مجله دانشکده پزشکی اصفهان
سال سی و سوم/شماره ۳۵۱/هفته سوم آبان ماه ۱۳۹٤

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۴/۲۸
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۷/۱۷

مقایسه‌ی بیان ژن‌های Foxa1 و Foxa2 در مخاط معده‌ی مردان و زنان

زهرا محمدی[۱]، دکتر پریسا محمدی‌نژاد[۲]، دکتر مهدی مغنی‌باشی[۳]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: در سال‌های اخیر مشخص شده است که تعداد زیادی از ژن‌ها در دو جنس بیان متفاوتی دارند که به آن دو شکلی جنسیتی در بیان ژن می‌گویند. یکی از دلایل اصلی تفاوت بیان ژن‌ها در دو جنس، به هورمون‌های جنسی نسبت داده می‌شود. با توجه به وجود عنصر پاسخ دهنده به استروژن و آندروژن در ناحیه‌ی تنظیمی ژن‌های Foxa1 و Foxa2 و دو شکلی جنسیتی در بروز سرطان معده، در این مطالعه بیان این دو ژن در معده‌ی زنان و مردان سالم مقایسه شد.

روش‌ها: نمونه‌گیری از ۲۰ مرد و ۲۱ زن سالم با استفاده از آندوسکوپی از ناحیه‌ی آنتروم معده انجام شد. پس از استخراج RNA و سنتز cDNA (Complementary DNA)، با تکنیک نیمه‌کمی RT-PCR (Reverse transcription polymerase chain reaction) بیان ژن‌های Foxa1 و Foxa2 در مردان و زنان مقایسه شد. از آزمون‌های آماری Independent sample t و ANOVA برای تحلیل داده‌ها استفاده گردید.

یافته‌ها: بیان ژنFoxa1 در زنان به طور معنی‌داری بیشتر از مردان بود (P = ۰/۰۴۱، df = ۳۶، t = ۲/۱۲). همچنین، بیان این ژن در افراد زیر ۴۵ سال به طور قابل توجهی بیشتر از افراد بالای ۴۵ سال بود (P = ۰/۰۱۰، df = ۳۶، t = ۲/۷۱)؛ اما در مورد ژن Foxa2 نتایج معنی‌داری مشاهده نشد.

نتیجه‌گیری: بیان ژن Foxa1 در معده‌ی زنان بیشتر از مردان می‌باشد. همچنین، بیان این ژن در معده‌ی افراد مورد مطالعه، با افزایش سن به طور قابل توجهی کاهش می‌یابد.

واژگان کلیدی: دو شکلی جنسیتی، بیان ژن، هورمون‌های جنسی، Foxa2، Foxa1

ارجاع: محمدی زهرا، محمدی‌نژاد پریسا، مغنی‌باشی مهدی. **مقایسه‌ی بیان ژن‌های Foxa1 و Foxa2 در مخاط معده‌ی مردان و زنان.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۴؛ ۳۳ (۳۵۱): ۱۵۷۳-۱۵۶۴

مقدمه

در سال‌های اخیر، مشخص شده است که تعداد زیادی از ژن‌ها در دو جنس بیان متفاوتی دارند که به آن دو شکلی جنسیتی در بیان ژن می‌گویند که در موجودات مختلف از جمله انسان نیز گزارش شده است (۱). یکی از دلایل اصلی تفاوت بیان ژن‌ها در دو جنس به هورمون‌های جنسی استروژن و آندروژن نسبت داده می‌شود (۳-۲).

دو شکلی جنسیتی در بروز انواع بیماری‌ها از جمله بیماری‌های قلبی- عروقی و فیبروز کبدی با بروز بیشتر در مردان نسبت به زنان و بیماری‌های خود ایمنی از جمله آرتریت روماتوئید، دیابت نوع ۱،

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشکده‌ی علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهرکرد، شهرکرد، ایران
۲- استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده‌ی علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهرکرد، شهرکرد، ایران
۳- استادیار، گروه ژنتیک، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کازرون، کازرون، ایران
نویسنده‌ی مسؤول: دکتر مهدی مغنی‌باشی
Email: mehdimoghani@yahoo.com

لوپوس اریتماتوس سیستمیک با شیوع بیشتری در زنان نسبت به مردان گزارش شده است (۵-۴). علاوه بر این، در بعضی از سرطان‌ها مانند سرطان مثانه، سرطان کبد و نوعی سرطان روده‌ی بزرگ ارثی HNPCC (Hereditary nonpolyposis colorectal cancer) با بروز قابل توجه بیشتر در مردان نسبت به زنان گزارش شده است (۷-۶، ۲). یکی از دلایل دو شکلی جنسیتی در بروز بیماری‌ها، می‌تواند تفاوت بیان ژن‌ها در دو جنس باشد.

یکی از سرطان‌هایی که فراوانی متفاوتی در دو جنس دارد، سرطان معده است که در اکثر کشورها تعداد مردان مبتلا به سرطان معده ۴-۲ برابر زنان می‌باشد و طبق آمار سازمان بهداشت جهانی (WHO یا World Health Organization) در سال ۲۰۰۸ تعداد مردان مبتلا به سرطان معده ۶۳۵۰۰۰ نفر اما تعداد زنان مبتلا ۳۸۰۰۰۰ نفر بود (۹-۸).

بعضی از مطالعات اپیدمیولوژی این فرضیه را مطرح کرده‌اند که هورمون‌های جنسی، در ابتلا به سرطان معده نقش دارند (۱۰). شواهد تجربی قوی جهت نقش استروژن در الگوی شیوع وابسته به جنسیت سرطان معده ارایه شده است و تصور کلی بر این است که استروژن خطر ابتلا به سرطان معده را کاهش می‌دهد (۱۱).

ژن Foxa1 بر روی بازوی بلند کروموزوم شماره‌ی ۱۴ (۱۲) و ژن Foxa2 بر روی بازوی کوتاه کروموزوم شماره‌ی ۲۰ قرار گرفته است (۱۳). Foxa1 و Foxa2 از عوامل رونویسی مهمی می‌باشند که در تمایز سلول‌های دستگاه گوارش پستانداران نقش دارند و در تمام سلول‌های اپی‌تلیوم دستگاه گوارش که منشأ جنینی دارند، در بزرگسالی بیان می‌شوند (۱۴).

عامل رونویسی Foxa1، عملکرد گیرنده‌های هورمون‌های استروئیدی را میانجی‌گری می‌کند (۱۶-۱۵). این عامل رونویسی به طور مستقیم به گیرنده‌ی آندروژن متصل می‌شود و در تنظیم رونویسی چندین ژن دخیل می‌باشد (۱۵، ۱۲). همچنین، گزارش شده است که بیان Foxa1 برای فعالیت گیرنده‌ی استروژن در توسعه‌ی غدد پستانی ضروری است (۷).

عامل رونویسی Foxa1 و Foxa2 در نزدیکی عناصر پاسخ دهنده به هورمون‌های استروئیدی به DNA متصل می‌شوند و در اتصال هورمون‌های آندروژنی و استروژنی به عناصر پاسخ دهنده کمک می‌کنند (۱۷).

مشخص شده است که کاهش بیان ژن Foxa1 و Foxa2 با کاهش بیان E-cadherinها همراه است. در نتیجه، کاهش آن می‌تواند با تهاجم تومور و مراحل پیشرفته‌ی سرطان ارتباط داشته باشد (۱۸، ۷).

علاوه بر این، مطالعاتی که در زمینه‌ی سرطان کبد انجام گرفته است، نشان می‌دهد که تفاوت بیان ژن‌های Foxa1 و Foxa2 در دو جنس می‌تواند در بروز بیشتر این سرطان در مردان نسبت به زنان نقش داشته باشد و پیشنهاد شده است که تفاوت بیان ژن‌های Foxa1 و Foxa2 در دو جنس به دلیل هورمون‌های جنسی (استروژن و آندروژن) است. پیشنهاد شده است که دو شکلی جنسیتی در بروز سرطان کبد، وابسته به Foxa1 و Foxa2 می‌باشد (۲).

همان‌طور که اشاره شد، شیوع سرطان معده در مردان به طور معنی‌داری بیشتر از زنان می‌باشد و اکثر مطالعات این امر را به دلیل نقش محافظتی

هورمون‌های جنسی در زنان می‌دانند. هورمون‌های جنسی اغلب از طریق تأثیر بر بیان ژن نقش خود را ایفا می‌کنند که به طور معمول از طریق تأثیر بر گیرنده‌های خود و کنش با ناحیه‌ی تنظیمی ژن مورد هدف می‌باشد. ژن‌های Foxa1 و Foxa2 عناصر تنظیمی پاسخ دهنده به استروژن و آندروژن را دارند و در مطالعات قبلی دیده شده است که بیان متفاوت این دو ژن در حالت طبیعی، می‌تواند در بیشتر بودن سرطان کبد در مردان نسبت به زنان نقش داشته باشد.

بنا بر این، با توجه به این که این دو ژن در معده بیان می‌شوند و در سال‌های اخیر دیده شده است که دو شکلی جنسیتی در بیان بعضی از ژن‌ها دیده می‌شود، در این مطالعه به مقایسه‌ی بیان ژن‌های Foxa1 و Foxa2 در معده‌ی زنان و مردان سالم پرداخته شد تا مشخص شود که «آیا تفاوت در بیان این دو ژن در دو جنس وجود دارد یا خیر؟». در صورتی که جواب مثبت باشد و در مطالعات دیگر با روش‌های کمی هم این نتایج تکرار شود و ثابت شود که به طور مستقیم به دلیل نقش هورمون‌های جنسی این تفاوت بیان ایجاد می‌شود، می‌توان در درمان یا پیشگیری سرطان معده از هورمون‌های جنسی کمک گرفت.

روش‌ها

در این مطالعه، از طریق آندوسکوپی، نمونه‌ی بافتی ناحیه‌ی آنتروم معده از ۲۱ زن و ۲۰ مرد سالم مراجعه کننده به بخش آندوسکوپی بیمارستان امین اصفهان در سه گروه سنی زیر ۳۵ سال، ۵۰-۳۵ سال (در زنان ۳۵ سال تا یائسگی) و بالای ۵۰ سال (در زنان بعد از یائسگی) تهیه گردید. رضایت‌نامه‌ی کتبی از تمام افراد شرکت کننده در این مطالعه دریافت شد. نمونه‌های بافتی در این مطالعه، از نظر زخم معده، سرطان معده و التهاب معده سالم بودند. مشخصات افراد مورد مطالعه در جدول ۱ آمده است.

جدول ۱. مشخصات افراد مورد مطالعه

مشخصات	
تعداد نمونه‌ها	۴۱
جنسیت	تعداد (درصد)
مرد	۲۰ (۴۸/۷۸)
زن	۲۱ (۵۱/۲۲)
سن (سال)	انحراف معیار ± میانگین
دامنه‌ی سنی	۱۶-۷۹
کل	۴۴/۰۰ ± ۱۲/۳۳
مرد	۳۹/۰۰ ± ۹/۹۰
زن	۴۴/۰۰ ± ۱۳/۴۷
وضعیت قاعدگی	تعداد (درصد)
قبل از یائسگی	۱۵ (۷۱/۴۲)
بعد از یائسگی	۶ (۲۸/۵۸)

برای جلوگیری از تخریب RNA، نمونه‌های بافتی بلافاصله در محلول RNA later (کیاژن، ایران) قرار داده شدند. پس از استخراج RNA تام سلولی با استفاده از Trizol (Invitrogen)، با استفاده از کیت فرمتاز، سنتز cDNA (Complementary DNA) انجام گرفت. برای مقایسه‌ی بیان ژن‌های Foxa1 و Foxa2 بین مردان و زنان و گروه‌های سنی مختلف، از تکنیک RT-PCR (Reverse transcription polymerase chain reaction) استفاده شد. با توجه به این که RT-PCR یک تکنیک نیمه‌کمی است، برای بهبود دقت آن برای ژن‌های مورد نظر، جداگانه گرادیانت چرخه‌ای گذاشته شد؛ به این صورت که برای یک نمونه و در شرایط یکسان اما در تعداد چرخه‌های ۲۵، ۲۸، ۳۱، ۳۴ و ۳۷ RT-PCR انجام شد و کمترین چرخه‌ای که شدت

باند قابل شناسایی بود، به عنوان تعداد چرخه‌ی RT-PCR انتخاب شد. در این مطالعه، از ژن بتا اکتین به عنوان ژن مرجع برای طبیعی‌سازی نتایج استفاده شد. توالی پرایمرهای مورد استفاده در این مطالعه که با استفاده از نرم‌افزار Oligo طراحی گردیده بود، در جدول ۲ آمده است.

شرایط RT-PCR برای ژن‌های Foxa1، Foxa2 و بتا اکتین به صورت یک چرخه‌ی مصنوعی‌سازی اولیه در ۹۴ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه، ۳۵ چرخه (برای ژن Foxa1 ۳۱ چرخه و ژن Foxa2 ۲۸ چرخه) با شرایط مصنوعی‌سازی در ۹۴ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه، دمای اتصال پرایمر در ۵۵ درجه‌ی سانتی‌گراد (برای ژن Foxa1 ۵۵/۸ درجه‌ی سانتی‌گراد و برای ژن Foxa2 ۵۹/۸ درجه‌ی سانتی‌گراد) به مدت ۴۵ ثانیه، طویل‌سازی در دمای ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۴۵ ثانیه (برای ژن‌های Foxa1 و Foxa2 ۱ دقیقه) و طویل‌سازی نهایی به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد انجام گرفت. حجم واکنش RT-PCR و مواد مورد استفاده برای هر سه ژن، یکسان و به صورت حجم نهایی ۱۵ میکرولیتر و شامل ۱۰/۵۵ میکرولیتر آب مقطر دوبار تقطیر، ۱/۵ میکرولیتر بافر (۱۰ X) (سیناژن، ایران)، ۰/۴۵ میکرولیتر $MgCl_2$ (۵۰ میلی‌مولار) (سیناژن، ایران)، ۰/۶ میکرولیتر dNTP (Deoxynucleotide triphosphate) (۵ میلی‌مولار) (سیناژن، ایران)، ۰/۶ میکرولیتر پرایمر F (۵ پیکومول)، ۰/۶ میکرولیتر پرایمر R (۵ پیکومول)، ۰/۱ میکرولیتر آنزیم Taq (۵ واحد بر میکرولیتر) (سیناژن، ایران) و ۰/۶ میکرولیتر cDNA (۵۰ نانوگرم) بود.

محصول RT-PCR بر روی ژل آگارز ۲ درصد الکتروفورز شد و با DNA STAIN (کیاژن، ایران) رنگ‌آمیزی گردید و از ژل‌ها عکس‌برداری شد. نمونه‌های مورد مقایسه، هم‌زمان RT-PCR و الکتروفورز شدند تا متغیرهای مختلف به حداقل برسد و شرایط یکسان باشد. سپس برای کمی کردن باندهای به دست آمده، از نرم‌افزار ImageJ استفاده شد. برای طبیعی‌سازی داده‌ها، شدت باند ژن مورد نظر بر شدت باند بتا اکتین هر نمونه تقسیم شد و اعداد به دست آمده با نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۱۶ (version 16, SPSS Inc., Chicago, IL) و آزمون آماری Independent sample t دو طرفه و ANOVA مقایسه شدند. در این مطالعه، $P < ۰/۰۵۰$ به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

جدول ۲. توالی پرایمرهای ژن‌های Foxa1، Foxa2 و β–actin

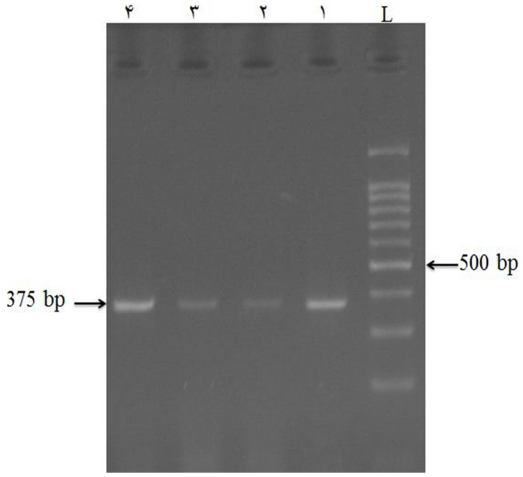
ژن	طول قطعه‌ی تکثیر شده	توالی
Foxa1	۱۰۴ bp	Forward: 5´- GTGTAGACATCCTCCGTAT-3´ Reverse: 5´- GGGGTCCTTGTAACTTTC-3´
Foxa2	۲۰۴ bp	Forward: 5´- GTTCTCCTCCATTGCTGTTG-3´ Reverse: 5´- CACCGTGTCAAGATTGGGA-3´
β-actin	۳۷۵ bp	Forward: 5´- CGTGACATTAAGGAGAAGCTGTGC-3´ Reverse: 5´-CTCAGGAGGAGCAATGATCTTGAT-3´

یافته‌ها

جمعیت مورد بررسی در این مطالعه، ۴۱ فرد سالم شامل ۲۰ مرد (۴۸/۷۸ درصد) و ۲۱ زن (۵۱/۲۲ درصد) بود. میانگین سنی مردان ۹/۹۰ ± ۳۹/۰۰ سال و میانگین سنی زنان ۱۳/۴۷ ± ۴۴/۰۰ سال و دامنه‌ی سنی افراد مورد مطالعه ۷۹-۱۶ سال بود.

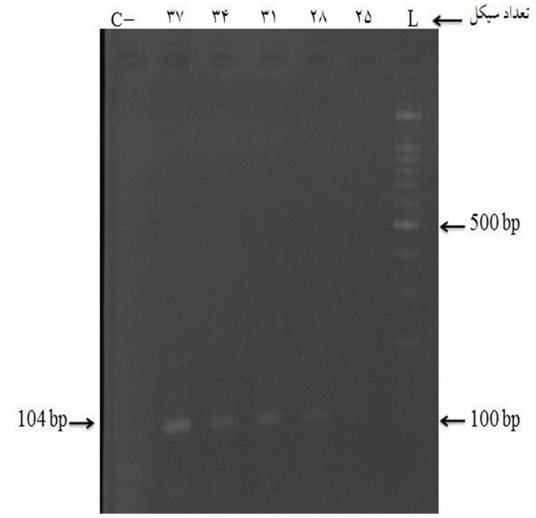
پس از بهینه‌سازی شرایط استخراج RNA و سنتز cDNA، بر اساس شدت باند مشاهده شده در گرادیانت چرخه‌ای، به ترتیب ۳۱ و ۲۸ چرخه برای RT-PCR ژن‌های Foxa1 و Foxa2 انتخاب شد (شکل‌های ۱ و ۲). سپس برای تمامی نمونه‌ها برای ژن‌های Foxa1، Foxa2 و بتا اکتین، RT-PCR گذاشته شد و همان طور که انتظار می‌رفت، به ترتیب باندهای ۱۰۴ bp، ۲۰۴ و ۳۷۵ به دست آمد (شکل‌های ۳، ۴ و ۵) پس از کمی کردن شدت باندها و طبیعی کردن آن‌ها، میانگین بیان ژن‌های Foxa1 و Foxa2 بین زنان و مردان و در گروه‌های سنی مختلف مردان و زنان مقایسه شد.

تفاوت معنی‌داری در بیان ژن Foxa1 بین زنان و مردان وجود داشت (P = ۰/۰۴۱، df = ۳۶، t = ۲/۱۲۰)؛ به طوری که میانگین بیان این ژن در زنان (۰/۶۹ ± ۲/۸۲) نسبت به میانگین بیان آن در مردان (۰/۲۱ ± ۱/۱۱) ۲/۵۴ برابر بود (شکل ۶). علاوه بر این، میزان بیان این ژن در زنان یائسه (مردان نیز در این گروه قرار داده شدند) و زنان غیر یائسه تفاوت معنی‌داری نشان داد (P = ۰/۰۴۷، df = ۳۶، t = ۲/۰۵۷)؛ به طوری که میانگین بیان این ژن در زنان غیر یائسه (۰/۷۲ ± ۳/۱۲) نسبت به میانگین در مردان و زنان یائسه (۰/۳۵ ± ۱/۶۳) بیشتر بود (شکل ۷).

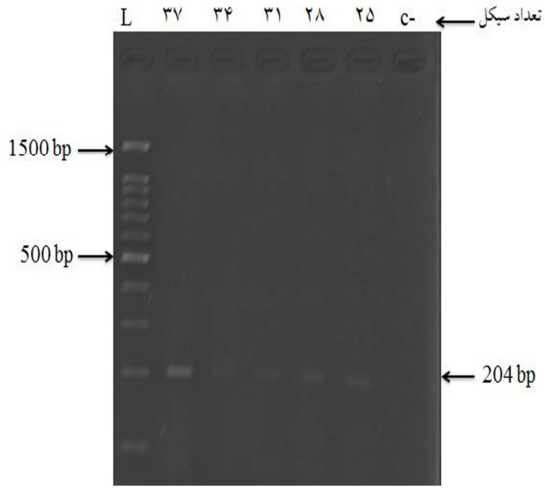


شکل ۱. بررسی صحت سنتز cDNA (Complementary DNA) با استفاده از RT-PCR (Reverse transcription polymerase chain reaction) پس از الکتروفورز بر روی ژل ۲ درصد

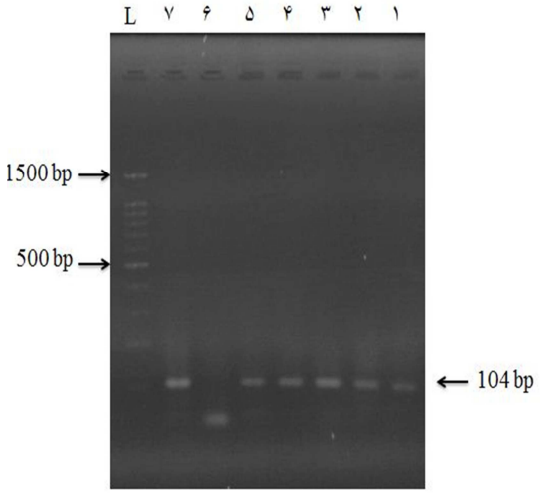
چاهک L: Ladder DNA (۱۰۰ bp) و در چاهک ۱ تا ۴، باند ۳۷۵ bp نشان دهنده‌ی تکثیر cDNA بتا اکتین در نمونه‌های متفاوت می‌باشد که دال بر سنتز صحیح cDNA است.



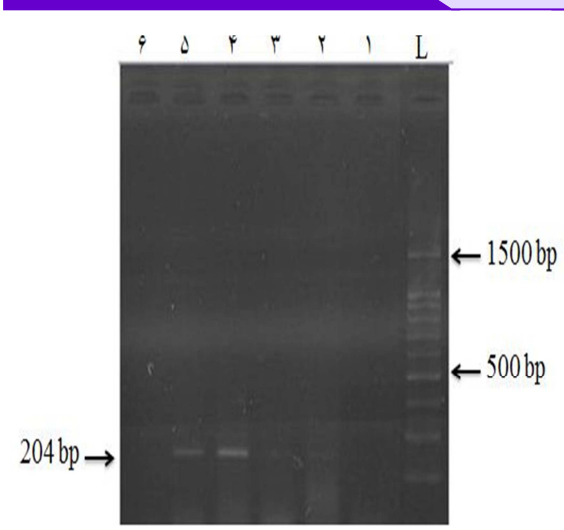
شکل ۲. گرادیانت چرخه‌ای ژن Foxa1. پس از انجام Reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) در تعداد چرخه‌های مختلف (۲۵، ۲۸، ۳۱، ۳۴ و ۳۷)، محصولات در ژل ۲ درصد به همراه (۱۰۰ bp) DNA Ladder (چاهک L: DNA Ladder و چاهک c-: شاهد منفی) الکتروفورز شدند. باند ۱۰۴ bp نشان دهنده‌ی تکثیر cDNA Foxa1 (Complementary DNA) در چرخه‌های مختلف در یک نمونه می‌باشد.



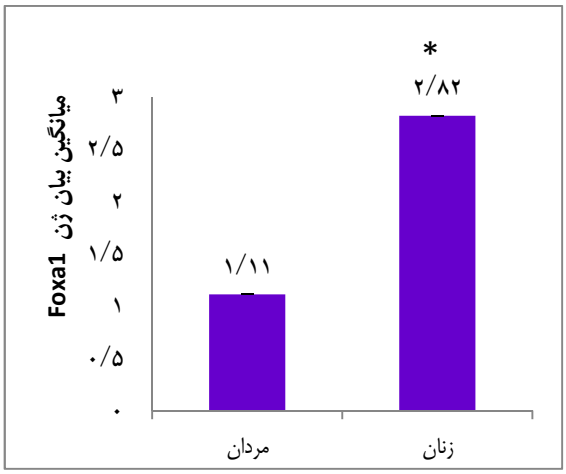
شکل ۳. گرادیانت چرخه‌ای ژن Foxa2 پس از انجام Reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) در تعداد چرخه‌ای مختلف (۲۵، ۲۸، ۳۱، ۳۴ و ۳۷)، محصولات در ژل ۲ درصد به همراه DNA Ladder (۱۰۰ bp) (چاهک L: DNA Ladder و چاهک c-: شاهد منفی) الکتروفورز شدند و باند ۲۰۴ bp نشان دهنده‌ی تکثیر Foxa2 cDNA (Complementary DNA) در چرخه‌ای مختلف در یک نمونه می‌باشد.



شکل ۴. Reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) برای ژن Foxa1 پس از انجام RT-PCR، محصولات در ژل ۲ درصد به همراه چاهک L: DNA Ladder(۱۰۰ bp) الکتروفورز شدند و چاهک‌های ۱ تا ۷ (چاهک شماره‌ی ۶ شاهد منفی) باند ۱۰۴ bp مربوط به تکثیر cDNA Foxa1 (Complementary DNA) در افراد مختلف می‌باشد.



شکل ۵. Reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) برای ژن Foxa2 پس از انجام RT-PCR، محصولات در ژل ۲ درصد به همراه DNA Ladder (۱۰۰ bp) (چاهک L: DNA Ladder) الکتروفورز شدند و چاهک‌های ۱ تا ۵ (چاهک شماره‌ی ۶ شاهد منفی). باند ۲۰۴ bp مربوط به تکثیر Foxa2 cDNA (Complementary DNA) در افراد مختلف می‌باشد.

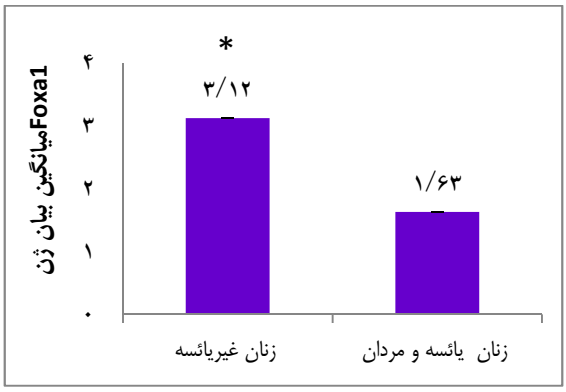


شکل ۶. مقایسه‌ی بیان ژن Foxa1 در بافت معده بین مردان و زنان سالم. میانگین بیان این ژن در زنان بیش از دو برابر مردان می‌باشد.

(*): نشان دهنده‌ی انحراف معیار میانگین بیان ژن می‌باشد.

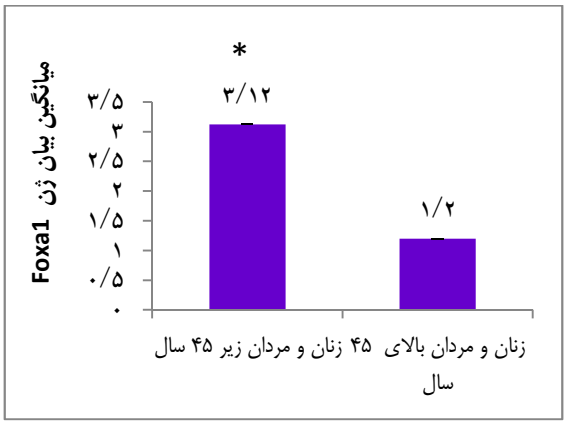
همچنین، مقایسه‌ی بیان این ژن بین زنان و مردان زیر ۴۵ سال (در یک گروه) و زنان و مردان بالای

۴۵ سال (در گروه دیگر) اختلاف معنی‌داری را نشان داد (P = ۰/۰۱۰، df = ۳۶، t = ۲/۷۱)؛ به طوری که میانگین بیان این ژن در زنان و مردان زیر ۴۵ سال (۰/۶۷ ± ۳/۱۲) نسبت به میانگین در مردان و زنان بالای ۴۵ سال(۰/۲۰ ± ۱/۲۰) ۲/۶ برابر بود (شکل ۸).



شکل ۷. مقایسه‌ی بیان ژن Foxa1 در بافت معده بین زنان یائسه و مردان (در یک گروه) با زنان غیر یائسه میانگین بیان ژن Foxa1 در زنان غیر یائسه ۱/۹۱ برابر زنان یائسه و مردان (در یک گروه) می‌باشد.

(*): نشان دهنده‌ی انحراف معیار میانگین بیان ژن می‌باشد.



شکل ۸. مقایسه‌ی بیان ژن Foxa1 در بافت معده بین زنان و مردان زیر ۴۵ سال و زنان و مردان بالای ۴۵ سال. میانگین بیان ژن Foxa1 در زنان و مردان زیر ۴۵ سال ۲/۶ برابر زنان و مردان بالای ۴۵ سال می‌باشد.

(*): نشان دهنده‌ی انحراف معیار میانگین بیان ژن می‌باشد.

آنالیزهای آماری نشان داد که تفاوت معنی‌داری در بیان ژن Foxa2 بین زنان و مردان وجود نداشت (t = ۱/۴۴۷ ،df = ۳۹ ،P = ۰/۱۵۶).

بحث

با توجه به تغییر بیان ژن Foxa1 در سرطان‌های مثانه، آدنوکارسینومای ریه، تیروئید، پروستات، روده‌ی بزرگ، سرطان مری- معده‌ای و سرطان کبد (۱۹، ۷، ۲)، فراوانی بیشتر سرطان معده در مردان نسبت به زنان و ارتباط آن با هورمون‌های جنسی و نقش ژن‌های Foxa1 و Foxa2 در بروز بیشتر سرطان کبد در مردان نسبت به زنان، این مطالعه به مقایسه‌ی بیان ژن‌های Foxa1 و Foxa2 که حاوی ARE و ERE در ناحیه‌ی تنظیمی خود می‌باشند، بین مردان و زنان در سه گروه سنی زیر ۳۵ سال، ۵۰-۳۵ سال (در زنان ۳۵ سال تا قبل از یائسگی) و بالای ۵۰ سال (در زنان بعد از یائسگی) پرداخته شد.

نتایج این مطالعه نشان داد که بیان ژن Foxa1 بین زنان و مردان سالم تفاوت معنی‌داری داشت و میانگین بیان این ژن در زنان نسبت به مردان حدود ۲/۵۴ برابر افزایش داشت. در مطالعه‌ی Lopes و همکاران مشاهده شد که میزان بیان ژن PCDH11X در مغز زنان، حدود دو برابر مردان می‌باشد (۲۰).

نتایج نشان داد که بیان این ژن در زنان غیر یائسه بیش از دو برابر گروه دیگر (مردان و زنان یائسه در یک گروه با توجه به هم سطح بودن میزان استروژن) بود و این اختلاف به لحاظ آماری معنی‌دار بود. در همین راستا، Murphy و Steenbergen بیان کردند که قبل از سن یائسگی، خطر ابتلا به بیماری‌های قلبی در بین زنان بسیار کمتر می‌باشد و این امر، می‌تواند

ناشی از تأثیر گیرنده‌های استروژن در بیان برخی از ژن‌های قلب مانند نیتریک اکسید سنتتاز و پروتئین‌های شوک حرارتی باشد (۲۱).

همچنین، با توجه به این که میانگین بیان این ژن در افراد زیر ۴۵ سال ۲/۶ برابر افراد بالای ۴۵ سال بود، نشان می‌دهد که میزان بیان این ژن با افزایش سن به میزان قابل توجهی کاهش می‌یابد. Berchtold و همکاران نیز نشان دادند که با افزایش سن، بیان بعضی از ژن‌ها در مغز انسان تغییر می‌کند؛ به طوری که بیان بعضی از ژن‌ها افزایش و بعضی دیگر کاهش می‌یابد (۲۲).

مقایسه‌ی بیان ژن Foxa2 در مردان و زنان مورد مطالعه نشان داد که اگر چه میانگین بیان این ژن در مردان (۲/۶۵) بیشتر از زنان (۱/۲۸) بود، اما به لحاظ آماری، این اختلاف معنی‌دار نبود.

در نهایت، می‌توان پیشنهاد کرد که بیان متفاوت این ژن Foxa1 در طی سالیان متمادی، ممکن است با بروز متفاوت سرطان معده در دو جنس ارتباط داشته باشد.

تشکر و قدردانی

در پایان، از جناب آقای دکتر پیمان ادیبی و جناب آقای دکتر مجید خیراللهی جهت راهنمایی‌های ارزنده و نیز از تمامی افراد شرکت کننده در این پژوهش، سپاسگزاری می‌گردد.

References

1. Saito K, Negishi M, James SE. Sexual dimorphisms in zonal gene expression in mouse liver. Biochem Biophys Res Commun 2013; 436(4): 730-5.
2. Li Z, Tuteja G, Schug J, Kaestner KH. Foxa1 and Foxa2 are essential for sexual dimorphism in liver cancer. Cell 2012; 148(1-2): 72-83.
3. Isensee J, Witt H, Pregla R, Hetzer R, Regitz-Zagrosek V, Noppinger PR. Sexually dimorphic gene expression in the heart of mice and men. J Mol Med (Berl) 2008; 86(1): 61-74.
4. Gilbert JS, Nijland MJ. Sex differences in the developmental origins of hypertension and cardiorenal disease. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol 2008; 295(6): R1941-R1952.
5. Sharma S, Eghbali M. Influence of sex differences on microRNA gene regulation in disease. Biol Sex Differ 2014; 5(1): 3.
6. Campbell-Thompson M, Lynch IJ, Bhardwaj B. Expression of estrogen receptor (ER) subtypes and ERbeta isoforms in colon cancer. Cancer Res 2001; 61(2): 632-40.
7. DeGraff DJ, Clark PE, Cates JM, Yamashita H, Robinson VL, Yu X, et al. Loss of the urothelial differentiation marker FOXA1 is associated with high grade, late stage bladder cancer and increased tumor proliferation. PLoS One 2012; 7(5): e36669.
8. Danaei G, Vander HS, Lopez AD, Murray CJ, Ezzati M. Causes of cancer in the world: comparative risk assessment of nine behavioural and environmental risk factors. Lancet 2005; 366(9499): 1784-93.
9. Jemal A, Murray T, Ward E, Samuels A, Tiwari RC, Ghafoor A, et al. Cancer statistics, 2005. CA Cancer J Clin 2005; 55(1): 10-30.
10. Pricci M, Linsalata M, Russo F, Messa C, Amati L, Caradonna L, et al. Effects of 17beta-estradiol administration on apoptosis and polyamine content in AGS cell line. Anticancer Res 2001; 21(5): 3215-20.
11. Camargo MC, Goto Y, Zabaleta J, Morgan DR, Correa P, Rabkin CS. Sex hormones, hormonal interventions, and gastric cancer risk: a meta-analysis. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2012; 21(1): 20-38.
12. Lin L, Miller CT, Contreras JI, Prescott MS, Dagenais SL, Wu R, et al. The hepatocyte nuclear factor 3 alpha gene, HNF3alpha (FOXA1), on chromosome band 14q13 is amplified and overexpressed in esophageal and lung adenocarcinomas. Cancer Res 2002; 62(18): 5273-9.
13. Basseres DS, D'Alo F, Yeap BY, Lowenberg EC, Gonzalez DA, Yasuda H, et al. Frequent downregulation of the transcription factor Foxa2 in lung cancer through epigenetic silencing. Lung Cancer 2012; 77(1): 31-7.
14. Ye DZ, Kaestner KH. Foxa1 and Foxa2 control the differentiation of goblet and enteroendocrine

L- and D-cells in mice. Gastroenterology 2009; 137(6): 2052-62.
15. Imamura Y, Sakamoto S, Endo T, Utsumi T, Fuse M, Suyama T, et al. FOXA1 promotes tumor progression in prostate cancer via the insulin-like growth factor binding protein 3 pathway. PLoS One 2012; 7(8): e42456.
16. Naderi A, Meyer M, Dowhan DH. Cross-regulation between FOXA1 and ErbB2 signaling in estrogen receptor-negative breast cancer. Neoplasia 2012; 14(4): 283-96.
17. Sahu B, Laakso M, Pihlajamaa P, Ovaska K, Sinielnikov I, Hautaniemi S, et al. FoxA1 specifies unique androgen and glucocorticoid receptor binding events in prostate cancer cells. Cancer Res 2013; 73(5): 1570-80.
18. Tang Y, Shu G, Yuan X, Jing N, Song J. FOXA2 functions as a suppressor of tumor metastasis by inhibition of epithelial-to-mesenchymal transition in human lung cancers. Cell Res 2011; 21(2): 316-26.
19. Chandanos E, Lagergren J. Oestrogen and the enigmatic male predominance of gastric cancer. Eur J Cancer 2008; 44(16): 2397-403.
20. Lopes AM, Ross N, Close J, Dagnall A, Amorim A, Crow TJ. Inactivation status of PCDH11X: sexual dimorphisms in gene expression levels in brain. Hum Genet 2006; 119(3): 267-75.
21. Murphy E, Steenbergen C. Gender-based differences in mechanisms of protection in myocardial ischemia-reperfusion injury. Cardiovasc Res 2007; 75(3): 478-86.
22. Berchtold NC, Cribbs DH, Coleman PD, Rogers J, Head E, Kim R, et al. Gene expression changes in the course of normal brain aging are sexually dimorphic. Proc Natl Acad Sci U S A 2008; 105(40): 15605-10.

Journal of Isfahan Medical School Received: 19.07.2015

Vol. 33, No. 351, 3rd Week, November 2015 Accepted: 09.10.2015

Comparing the Expression of Foxa1 and Foxa2 Genes in the Stomach in Men and Women

Zahra Mohammadi[1], Parisa Mohamadynejad PhD[2], Mehdi Moghanibashi PhD[3]

Original Article

Abstract

Background: In recent years, it is found that a large number of genes are differentially expressed in two sexes; this can be referred to sexual dimorphism in gene expression. One of the main reasons for the differences in gene expression between male and female is assigned to sex hormones. Regarding to the presence of estrogen and androgen response elements in the regulatory region of Foxa1 and Foxa2 genes and sexual dimorphism in the incidence of gastric cancer, in this study, we compared the expression of these genes in the stomach of healthy men and women.

Methods: Sampling was done from 20 healthy men and 21 healthy women using endoscopy from the gastric antrum. Following RNA extraction and complementary DNA (cDNA) synthesis, expression of Foxa1 and Foxa2 genes was compared between the men and women using semi-quantitative technique of reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR). Then, the data were analyzed using statistical t and ANOVA tests.

Findings: The expression of Foxa1 was significantly higher in women than men ($P = 0.041$, $df = 36$, $t = 2.12$). In addition, the expression of this gene was significantly higher in people under the age of 45 years than people above it ($P = 0.010$, $df = 36$, $t = 2.71$). But about Foxa2 gene, no significantly results were seen.

Conclusion: Foxa1 gene expression in women's stomach is higher than men's; besides, the expression of this gene in the stomach is decreased by age.

Keywords: Sexual dimorphism, Gene expression, Sex hormones, Foxa2, Foxa1

Citation: Mohammadi Z, Mohamadynejad P, Moghanibashi M. **Comparing the Expression of Foxa1 and Foxa2 Genes in the Stomach in Men and Women .** J Isfahan Med Sch 2015; 33(351): 1564-73

1- MSc Student, Department of Genetics, School of Basic Sciences, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran
2- Assistant Professor, Department of Biology, School of Basic Sciences, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran
3- Assistant Professor, Department of Genetics, School of Medicine, Kazerun Branch, Islamic Azad University, Kazerun, Iran
Corresponding Author: Mehdi Moghanibashi PhD, Email: mehdimoghani@yahoo.com