J TOLOO E BEHDASHT, School of Public Health, Yazd Shahid Sadoughi Univ Med Sci

ORIGINAL ARTICLE

Received: 2020/06/01 *Accepted:2020/10/04*

Evaluation of GNMT Gene Expression in Prostate Cancer Tissues using Real-Time PCR

Niloofar Dehghani (M.Sc.)[1], Masoud Salehipour(Ph.D.)[2], Babak Javanmard(M.D.)[3]

1.M.Sc., Department of Biology, Faculty of Biological Sciences, Parand Branch, Islamic Azad University, Parand, Iran.
2.Corresponding Author: P.hD., Department of Biology, Faculty of Biological Sciences, Parand Branch, Islamic Azad University, Parand, Iran. Email: m.salehypur@gmail.com Tel:09121989556
3.Specialist in Kidney and Urology and Kidney Transplant Fellow, Department of Urology, Shohada e Tajrish Hospital, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

Abstract

Introduction: Prostate cancer is the second leading cause of cancer-related death in men. In the present study, the expression level of glycine N-methyl transferase gene (GNMT) was investigated in prostate cancer tissue. The GNMT enzyme is encoded by the GNMT gene. Increased GNMT gene expression increases the conversion of glycine to sarcosine and results in the elevated levels of sarcosine in blood and urine.
Methods: The expression level of GNMT gene in tissue samples of patients with prostate cancer was compared with those with benign prostatic hyperplasia using Real-Time PCR technique.
Results: The GNMT gene expression level increased significantly in prostate cancer patients compared with those with benign prostatic hyperplasia (p-value <0.001). In addition, the expression level of GNMT gene was stage-dependent and significant increases were observed in all stages of prostate cancer compared with those with benign prostatic hyperplasia (p-value <0.001).
Conclusion: The concentration of sarcosine is controlled by GNMT and it seems that increasing the expression level of GNMT gene increases the level of sarcosine concentration. Thus, it appears that increased levels of GNMT expression occur in the early stages of prostate cancer. Therefore, periodic measurement of GNMT expression levels can detect prostate cancer before it forms a cancer cell and invades other tissues.

Keywords: Prostate cancer, Glycine N-methyl transferase, Real-Time PCR, Sarcosine
Conflict of interest: The authors declared that there is no conflict of interests.

[DOI: 10.18502/tbj.v19i5.5175]
Downloaded from tbj.ssu.ac.ir at 21:23 IRST on Wednesday March 17th 2021

This Paper Should be Cited as:
Author: Niloofar Dehghani, Masoud Salehipour, Babak Javanmard. Evaluation of GNMT Gene Expression in Prostate Cancer Tissues……Tolooebehdasht Journal.2021;19(5):44-54.[Persian]

[DOI: 10.18502/tbj.v19i5.5175]

Downloaded from tbj.ssu.ac.ir at 21:23 IRST on Wednesday March 17th 2021

طلوع بهداشت

دو ماهنامه علمی پژوهشی
دانشکده بهداشت یزد
سال نوزدهم
شماره پنجم
آذر و دی ۱۳۹۹
شماره مسلسل: ۸۳

تاریخ وصول: ۱۳۹۹/۰۳/۱۲
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۷/۱۳

بررسی بیان ژن Glycine N-Methyl Transferase در بافت سرطان پروستات با استفاده از روش Real-Time PCR

نویسندگان: نیلوفر دهقانی[۱]، مسعود صالحی پور[۲]، بابک جوانمرد[۳]

۱. کارشناسی ارشد ژنتیک، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد پرند، پرند، ایران.

۲. نویسنده مسئول: دکترای تخصصی بیوشیمی بالینی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد پرند، پرند، ایران .تلفن تماس: ۰۹۱۲۱۹۸۹۵۵۶ Email: m.salehypur@gmail.com

۳. متخصص جراحی کلیه و مجاری ادراری و فلوشیپ پیوند کلیه، گروه اورولوژی، بیمارستان شهدای تجریش، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران.

چکیده

مقدمه: سرطان پروستات دومین دلیل اصلی مرگ و میر مرتبط با سرطان در مردان به شمار می رود. با توجه به گزارشاتی که اخیراً ژن مربوط به آنزیم گلایسین N-متیل ترانسفراز (Glycine N-Methyl Transferase) را در دسته ی ژن های حساس به تومور قرار داده اند، در مطالعه حاضر به بررسی سطح بیان ژن مربوط به آنزیم در بافت سرطان پروستات افراد مبتلا به سرطان پروستات پرداخته شده است. آنزیم GNMT توسط ژن GNMT کد می شود و در متابولیسم متیونین و گلوکونئوژنز نقش دارد. افزایش بیان ژن GNMT سبب افزایش تبدیل گلایسین به سارکوزین و افزایش سطح سارکوزین در خون و ادرار می شود.

روش بررسی: بدین منظور سطح بیان ژن GNMT در نمونه های بافت بیماران مبتلا به سرطان پروستات در مقایسه با افراد دارای هایپرپلازی خوش خیم پروستات با استفاده از تکنیک Real-Time PCR ارزیابی شد.

یافته ها: سطح بیان ژن GNMT در بیماران سرطان پروستاتی در مقایسه با افراد دارای بزرگی خوش خیم پروستات افزایش معنی دار نشان داد ($p<۰/۰۰۱$). همچنین سطح بیان ژن GNMT وابسته به میزان پیشرفت سرطان بود و در همه مراحل مختلف سرطان پروستات در مقایسه با افراد دارای بزرگی خوش خیم پروستات افزایش معنی داری مشاهده شد ($p<۰/۰۰۱$).

نتیجه گیری: سطح غلظت سارکوزین توسط GNMT کنترل شده و به نظر می رسد افزایش سطح بیان ژن GNMT موجب افزایش سطح غلظت سارکوزین می گردد. به نظر می رسد که افزایش سطح بیان GNMT در مراحل اولیه بیماری سرطان پروستات اتفاق می افتد. بنابراین با اندازه گیری دوره ایی سطح بیان GNMT شاید بتوان پیش از تشکیل سلول سرطانی و تهاجم آن به بافت های دیگر، سرطان پروستات را تشخیص داد.

واژه های کلیدی: سرطان پروستات، گلایسین ان-متیل ترانسفراز، Real-Time PCR، سارکوزین

[DOI: 10.18502/tbj.v19i5.5175]

Downloaded from tbj.ssu.ac.ir at 21:23 IRST on Wednesday March 17th 2021

مقدمه

سرطان پروستات دومین عامل اصلی مرگ و میر مرتبط با سرطان در مردان به شمار می رود (۱). آمار نشان می دهد تنها در کشور استرالیا ۱۲۰۰۰۰ مورد سرطان پروستات وجود داشته و در هر سال ۲۰۰۰۰ مورد جدید شناسایی می شود که تقریبا ۳۳۰۰ نفر از آن ها می میرند، یعنی در هر ۴ دقیقه یک مرگ ناشی از سرطان پروستات در جهان ثبت می گردد (۲). این سرطان تا بروز علائم بالینی رشد آهسته ایی داشته ولی گاهی اوقات سلول های سرطانی سریعا رشد کرده و به بافت های دیگر متاستاز می دهند (۳).آنتی ژن مختص پروستات (Prostate Specific Antigen) مهم ترین بیومارکر آزمایشگاهی در تشخیص این بیماری می باشد. PSA یک سرین پروتئاز ۳۳ کیلودالتونی می باشد که توسط سلول های اپی تلیالی پروستات سنتز و به داخل مایع منی ترشح می شود. تخریب لایه ی سلول های بازال در سرطان پروستات موجب نشت PSA به گردش خون و افزایش سطح سرمی آن می گردد (۴). تست PSA ریسک نتایج مثبت کاذب بالایی دارد (۵) و سطوح آن تحت تاثیر عوامل مختلفی هم چون پروستاتیت، بزرگی خوش خیم پروستات (Benign Prostatic Hyperplasia) و تغییرات سبک زندگی قرار می گیرد (۶)، از این رو حساسیت و ویژگی پایینی در تشخیص این بیماری دارد (۷). هم چنین تست PSA منجر به بیوپسی (نمونه برداری از بافت) غیرضروری، تشخیص بیش از حد و در نتیجه درمان بیش از حد می گردد. بیوپسی یک روش تهاجمی است که با عوارض قابل توجهی همراه است. از این رو باید رویکردهای تشخیصی بسیار دقیق غیر تهاجمی یا کمتر تهاجمی توسعه یابد تا از بیوپسی غیر ضروری پروستات و تشخیص بیش از حد اجتناب شود (۸).

با توجه به اشکالات آزمایش PSA، تلاش های بسیاری برای دستیابی به ابزارهای جایگزین غربالگری برای سرطان پروستات صورت گرفته است تا بتواند مابین افراد سالم، افراد دارای بزرگی خوش خیم پروستات و افراد مبتلا به سرطان پروستات تفکیک قائل شود (۹).

آنزیم گلایسین N–متیل ترانسفراز می‌تواند به عنوان یک تومور مارکر جدید جهت تشخیص پیشرفت بدخیم سرطان پروستات به کار رود (۱۰). سنتز آنزیم GNMT به وسیله همان ژن، تحت عنوان GNMT، کنترل می‌شود. اخیراً گزارش شده که ژن GNMT بر روی بازوی کوتاه کروموزوم شماره ۶ قرار داشته و به عنوان ژن مستعد تومور عمل می‌کند (۱۱). پروتئین کد گذاری شده توسط این ژن یک آنزیم است که تبدیل S–آدنوزیل متیونین همراه با گلایسین را به S آدنوزیل هموسیستئین و سارکوزین کاتالیز می کند (۱۲). افزایش بیان ژن GNMT سبب افزایش تبدیل گلایسین به سارکوزین و افزایش حضور سارکوزین در خون و ادرار می شود.

آنزیم گلایسین N–متیل ترانسفراز یک پروتئین با عملکردهای مختلف است. GNMT علاوه بر کاتالیز تولید سارکوزین در مسیر متابولیسم ترکیبات یک کربنه ،در سم زدایی از مواد سرطانزای محیطی (مانند بنزو پیرن (Benzo[a]pyrene)، آفلاتوکسین B1 (Aflatoxin B1) و آریستوکولیک اسید (Aristocholic acid)) نقش دارد. همچنین شواهد بسیاری وجود دارد که به نقش نقص GNMT در سرطان زایی کبد اشاره دارد (۱۳).

[DOI: 10.18502/tbj.v19i5.5175]

Downloaded from tbj.ssu.ac.ir at 21:23 IRST on Wednesday March 17th 2021

GNMT یک آنزیم حیاتی در متابولیسم ترکیبات یک کربنه می باشد که در تنظیم واکنش های متیلاسیون و متیلاسیون مجدد (Remethylation) نقش دارد.

تجزیه و تحلیل متابولومیکس نشان می دهد که هایپرمتیلاسیون پیوسته (pan-hypermethylation) در GNMT موش ها منجر به کمبود متابولیت های حد واسط نیکوتین آمید می گردد (۱۴).

تست های آزمایشگاهی نشان می دهد که یکی از پیامدهای مهار GNMT، افزایش در متیلاسیون ژنوم است که توسط افزایش سطح آدنوزیل ال-متیونین تسهیل می شود (۱۵).

بنابراین با توجه به شیوع گسترده سرطان پروستات، پایین بودن ویژگی و حساسیت PSA به عنوان مهم ترین بیومارکر آزمایشگاهی در تشخیص این بیماری نیاز به معرفی بیومارکرهای جدید و کارآ احساس می شود. در این مطالعه بیان ژن GNMT در بیماران با سرطان پروستات در مقایسه با افراد دارای بزرگی خوش خیم با استفاده از تکنیک Real-Time PCR جهت راه اندازی روشی مناسب، غیر تهاجمی و سریع برای شناسایی به موقع بیماری و هموارتر کردن مسیرهای درمانی توسط پزشک مورد بررسی قرار گرفت.

روش بررسی

تعداد ۶۳ نمونه بافت پروستات (۳۰ نمونه BPH به عنوان نمونه شاهد و ۳۳ نمونه PCa به عنوان نمونه) جهت بررسی بیان ژن GNMT از بیماران جراحی شده مراجعه کننده به بیمارستان شهدای تجریش پس از تایید توسط پزشک پاتولوژیست جمع آوری شد. محدوده سنی در افراد دارای بزرگی خوش خیم پروستات بین ۴۸ تا ۸۳ سال و در افراد دارای سرطان پروستات بین ۵۳ تا ۸۲ سال و محدوده PSA در این افراد بین ۱ تا ۱۹/۸ نانوگرم بر میلی لیتر متغیر بوده و هیچ درمانی دریافت نکرده بودند.

نمونه های بافت پس از عمل جراحی درون لوله های فالکن استریل (لوله های ۱۵ میلی لیتری) قرار گرفت. سپس نمونه ها از بیمارستان شهدای تجریش به فریزر ۲۰- درجه سانتی گراد دانشگاه آزاد پرند منتقل شدند تا تعداد نمونه ها به حد نصاب برسد.

سپس به منظور استخراج RNA، ابتدا نمونه های بافت پروستات با استفاده از PBS (PBS Tablet-Cat no.P5368-Sigma Aldrich-USA) شستشو داده شد، سپس در زیر هود لامینار کلاس II توسط تیغ بیستوری به قطعات بسیار ریز برش خورد. سپس نمونه های افراد مبتلا به سرطان پروستات بسته به مرحله پیشرفت بیماری در ۴ گروه طبقه بندی شدند.

اطلاعات توالی و بیانی ژن GNMT از پایگاه اطلاعاتی Gene Bank به دست آمد. کل مقدار RNA از نمونه های بافت افراد دارای سرطان پروستات و افراد دارای بزرگی خوش خیم پروستات به روش ترایزول (Centrifuge-Eppendorf-UK & Ethanol-Cat no. 818760- Merk- Ger) استخراج شد. غلظت RNA استخراج شده توسط اسپکتروفتومتر (۲۶۰/۲۸۰) (CCEIL 9000 Series-Cambrige-UK) مورد ارزیابی قرار گرفت.

پرایمرهای اختصاصی ژن:

GNMT(F=AGTGTGACGAGTGTGGATG)

(R=TGAAGTAGCAGGGAATGTA) و ژن خانگی

[DOI: 10.18502/tbj.v19i5.5175]

Downloaded from tbj.ssu.ac.ir at 21:23 IRST on Wednesday March 17th 2021

β-Actin (F=ATTGGCAATGAGCGGTTCC) (R= CAGCACTGTGTTGGCATAC) به کمک نرم افزار Allel ID 6 طراحی شدند و سپس با استفاده از NCBI، پرایمرها Blast شدند.

یک میکروگرم RNA استخراج شده با استفاده از کیت سنتز cDNA (cDNA Synthesis Kit-Cat no. 205310-Qiagen-USA) به cDNA تبدیل شد.

سپس واکنش Real-Time PCR (Rotorgene 6000-Corbet Research-Ustralia) برای تعیین میزان cDNA انجام گرفت. در این مطالعه بیان ژن GNMT به صورت کمی با بکارگیری سایبرگیرین و β-Actin (به عنوان نرمالایزر) مورد ارزیابی قرار گرفت.

به منظور انجام واکنش Real-Time PCR از مخلوط کیت آماده PCR Master mix (Cat no. PA012-SuperArray-USA) استفاده شد.

پس از آماده سازی مخلوط واکنش، نمونه ها در دستگاه Rotorgene 6000 ساخت کمپانی Corbette (استرالیا) قرار داده شد و واکنش صورت پذیرفت.

برای بررسی میزان تکثیر محصول PCR، به نمونه ها نور سبز با طول موج ۴۷۰nm تابیده شد و سیگنال فلورسانس در طول موج ۵۱۰ nm اندازه گیری شد.

ردیابی سیگنال های فلورسانس در دمای ۷۲ °C انجام شد که این کار میزان دخالت محصولات ناشی از ایجاد دایمر پرایمر در نتیجه واکنش را به حداقل می رساند.

در نهایت به منظور اطمینان از صحت و اختصاصی بودن واکنش، در انتهای واکنش منحنی ذوب محصولات رسم شده و وجود یک باند اختصاصی در واکنش مورد بررسی قرار گرفت. اطلاعات کمی بیان ژن مورد نظر به صورت copy/ml به دست آمد.

با استفاده از رقت سازی های پی در پی از cDNA تولید شده، منحنی استاندارد رسم شد. سپس بر اساس آن، بازدهی واکنش و بیان ژن ها تعیین شد و نتایج حاصله مورد بررسی قرار گرفت و تغییرات بیانی مقایسه شد.

یافته ها

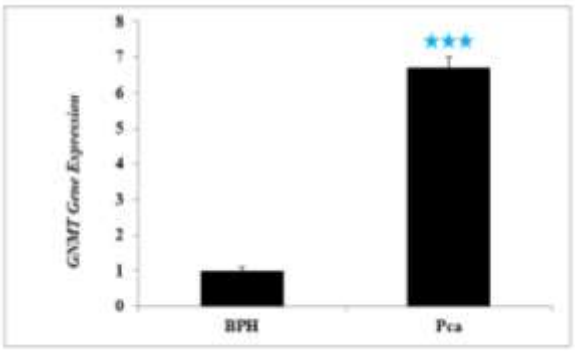
در مطالعه ی حاضر، میزان بیان ژن GNMT و ارتباط آن با مرحله بالینی سرطان پروستات به وسیله ی تکنیک Real-Time PCR بررسی شد. تفاوت میان گروه ها توسط تست ANOVA به روش یک طرفه (one-way) انجام شد و سطح معنی داری ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

سپس درجه بندی گروه های ۱۰ تایی از نمونه های سرطانی صورت گرفت. پس از به دست آمدن میانگین و محاسبه انحراف معیار (standard deviation) برای هر گروه به صورت جداگانه، به وسیله Sigma plot نمودار رسم شد. نتایج این مطالعه نشان داد بیان ژن GNMT در افراد دارای سرطان پروستات نسبت به افراد دارای بزرگی خوش خیم پروستات، افزایش معنی دار داشت ($p <$ ۰/۰۰۱) (شکل ۱).

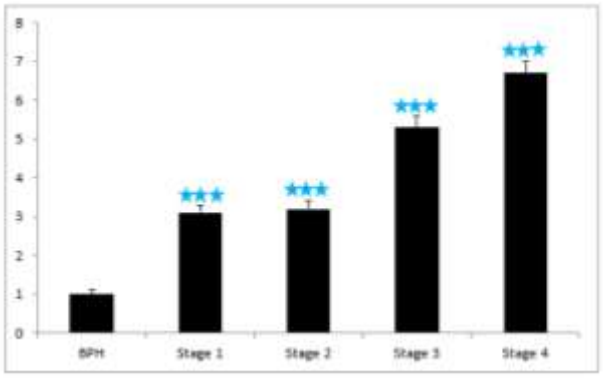
نتایج این پروژه هم چنین نشان داد، بیان ژن GNMT با مراحل مختلف سرطان پروستات ارتباط دارد و بیان در همه مراحل مختلف سرطان پروستات در مقایسه با افراد دارای بزرگی خوش خیم پروستات، بطور معنی دار بالاتر بود ($p <$ ۰/۰۰۱) (شکل ۲).

[DOI: 10.18502/tbj.v19i5.5175]

Downloaded from tbj.ssu.ac.ir at 21:23 IRST on Wednesday March 17th 2021



شکل ۱: سطح بیان ژن GNMT در سلول های بافت سرطان پروستات در مقایسه با BPH.
(سطوح mRNA توسط روش سایبر گرین آنالیز شده اند. نتایج نسبت به بیان ژن β-actin نرمالایز شده اند .)



شکل ۲: سطح بیان ژن GNMT در مراحل مختلف سرطان پروستات در مقایسه با BPH.
(سطوح mRNA توسط روش سایبر گرین آنالیز شده اند. نتایج نسبت به بیان ژن β-actin نرمالایز شده اند.)

بحث و نتیجه گیری

سرطان پروستات دومین دلیل مرگ و میر مرتبط با سرطان در مردان و رایج‌ترین بدخیمی غیر جلدی (Non-cutaneous Malignancy) مربوط به مردان در دنیای غرب است (۹). تشخیص زودهنگام سرطان پروستات بسیار مهم است، زیرا هرچه سرطان زودتر تشخیص داده شود شانس درمان قطعی آن افزایش می یابد (۱۶). هدف از این کار این است که سرطان زمانی تشخیص داده شود که تومور به قدری کوچک باشد که بتوان آن را با عمل جراحی برداشت. متأسفانه اکثر سرطان ها علامتی ندارند و زمانی علامت دار می شوند که تومور به قدری بزرگ شده که نمی توان آن را با عمل جراحی برداشت یا بافت های سرطانی به بافت های دیگر متاستاز داده اند (۱۷). بر اساس این واقعیت، علاقه زیادی به کشف مارکرهای جدید زیستی، از جمله آمینواسیدها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک وجود دارد. مهم ترین مارکر سرطان پروستات PSA است که به طور معمول مورد استفاده قرار می گیرد (۱۶). تشخیص سرطان پروستات به

[DOI: 10.18502/tbj.v19i5.5175]
Downloaded from tbj.ssu.ac.ir at 21:23 IRST on Wednesday March 17th 2021

وسیله ی آنتی ژن مختص پروستات مستعد خطا است و نمی تواند بزرگی خوش خیم پروستات را از بیماری بدخیم تشخیص دهد (۱۸). بیومارکر PSA برای سرطان پروستات دارای حساسیت و ویژگی ضعیفی است و اغلب منجر به ایجاد نتایج مثبت و منفی کاذب می شود (۱۹). در حال حاضر، آزمایشی برای تشخیص مراحل اولیه سرطان پروستات وجود ندارد. این واقعیت باعث شد تا در این مطالعه به دنبال یافتن مارکرحساس به مراحل اولیه سرطان پروستات باشیم، پتانسیلی که به آنزیم گلایسین N–متیل ترانسفراز (GNMT) نسبت داده می شود (۱۶). طبق مطالعات جدید GNMT می‌تواند به عنوان یک تومور مارکر جدید جهت تشخیص پیشرفت بدخیم سرطان پروستات بکار رود (۱۰). در مطالعه حاضر، بیان ژن GNMT در افراد دارای سرطان پروستات نسبت به افراد دارای بزرگی خوش خیم پروستات، افزایش معنی دار داشت. نتایج پروژه حاضر همچنین نشان می دهد بیان ژن GNMT با مراحل مختلف سرطان پروستات ارتباط داشته و بیان آن در مراحل مختلف سرطان پروستات در مقایسه با افراد دارای بزرگی خوش خیم پروستات، بطور معنی دار بالاتر است.

در سال ۲۰۰۷ سطح بیان ژن GNMT در سرطان پروستات توسط Huang و همکاران با استفاده از رنگ آمیزی ایمونو هیستوشیمی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج رنگ آمیزی، بیان بالای GNMT را در بافت های طبیعی پروستات و بزرگی خوش خیم پروستات نشان داد، درحالیکه بیان GNMT در ۸۲/۲ درصد بافت سرطانی پروستات کاهش یافت (۲۰). نتایج مطالعه حاضر با نتایج مطالعات Huang و همکاران مطابقت نداشت. در مطالعه حاضر، بیان ژن GNMT با تکنیک قدرتمند Real-Time PCR بررسی شد و این نتیجه حاصل شد که بیان ژن GNMT در بیماران با آدنوکارسینوما پروستات به طور معنی دار بیشتر از افراد دارای بزرگی خوش خیم پروستات است. به نظر می رسد علت تفاوت در نتایج به دلیل تفاوت در تکنیک های بکار رفته است، زیرا تکنیک ایمونوهیستوشیمی مستعد خطای زیادی است.

در سال ۲۰۰۹ Sreekumar و همکاران در مطالعه خود نشان دادند نابودی GNMT تهاجم سرطان پروستات را کاهش می دهد. هم چنین تحریک با آندروژن برای ۴۸ ساعت دررده های V CaP و LN CaP سلول های سرطان پروستات به افزایش گام به گام در بیان GNMT و کاهش همراه با آن در سطح SARDH (آنزیمی که گلایسین را از سارکوزین سنتز می کند) منجر شد. از این مطالعه نتیجه گیری شد که GNMT، SARDH و DMGDH و تمام آنزیم هایی که سطح سارکوزین را تنظیم می کنند، می توانند به عنوان یک هدف بالقوه برای تعدیل کردن تهاجم سرطان پروستات بکار روند. این اطلاعات نشان می دهد که مهار کردن GNMT و DMGDH باعث کاهش تهاجم سلولی به صورت *in vitro* می شود، درحالیکه مهار کردن SARDH باعث افزایش سطح سارکوزین و افزایش تهاجم سلولی به صورت *in vitro* می شود. (۲۱). نتایج مطالعه حاضر با نتایج مطالعات Sreekumar و همکاران مطابقت داشت و افزایش بیان ژن GNMT با پیشرفت سرطان پروستات رابطه مستقیم داشت.

در مطالعه دیگری در سال ۲۰۱۱ Song و همکاران اظهار داشتند که گلایسین N–متیل ترنسفراز در متابولیسم متیونین و هم چنین در گلوکونئوژنز نقش دارد. اخیرا گزارش شده که ژن

[DOI: 10.18502/tbj.v19i5.5175]

Downloaded from tbj.ssu.ac.ir at 21:23 IRST on Wednesday March 17th 2021

GNMT به عنوان یک ژن مستعد تومور عمل می کند. با این حال عملکرد ویژه GNMT در سرطان زایی و پیشرفت بدخیمی، اندکی شناخته شده است. به منظور درک بهتری از عملکرد GNMT در سرطان پروستات، از siRNA برای بررسی اثرات ناک اوت GNMT بر تکثیر و چرخه سلولی استفاده شد. همچنین بیان ژن GNMT با روش ایمونو هیستوشیمی مورد بررسی قرار گرفت. ناک اوت GNMT منجر به مهار تکثیر، القا توقف چرخه سلولی در G1 و هم چنین القای آپاپتوز در رده های سلول های سرطان پروستات شد. علاوه بر این، بیان بالای GNMT با نمره گلیسون بالاتر و مرحله تومور بالاتر همبستگی داشت. GNMT می تواند نقش مهمی در تسریع رشد سلول سرطان پروستات از طریق تنظیم آپاپتوز داشته باشد و به پیشرفت سرطان پروستات کمک کند. تغییر بیان یا عملکرد GNMT ممکن است راهبردی برای ایجاد درمان های جدید سرطان پروستات باشد. GNMT می تواند یک مارکر جدید برای پیشرفت بدخیمی و پیش آگهی ضعیف در سرطان پروستات باشد (۱۱). نتایج مطالعات Song و همکاران با نتایج مطالعات حاضر مطابقت داشت و بیان ژن GNMT در بیماران با تشخیص آدنوکارسینوما پروستات بطور معنی دار بالاتر از افراد با بزرگی خوش خیم پروستات بود و بیان بالای GNMT با مرحله تومور بالاتر همبستگی داشت.

درسال ۲۰۱۳ Ianni و همکاران اظهار داشتند آلل T مربوط به SNP (rs9462856) درمنطقه پروموتر ژن GNMT، در بیمارانی که از سرطان پروستات رنج می برند افزایش بیان داشت و بیان بیش از حد آن خطر ابتلا به این بیماری را به طور قابل توجه افزایش می‌دهد (۲۲). نتایج مطالعه حاضر نیز افزایش بیان قابل توجه GNMT را در سلول های آدنوکارسینوما پروستات نشان می دهد.

در سال ۲۰۱۳، Khan و همکاران اظهار داشتند که افزایش بیان ژن GNMT در سلول‌های سرطان پروستات، سطوح سارکوزین را بالا می‌برد اما هیچ تأثیری بر تکثیر سلولی ندارد (۲۳). در مطالعه حاضر نیز افزایش بیان ژن GNMT در بیماران با تشخیص سرطان پروستات در مقایسه با افراد دارای بزرگی خوش خیم پروستات مشاهده شد.

در مطالعه ای در سال ۲۰۱۶ نیز Heger و همکاران اثرات تحریکی تیمار با سارکوزین بر روی موش های Xenografts دارای سرطان پروستات را بررسی نمودند، که در آن تیمار با سارکوزین، باعث القای رشد تومور و به طور معنی دار کاهش وزن موش های تیمار شده شد.

غلظت سارکوزین پس از تیمار به همراه افزایش مقدار SARDH بطور معنی دار افزایش یافت. در هر دو نوع تومور، دی متیل گلایسین و گلایسین N–متیل ترانسفراز تنها کمی تحت تاثیر واقع شد (۲۴). در مطالعه حاضر از نمونه های بافت انسانی به منظور بررسی بیان ژن GNMT استفاده شد. به نظر می رسد تفاوت جزئی در نتایج ناشی از اختلاف در نمونه های بکار رفته می باشد.

نتایج مطالعه حاضر نشان می دهد میزان بیان ژن GNMT درنمونه های بافت بیماران با تشخیص آدنوکارسینوما پروستات به میزان قابل توجهی بالاتر از بیماران دارای بزرگی خوش خیم پروستات است، هم چنین بیان این ژن در مراحل مختلف پیشرفت سرطان پروستات بطور معنی داری بالاتر از افراد دارای بزرگی خوش خیم پروستات بود. احتمالاً ژن GNMT یک ژن

[DOI: 10.18502/tbj.v19i5.5175]

Downloaded from tbj.ssu.ac.ir at 21:23 IRST on Wednesday March 17th 2021

مستعد تومور طی روند ایجاد و گسترش سرطان باشد و این چنین نتیجه گیری می شود که افزایش بیان ژن GNMT سبب افزایش سنتز اسید آمینه غیر پروتئینی سارکوزین از اسید آمینه گلایسین در بافت سرطان پروستات می شود.

به نظر می رسد که چرخه کولین-گلایسین در سلول های سرطانی بیشتر بطور عکس حرکت کرده تا در نهایت فسفوکولین که یک جزء مهم سنتز غشا می باشد ساخته شود، زیرا سنتز غشا جهت تکثیر سلول های سرطانی ضروری است. با این حال تحقیقات بیشتری در خصوص GNMT لازم است تا نتیجه‌گیری قطعی در خصوص اثربخشی آن به عنوان بیومارکر سرطان پروستات صورت گیرد. برای مطالعات بعدی پیشنهاد می گردد متیلاسیون ژن GNMT در بیماران مبتلا به سرطان پروستات در مقایسه با افراد با بزرگی خوش خیم پروستات مورد بررسی بیشتر قرار گیرد. همچنین سطوح سارکوزین و فسفوکولین در نمونه های بیولوژیکی سرطان های مختلف توسط تکنیک های LC-MS، GC-MS و HPLC-MS/MS می تواند اندازه گیری و با یکدیگر مقایسه گردد تا از سارکوزین در آزمایشگاه های پاتولوژی برای افتراق انواع بافت سرطانی از بافت خوش خیم و سالم استفاده شود. به نظر می رسد که آنزیم گلایسین N-متیل ترانسفراز می تواند به عنوان یک هدف بالقوه برای تعدیل کردن تهاجم سرطان پروستات بکار رود و انجام مطالعات مرتبط برای اثبات این موضوع مفید ارزشمند خواهد بود.

تضاد منافع

نویسندگان این مقاله اعلام می دارند که در این مقاله هیچ گونه تضاد منافعی وجود ندارد

تقدیر و تشکر

نویسندگان این مقاله بر خود لازم می‌دانند از کلیه اساتید گرامی و سایر همکارانی که در روند انجام این پژوهش مشارکت داشته‌اند سپاسگزاری نمایند.

References

1- Thorne H, Willems AJ, Niedermayr E, Hoh IM, Li J, Clouston D, Mitchell G, Fox S, Hopper JL, Bolton D. Decreased prostate cancer-specific survival of men with BRCA2 mutations from multiple breast cancer families. Cancer Prevention Research. 2011;4(7):1002–10.

2- Bangma CH, Roemeling ST, Schroder FH. Overdiagnosis and overtreatment of early detected prostate cancer. World Journal of Urology. 2007;25(1):3–9.

3- Cannon L, Bishop DT, Skolnick M, Hunt S, Lyon JL, Smart CR. Genetic epidemiology of prostate cancer in the Utah Mormon genealogy. Journal of Cancer Survivorship. 1982;1(1):47–69.

4- Thompson IM. PSA: a biomarker for disease. A biomarker for clinical trials. How useful is it? The Journal of Nutrition. 2006;136(10):2704.

5- Lin MW, Ho JW, Harrison LC, Dos Remedios CG, Adelstein S. An antibody-based leukocyte capturemicroarray for the diagnosis of systemic lupus erythematosus. PLoS One. 2013;8(3):58199.

[DOI: 10.18502/tbj.v19i5.5175]

Downloaded from tbj.ssu.ac.ir at 21:23 IRST on Wednesday March 17th 2021

6- Andriole Jr GL. PSA screening and prostate cancer risk reduction. Urologic Oncology. 2012;30(6):936.

7- Hessels D, Schalken JA. Urinary biomarkers for prostate cancer. Asian Journal of Andrology. 2013;15(3):333.

8- Xu L, Mao X, Grey A, Scandura G, Guo T, Burke E, Marzec J, Abdu S, Stankiewicz E, Davies CR, Rajan P. Noninvasive Detection of Clinically Significant Prostate Cancer Using Circulating Tumor Cells. Journal of Urology. 2020;203(1):73–82.

9- Velonas VM, Woo HH, Remedios CG, Assinder SJ. Current Status of Biomarkers for Prostate Cancer. International Journal of Molecular Sciences. 2013;14(6):11034–60.

10- Huang J, Jiang L, Ren P, Zhang L, Tang H. Comprehensive solid-state NMR analysis reveals the effects of n-methylation on the molecular dynamics of glycine. Journal of Physical Chemistry B. 2011;116(1):136–46.

11- Song YH, Shiota M, Kuroiwa K, Naito S, Oda Y. The important role of glycine N-methyltransferase in the carcinogenesis and progression of prostate cancer. Modern Pathology. 2011;24(9):1272.

12- Chen YM, Shin JY, Tzeng SJ, Shin LS, Chen YJ, Lui WY, Chen PH. Characterization of glycine N-methyltransferase-gene expression in Human hepatocellular carcinoma. International Journal of Cancer. 1998;75(5):787–93.

13- Chen M, Yang MH, Chang MM, Tyan YC, Chen YM. Tumor suppressor gene glycine N-methyltransferase and its potential in liver disorders and hepatocellular carcinoma. Toxicology and Applied Pharmacology. 2019;378:114607.

14- Eudy BJ, McDermott CE, Liu X, da Silva RP. Targeted and untargeted metabolomics provide insight into the consequences of glycine-N-methyltransferase deficiency including the novel finding of defective immune function. Physiological Reports. 2020;8(18):14576.

15- Borowa-Mazgaj B, de Conti A, Tryndyak V, Steward CR, Jimenez L, Melnyk S, Seneshaw M, Mirshahi F, Rusyn I, Beland FA, Sanyal AJ. Gene expression and DNA methylation alterations in the glycine N-methyltransferase gene in diet-induced nonalcoholic fatty liver disease-associated carcinogenesis. Toxicological Sciences. 2019;170(2):273–82.

[DOI: 10.18502/tbj.v19i5.5175]
Downloaded from tbj.ssu.ac.ir at 21:23 IRST on Wednesday March 17th 2021

16- Cernei N, Heger Z, Gumulec J, Zitka O, Masarik M, Babula P, Eckschlager T, Stiborova M, Kizek R, Adam V. Sarcosine as a Potential Prostate Cancer Biomarker. International Journal of Molecular Sciences. 2013; 14(7):13893–908.

17- Burtis CA, Rifai N, Ashwood ER, Bruns DE. Tietz-Fundamentos de Clínica Química. 6th edition. São 515 Paulo: Elsevier; 2008.

18- Bohm L, Serafin AM, Fernandez P, van der Watt G, Bouic PJ, Harvey J. Plasma sarcosine does not distinguish early and advanced stages of prostate cancer. South African Medical Journal. 2012;102(8):677–9.

19- Jiang Y, Cheng X, Wang C, Ma Y. Quantitative determination of sarcosine and related compounds in urinary samples by liquid chromatography with tandem mass spectrometry. Analytical Chemistry. 2010;82(21):9022–7.

20- Huang YC, Lee CM, Chen M, Chung MY, Chang YH, Huang WJ, Ho DM, Pan CC, Wu TT, Yang S, Lin MW. Haplotypes, loss of heterozygosity, and expression levels of glycine *N*-methyltransferase in prostate cancer. Clinical Cancer Research. 2007;13(5):1412–20.

21- Sreekumar A, Poisson LM, Rajendiran TM, Khan AP, Cao Q, Yu J, Laxman B, Mehra R, Lonigro RJ, Li Y, Nyati MK. Metabolomic profiles delineate potential role for sarcosine in prostate cancer progression. Nature. 2009;457(7231):910.

22- Ianni M, Porcellini E, Carbone I, Potenzoni M, Pieri AM, Pastizzaro CD. Genetic factors regulating inflammation and DNA methylation associated with prostate cancer. Prostate Cancer and Prostatic Diseases. 2013;16(1):56–61.

23- Khan AP, Rajendiran TM, Ateeq B, Asangani IA, Athanikar JN, Yocum AK, Mehra R, Siddiqui J, Palapattu G, Wei JT, Michailidis G. The role of sarcosine metabolism in prostate cancer progression. Neoplasia. 2013;15(5):491.

24- Heger Z, Rodrigo MA, Michalek P, Polanska H, Masarik M, Vit V, Plevova M, Pacik D, Eckschlager T, Stiborova M, Adam V. Sarcosine up-regulates expression of genes involved in cell cycle progression of metastatic models of prostate cancer. PLoS One. 2016;11(11):0165830.