌ها القا کند (۱۶ و ۱۷). VEGF-A اعمال خود را توسط دو گیرنده تیروزین کینازی VEGF-R۱ و VEGF-R۲ که بر روی سلول‌های اندوتلیال رگ‌ها قرار دارند اعمال می‌کند (۱۸).

باتوجه به تحقیقات انجام شده ژن VEGF-A در پولیپ‌های سرطان روده بزرگ بیان قابل توجهی دارد (۱۳) و از آنجایی که سرطان روده بزرگ اغلب منشأ گرفته از توالی آدنوما –کارسینوما است و احتمال پیشرفت پولیپ‌های آدنوما به سمت سرطانی شدن نیز بیشتر می‌باشد و مطالعات بسیار اندکی در مورد آنژیوژنز در پولیپ‌ها مخصوصاً پولیپ‌های آدنوما که دارای پتانسیل بدخیمی هستند صورت گرفته است، مطالعه ژن‌های دخیل در رگ‌زایی و بدخیمی پولیپ آدنوما مانند VEGF-A می‌تواند اطلاعات مهمی در مورد پیشرفت پولیپ به سمت بدخیمی و در نهایت سرطانی شدن آن را نشان دهد. بنابراین هدف از این مطالعه مقایسه بیان ژن VEGF-A در پولیپ‌های آدنومای کولون و رکتوم و ارتباط آن با بروز بدخیمی است.

مواد و روش‌ها

این مطالعه از نوع تحلیلی (Analytical) می‌باشد.۵۰ عدد نمونه‌ی بیوپسی پولیپ‌های آدنوما از بیماران و ۲۰ عدد نمونه‌ی طبیعی در طیکولونوسکوپی با اخذ رضایت‌نامه از بخش گوارش بیمارستان طالقانی تهیه گردید. از بیماران اطلاعات شخصی و همچنین بالینی اخذ شد و پرونده آنها مورد بررسی قرار گرفته شد (جدول ۱). بخشی از بیوپسی‌ها برای به‌دست آوردن اطلاعات بافتی به پاتولوژی ارجاع داده شد. نمونه‌های موردنظر برای تحقیق با تانک ازت به آزمایشگاه انتقال یافت. استخراج RNA از بافت تازه (با استفاده از کیت یکتا تجهیز آزما با شماره سریال YT9065) صورت گرفت. جذب نوری محلول RNA توسط دستگاه نانودراپ در طول موج ۲۶۰ بر ۲۸۰ نانومتر خوانده شد بنابراین برای تعیین کیفیت میزان خالص بودن RNA نسبت بهینه بین ۱/۸-۲ می‌باشد که نسبت‌های دیگر نشان‌دهنده آلودگی با RNA، DNA و یا پروتیین می‌باشد که در تمام واکنش‌ها غلظت RNAهای مشابهی مورد استفاده قرار گرفت. استخراج cDNA (با استفاده از کیت تاکارا به شماره سریال RR037A) انجام شد به این صورت که به میزان ۱۰ ماکرولیتر از RNA استخراج شده بافت تازه را برداشته و به مدت ۵ دقیقه در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد در دستگاه PCR در برنامه موردنظر گذاشته شد. بعد از این مرحله RNA از دستگاه برداشته و روی رکی که داخل فریزر سرد شده بود گذاشته تا از تخریب RNA جلوگیری شود.

سپس مواد مذکور به آن اضافه شد: ۴ prime script buffer ماکرولیتر، ۰/۵ماکرولیتر prime script RT enzyme mix، ligodt primer ۰/۵ ماکرولیتر، ۲ماکرولیتر random 6 mer، RNasefree d ۲H2O ماکرولیتر، ۱ماکرولیتر Riboblock. سپس میکروتیوپ را وارد دستگاه کرده. برنامه سنتز به این گونه است که مواد در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه و بعد از آن در دمای ۴۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه و دمای ۸۵درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه و در نهایت دمای hold ۴درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه گذاشته شد. پس از این مدت cDNA موردنظر آماده شد. بعد از انجام واکنش محصولات به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۷۰- قرار گرفتند تا آنزیم RT غیرفعال گردد. سپس درفریزر در دمای۲۰- نگه‌داری شدند.

پرایمر ژن VEGF-A به توالی: '5-CCACTTCGTGATGATTCTGC-3' Forward: و همچنین- '5:Reverse'TACCTCCACCATGCCAAGT-3

می‌باشد. طول باند قطعه موردنظر ۷۳ جفت باز می‌باشد. برای انجام Real Time PCR از دستگاه Applied Biosystem 7500 Real Time PCR بهره گرفته و همچنین از روش سایبر گرین استفاده شد. به‌منظور انجام این واکنش مستر میکس مربوطه بر طبق دستورالعمل کیت تاکارا انجام گردید.

در این پژوهش از روش کمیت‌سنجی نسبی (Relative quantification) به جهت مقایسه و بررسی میزان بیان ژن VEGF-A در انواع پولیپ‌های آدنومای روده بزرگ با بافت طبیعی استفاده شد. در این روش از ژن GAPDH با توالی پرایمر-TGACTTCAACAGCGACACCCA 3' Forward: 5'- و -3' CACCCTGTTGCTGTAGCCAAA-3' Reverse: به‌عنوان کنترل داخلی و نمونه‌های سالم روده بزرگ به‌عنوان کالیبراسیون به جهت نرمالیزاسیون استفاده شد. این کار باعث کاهش بروز خطا می‌گردد و همچنین حضور کنترل داخلی از ایجاد نتیجه منفی کاذب در آزمایش می‌گردد. این واکنش در ۴۰ سیکل که هر سیکل شامل ۳ مرحله می‌باشد طبق این روند اجرا گشت: مرحله فعال سازی (Initial denaturation) در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد در مدت ۳۰ ثانیه انجام شد. سپس در مرحله Denaturation در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه دورشته از هم جدا شدند. در مرحله نهایی اتصال پرایمرها (Primer annealing) و طویل‌سازی در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۴ ثانیه انجام شد.

مقدار P در گروه‌های مختلف توسط نرم‌افزار PRISM ورژن ۵ محاسبه شده است. برای انجام تجزیه و تحلیل‌ها، باتوجه به اینکه P در آزمون One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test (برای سنجش توزیع طبیعی در گروه‌ها) معنادار نبود. از آزمون Mann Whitney استفاده شد و P کوچک‌تر از ۰/۰۵ معنادار درنظر گرفته شد و از روش $2^{-\Delta\Delta ct}$ جهت محاسبه تغییرات کمی در بیان ژن‌ها انجام شد. میزان mRNA ژن‌های هدف با سه مقدار RQ محاسبه شد. در این روش میزان تغییرات بیان ژن‌های هدف در پولیپ‌ها با بیان ژن کنترل داخلی (GAPDH) نرمالیزه شده و با میزان تغییرات بیان ژن‌های در گروه کنترل یا کالیبراتور به‌صورت نسبی بررسی گشت که در واقع مقدار RQ می‌باشد. اگر RQ<۲ نشانگر کاهش بیان و RQ>۲ بیانگر افزایش بیان است و ۰/۵<RQ<۲ بیانگر این است که تغییرات در ژن‌های موردنظر نسبت‌به گروه کنترل دارای عدم‌تغییر بیان است. در نهایت توسط نرم افزار Graph pad Prism ورژن ۵ منحنی نتایج حاصل رسم شد.

جدول ۱- اطلاعات بالینی بیماران

داده	نوع	فراوانی (٪)
جنس	مرد	۲۷ (۵۴)
	زن	۲۳ (۴۶)
سن	پایین‌تر از ۵۰ سال	۲۰ (۴۰)
	بالاتر از ۵۰ سال	۳۰ (۶۰)
سابقه خانوادگی	بله	۲۰ (۴۰)
	خیر	۳۰ (۶۰)
جمع		۵۰ (۱۰۰)

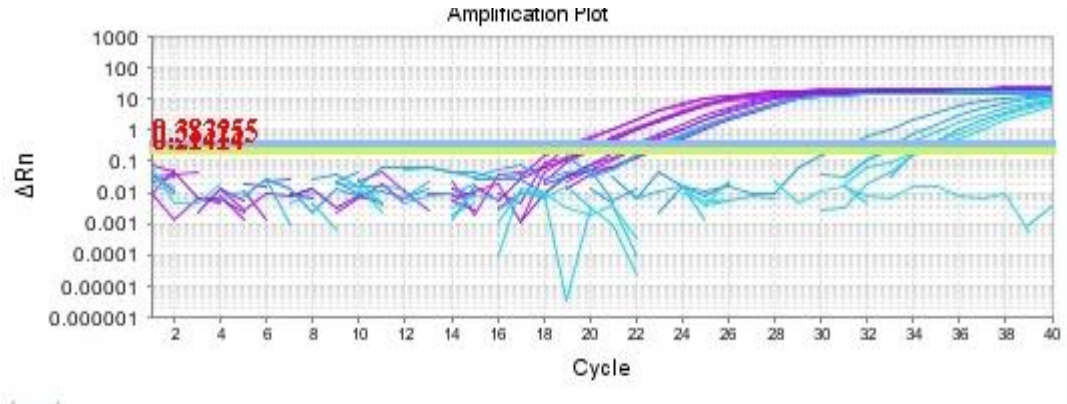
نتایج

مشخصات افراد دارای پولیپ که تحت کولونوسکوپی قرار گرفته بودند از پرونده بیماران استخراج و ثبت گردید. اطلاعات پاتولوژی بیماران در جدول ۱ قابل مشاهده است.

جدول ۲- اطلاعات پاتولوژی مربوطبه پولیپ‌های آدنوما

داده‌ها	نوع	فراوانی
پولیپ آدنوما		
	ویلوس	۱۴ (٪۲۸)
	توبولار	۱۹ (٪۳۸)
	توبولوویلوس	۱۷ (٪۳۴)
دیسپلازی		
	شدید	۱۴ (٪۲۸)
	خفیف	۳۶ (٪۷۲)
اندازه (میلی‌لیتر)		
	۵>	۳۹ (٪۷۸)
	۵<	۱۱ (٪۲۲)
محل		
	کولون	۳۴ (٪۶۸)
	رکتوسیگموئید	۱۶ (٪۳۲)
جمع		۵۰(٪۱۰۰)

در نمودار ۱ نتایج حاصل از میزان بیان ژن VEGF-A در تعدادی از نمونه‌ها را نشان داده شده است. میزان تغییرات بیان ژن VEGF-A در پولیپ‌های آدنوما در مقایسه با بافت طبیعی در نمودار ۲ به نمایش درآمده است و نشان‌دهنده افزایش بیان این ژن در پولیپ‌های آدنوما نسبت گروه طبیعی است اگرچه این تفاوت از لحاظ آماری معنادار نبود (P>۰/۰۵). همچنین میزان تغییرات ژن VEGF-A در پولیپ‌های آدنومای واقع شده در نواحی کولون و رکتوم در مقایسه با یکدیگر در نمودار ۳ نشان داده شده است و طبق این نمودار میزان بیان این ژن در پولیپ‌های ناحیه کولون به میزان چشمگیری در مقایسه با پولیپ‌های ناحیه رکتوم افزایش یافته بود، اما تفاوت معناداری از لحاظ آماری در نتایج یافت نشد (P>۰/۰۵).

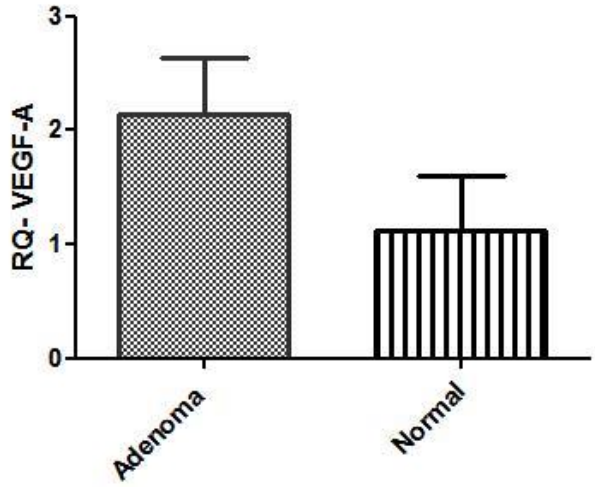


نمودار ۱- تکثیر ژن VEGF-A در نمونه‌های مختلف

بحث

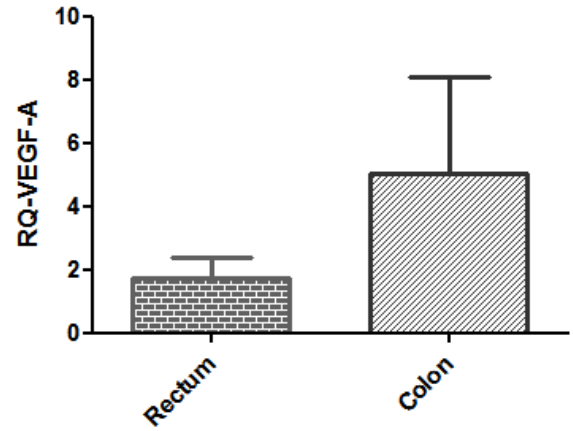
بر طبق مطالعات انجام شده در گذشته این‌طور مشاهده شده است که میزان ژن VEGF-A در طی توالی آدنوما-کارسینوما نسبت‌به بافت سالم دارای افزایش بیان معنادار بوده است (۱۹). در مطالعه‌ای که توسط جورج و همکاران در سال ۲۰۰۱ انجام گرفت و با مطالعه ما نیز همسو است افزایش بیان ژن VEGF-A در پولیپ‌های آدنومای روده بزرگ مشاهده شد که البته از لحاظ آماری به مقدار معنادار نرسید و همچنین پیشنهاد شد که تفاوت در میزان بیان خانواده VEGF و ایزوفورم‌های VEGF-A در طی توالی آدنوما-کارسینوما و متعاقباً پیشرفت سرطان بسیار حائز اهمیت است (۲۰). در مطالعه‌ای که توسط بندارد و همکاران در سال ۲۰۰۸ انجام شد این‌طور مشاهده شد که میزان بیان ژن VEGF-A به‌طور معناداری در تومورهایی که در سمت چپ کولون و رکتوم واقع شده‌اند بالاتر از تومورهای سمت راست بود (۲۱). همچنین مطالعات گذشته نشان دادند که بیان VEGF-A به‌طور معناداری با ناحیه قرارگیری تومور در روده بزرگ همراهی دارد، به این گونه که تومورهای واقع در سمت چپ کولون بیان بالاتری از سمت راست داشتند (۲۲). در مطالعه حاظر افزایش بیان ژن VEGF-A در پولیپ‌های آدنومای واقع شده در کولون در مقایسه با ناحیه رکتوم مشاهده شد، البته این تفاوت از لحاظ آماری به مقدار معنادار نرسید. براساس نتایج حاصل از مطالعه حاضر و همچنین تحقیقات گذشته می‌توان این طور بیان کرد که تفاوت الگوی بیانی ژن VEGF-A در پولیپ‌های واقع شده در قسمت‌های کولون و رکتوم ممکن است ناشی از تفاوت‌هایی در مسیرهای مولکولی و تنظیم بیان ژن وابسته‌به بافت در نواحی مختلف روده بزرگ باشد (۲۱ و ۲۳).

به‌عنوان نتیجه، بیان زیاد ژن VEGF-A احتمالاً می‌تواند به‌عنوان یک امر مولکولی اساسی برای القای آنژیوژنز در پولیپ‌های آدنومای روده بزرگ در فاز پیش بدخیمی باشد و در نهایت پولیپ آدنوما را به سمت کارسینوما سوق دهد و میزان بیان متفاوت ژن VEGF-A در پولیپ‌های



نمودار ۲- بررسی میزان تغییرات بیان ژن VEGF-A در پولیپ‌های آدنوما در مقایسه با نمونه طبیعی

افزایش بیان ژن VEGF-A در پولیپ‌های آدنوما نسبت‌به گروه طبیعی.



نمودار ۳- بررسی میزان تغییرات بیان ژن VEGF-A در پولیپ‌های واقع در بخش‌های مختلف روده بزرگ

افزایش بیان ژن VEGF-A در پولیپ‌های آدنومای واقع شده در ناحیه کولون نسبت‌به رکتوم. همچنین عدم‌تغییر بیان ژن VEGF-A در آدنوماهای واقع شده در رکتوم.

آدنومای روده بزرگ که در مناطق مختلف روده قراردارند، احتمالاً ناشی از تفاوت‌هایی در مسیرهای ژنتیکی و تنظیم بیان ژن وابسته به بافت می‌باشد و ارزیابی میزان بیان آن ممکن است به‌عنوان یک مارکر مولکولی پیش‌آگهی‌دهنده برای پیشروی پولیپ‌های آدنوما به سمت بدخیمی ایفای نقش کند. همچنین بررسی میزان ژن VEGF-A ایزوفورم‌های آن در پولیپ‌های آدنوما مخصوصاً انواع پولیپ‌های آدنوما شامل، توبولار ویلوس و توبولو–ویلوس به‌منظور یافتن چگونگی پیشرفت انواع پولیپ‌های آدنوما به سمت بدخیمی و کارسینوما کمک کند، پیشنهاد می‌شود. البته توصیه می‌شود برای اثبات بیشتر این موضوع علاوه‌بر سنجش در سطح mRNA برای این ژن روش‌هایی که برای سنجش میزان پروتئین نظیر روش ایمونوهیستوشیمی و وسترن بلات و همچنین بالابردن سطح جامعه آماری مورد استفاده قرار گیرد.

References

1. Siegel R, Ward E, Brawley O, Jemal A. Cancer statistics, 2011: the impact of eliminating socioeconomic and racial disparities on premature cancer deaths. CA Cancer J Clin 2011;61:212-36. doi: 10.3322/caac.20121
2. Bray F, Jemal A, Grey N, Ferlay J, Forman D. Global cancer transition according to the Human Development Index (2008-2030): a population-based study. Lancet Oncol 2012;13:790-801. doi: 10.1016/S1470-2045(12)70211-5
3. Center MM, Jemal A, Smith RA, Ward E. Worldwide variations in colorectal cancer. CA Cancer J Clin 2009;59:366-78. doi: 10.3322/caac.20038
4. Weston AP،Campbell DR. Diminutive colonic polyps: Histopathology،spatial distribution،concomitant significant lesions،and treatment complications. Am J Gastroenterol 1995;90:24-8.
5. Provenzale D, Garrett JW, Condon SE, Sandler RS. Risk for colon adenomas in patients with rectosigmoid hyperplastic polyps. Ann Intern Med 1990;113:760-3.
6. Rex DK, Lehman GA, Hawes RH, Ulbright TM, Smith JJ. Screening colonoscopy in asymptomatic average-risk persons with negative fecal occult blood tests. Gastroenterology 1991;100:64-7.
7. Rex DK. Colonoscopy: a review of its yield for cancers and adenomas by indication. Am J Gastroenterol 1995;90:353-65.
8. Bertelson NL, Kalkbrenner KA, Merchea A, Dozois EJ, Landmann RG, De PetrisG, et al. Colectomy for endoscopically unresectable polyps: how often is it cancer? Dis Colon Rectum 2012;55:1111-6. doi: 10.1097/DCR.0b013e3182695115
9. Shussman ND, Wexner S. Colorectal polyps and polyposis syndromes. Gastroenterol Rep (Oxf) 2014;2:1-15. doi: 10.1093/gastro/got041
10. Martinetti D, Costanzo R, Kadare S, Alimehmeti M, Colarossi C, Canzonieri V, et al. KRAS and BRAF mutational status in colon cancer from Albanian patients. Diagn Pathol 2014;9:187. doi: 10.1186/s13000-014-0187-7
11. Chung TP, Fleshman JW. The genetics of sporadic colon cancer. Seminars in Colon and Rectal Surgery 2004;15:128-35. doi: 10.1053/j.scrs.2005.02.001
12. Marconcini L, Marchiò S, Morbidelli L, Cartocci E, Albini A, Ziche M, et al. c-fos-induced growth factor /vascular endothelial growth factor D induces angiogenesis in vivo and in vitro. Proc Natl Acad Sci USA 1999;96:9671-6.
13. Tammela T, Enholm B, Alitalo K, Paavonen K. The biology of vascular endothelial growth factors. Cardiovasc Res 2005;65:550-63. doi: 10.1016/j.cardiores.2004.12.002
14. Zhai Y, Ni J, Jiang GW, Lu J, Xing L, Lincoln C, et al. VEGI, a novel cytokine of the tumor necrosis factor family, is an angiogenesis inhibitor that suppresses the growth of colon carcinomas in vivo. FASEB J 1999;13:181-9.
15. Martin A, Komada MR, Sane DC. Abnormal angiogenesis in diabetes mellitus. Med Res Rev 2003;23:117-45. doi: 10.1002/med.10024
16. Neufeld G, Cohen T, Gengrinovitch S, Poltorak Z. Vascular endothelial growth factor (VEGF) and its receptors. FASEB J 1999;13:9-22.
17. Sun W. Angiogenesis in metastatic colorectal cancer and the benefits of targeted therapy. J Hematol Oncol 2012;5:63. doi: 10.1186/1756-8722-5-63
18. Tabernero J, Salazar R, Casado E, Martinelli E, Go´mez P, Baselga J. Targeted therapy in advanced colon cancer: the role of new therapies. Ann Oncol 2004;15:iv55-62. doi:10.1093/annonc/mdh905
19. George ML1, Tutton MG, Janssen F, Arnaout A, Abulafi AM, Eccles SA, et al. VEGF-A, VEGF-C, and VEGF-D in colorectal cancer progression. Neoplasia 2001;420-7.
20. Bendardaf R, Buhmeida A, Hilska M, Laato M, Syrjänen S, Syrjänen K, et al. VEGF-1 expression in colorectal cancer is associated with disease localization, stage, and long-term disease-specific survival. Anticancer Res 2008;28:3865-70.
21. Elsaleh H, Joseph D, Grieu F, Zeps N, Spry N, Iacopetta B. Association of tumour site and sex with survival benefit from adjuvant chemotherapy in colorectal cancer. Lancet 2000;355:1745-50. doi: 10.1016/S0140-6736(00)02261-3
22. Ko JY, Oh S, Yoo KH. Functional enhancers as master regulators of tissue-specific gene regulation and cancer development. Mol Cells 2017;40:169-77. doi: 10.14348/molcells.2017.0033
23. Pezeshkian Z, Forouzesh F, Peyravian N, Yaghoob-Taleghani M, Asadzadeh-Aghdaei H, Zali MR, et al. Clinicopathological correlations of VEGF-A and MMP-7 genes expression in different types of colorectal adenoma polyps. WCRJ 2017;4:e978.

Journal of Knowledge & Health 2018; Vol 13, No 1
Shahroud University of Medical Sciences

DOI: 10.22100/jkh.v13i1.1825
Original Article

Comparing the Expression Level of Vegf-A Gene in Adenoma Polyps Located in Colon and Rectum

Zara Pezeshkian (M.Sc.)[1], Ehsan Nazemalhosseini Majored (Ph.D.)[2*], Flora Forouzesh (Ph.D.)[1]
1. Dept. of Genetics, Tehran Medical Sciences Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
2. Gastroenterology and Liver Diseases Research center, Research Institute for Gastroenterology and Liver Diseases, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

Received: 21 November 2017**, Accepted:** 30 April 2018

Abstract:

Introduction: *Colorectal cancer mostly be derived from adenomatous polyposis including tubular, villous and tubulovilluos types. Investigation of some genes that play role in angiogenesis can be used as a biomarker in molecular diagnosis for polyp progress to malignancy. The aim of this study is Comparing the expression level of VEGF-A gene in adenoma polyps located in colon and rectum and it's relation with malignancy incidence.*
Methods: *In this study, 50 biopsy samples of adenoma polyp and 20 normal samples were collected from Taleghani hospital. Clinical information was collected. mRNA extraction and cDNA synthesis were performed. Gene expression was investigated by Real time PCR method and fold change of gene expression was evaluated by ($2^{-\Delta\Delta ct}$) method. The outcomes were analyzed by the ABI 7500 Sequence Detection System (SDS) software, version 2.1.0 and Graph Pad Prism, version 5.*
Results: *In this study, we observed the increased VEGF-A mRNA level in adenoma polyps compared to the control group. However، this difference was not significant ($P>0.05$), and also found overexpression of VEGF-A mRNA in adenoma polyps located in the colon site in comparison to the rectum site. But statistically, these differences in VEGF-A mRNA expression did not reach to a significant level($P>0.05$).*
Conclusion: *Adenoma polyps have more malignancy potential for making colorectal cancer and the overexpression of VEGF-A gene perhaps has a critical role in adenoma polyps malignancy process. Also, maybe the location of adenoma polyps has a important effect on VEGF-A gene expression.*

Keyword: Adenoma polyp, Colorectal cancer, Gene expression, VEGF-A, Colon, Rectum.

Conflict of Interest: No
***Corresponding author:** E. Nazemalhosseini Majored**, Email:** ehsanmojarad@gmail.com*

Citation: Pezeshkian Z, Nazemalhosseini Majored E, Forouzesh F. Comparing the expression level of VEGF-A gene in adenoma polyps located in colon and rectum. Journal of Knowledge & Health 2018;13(1):65-70.