

Association between the FAS rs1800682 Polymorphism and Thyroid Cancer Susceptibility

N. Pouladi (PhD)^{*1} , N. Javadi (MSc)¹ , S. Didevar Tabrizi (MSc)¹ ,
M. A. Hosseinpour Feizi (PhD)² , S. Moniri Javad Hesari (PhD)² 

1.Department of Cellular and Molecular Biology, Faculty of Science, Azarbaijan Shahid Madani University, Tabriz, I.R.Iran.

2.Department of Animal Biology, Faculty of Natural Science, Tabriz University, Tabriz, I.R.Iran.

***Corresponding Author: N. Pouladi (PhD)**

Address: Department of Cellular and Molecular Biology, Faculty of Science, Azarbaijan Shahid Madani University, Tabriz, I.R.Iran.

Tel: +98 (41) 31452103. **E-mail:** sma52@gmail.com

Article Type ABSTRACT

Research Paper

Background and Objective: Thyroid carcinoma is the most frequently diagnosed malignancy of the endocrine system. Considerable attention has been directed toward the investigation of genetic polymorphisms within genes governing apoptotic pathways and their potential contribution to cancer susceptibility. FAS, a cell surface receptor, initiates the apoptotic signaling cascade upon engagement with its cognate ligand, FASL. The present study was designed to evaluate the association between the FAS-670A/G polymorphism (rs1800682) and thyroid cancer susceptibility in the northwestern Iranian population.

Methods: In this case-control study, 115 patients with thyroid cancer (confirmed by pathological examination of thyroid tissue) and 125 control individuals (healthy subjects with no personal or first-degree family history of any cancer) were enrolled. Peripheral blood samples (5 mL) were obtained from all participants. Genomic DNA was isolated using a proteinase K-based extraction protocol, and genotyping of the FAS (rs1800682) polymorphism was performed using polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) assay with the MvaI restriction enzyme.

Findings: The genotype frequencies for AA, AG, and GG among the patient group were 41.74%, 30.43%, and 27.82%, respectively, compared to 43.2%, 33.6%, and 23.2% in the control group. The allelic frequencies for G and A were 43.04% and 56.96% in cases, versus 40% and 60% in controls. No statistically significant differences were observed between the patient and control groups under any of the inheritance models tested.

Conclusion: The results of the present study demonstrated that the FAS-670A/G (rs1800682) polymorphism cannot be considered as a predisposing factor for thyroid cancer in the studied population from the northwestern region of Iran.

Keywords: Polymorphism, Gene, FAS, Cancer, Thyroid, rs1800682.

Received:

Oct 24th 2024

Revised:

Dec 8th 2024

Accepted:

Jul 29th 2025

Cite this article: Pouladi N, Javadi N, Didevar Tabrizi S, Hosseinpour Feizi MA, Moniri Javad Hesari S. Association between the FAS rs1800682 Polymorphism and Thyroid Cancer Susceptibility. *Journal of Babol University of Medical Sciences*. 2026; 28: e57.

بررسی چند شکلی ژنی FAS rs1800682 در استعداد ابتلا به سرطان تیروئید

ناصر پولادی (PhD)^{۱*}، نرمین جوادی (MSc)^۱ ID، سماء دیده‌ور تبریزی (MSc)^۱ ID،
محمد علی حسین پور فیضی (PhD)^۲ ID، سولماز منیری جواد حصاری (PhD)^۲ ID

۱. گروه زیست شناسی سلولی و مولکولی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه شهید مدنی آذربایجان، تبریز، ایران

۲. گروه زیست جانوری، دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

نوع مقاله	چکیده
مقاله پژوهشی	سابقه و هدف: سرطان تیروئید معمول‌ترین بدخیمی غدد درون‌ریز است. مطالعات ژنتیکی بر روی نقش چندشکلی‌های موجود در ژن‌های درگیر مسیرهای آپوپتوزی و خطر استعداد ابتلا به سرطان تمرکز داشته‌اند. FAS یک گیرنده سطح سلولی است که در اثر میان‌کنش با لیگاند خود (FASL) آنباش سیگنال مرگ سلولی را راه‌اندازی می‌کند. هدف از این مطالعه بررسی همراهی چندشکلی ژن FAS-670A/G (rs1800682) با خطر ابتلا به سرطان تیروئید در منطقه شمال غرب ایران می‌باشد. مواد و روش‌ها: در این مطالعه مورد-شاهدی از ۱۱۵ بیمار مبتلا به سرطان تیروئید (تائید بافت سرطانی تیروئید توسط پاتولوژیست) و ۱۲۵ فرد کنترل (افراد سالم بدون سابقه هر گونه سرطان در خود و خویشاوندان درجه اول) انتخاب شدند. پنج میلی‌لیتر نمونه خون محیطی دریافت گردید. استخراج DNA با روش پروتئیناز K انجام شد و ژنوتیپ‌های چندشکلی ژن FAS (rs1800682) با استفاده از تکنیک PCR-RFLP و آنزیم برشی MvaI مشخص شد. یافته‌ها: در این بررسی، فراوانی ژنوتیپی AA، AG و GG در افراد بیمار به ترتیب ۴۱/۷۴٪، ۳۰/۴۳٪ و ۲۷/۸۲٪ و در گروه کنترل به ترتیب ۴۳/۲٪، ۳۳/۶٪ و ۲۳/۲٪ به دست آمد. فراوانی آلی G و A در گروه بیمار به ترتیب ۴۳/۰۴٪ و ۵۶/۹۶٪ و در گروه کنترل به ترتیب ۴۰٪ و ۶۰٪ بود. بر اساس نتایج به دست آمده، تفاوت معنی‌داری بین گروه بیمار و گروه کنترل در مدل‌های مختلف توارثی، مشاهده نشد. نتیجه‌گیری: نتایج مطالعه حاضر نشان داد که چندشکلی ژن FAS-670A/G (rs1800682) را نمی‌توان به عنوان یک عامل مستعد کننده برای ابتلا به سرطان تیروئید در جمعیت مورد مطالعه در منطقه شمال غرب ایران در نظر گرفت. واژه‌های کلیدی: چندشکلی، ژن، FAS، سرطان، تیروئید، rs1800682.

استناد: ناصر پولادی، نرمین جوادی، سماء دیده‌ور تبریزی، محمد علی حسین پور فیضی، سولماز منیری جواد حصاری. بررسی چند شکلی ژنی FAS rs1800682 در استعداد ابتلا به سرطان تیروئید. مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی بابل. ۱۴۰۵؛ ۲۸: ۵۷-۷۱.

مقدمه

سرطان تیروئید، بیماری ناهمگنی است که از غده تیروئید منشأ می‌گیرد و به عنوان شایع‌ترین سرطان غدد درون‌ریز در سراسر جهان مطرح است (۱). توزیع سرطان تیروئید در هر کشور متفاوت می‌باشد. سرطان پاپیلاری تیروئید تقریباً ۸۰٪ موارد را تشکیل می‌دهد. در ۴۰ سال گذشته، افزایش بروز سرطان تیروئید در سطح جهانی وجود داشته است که به طور نامتناسبی زنان را بیشتر تحت تأثیر قرار داده و در برخی کشورها (به عنوان مثال، کره جنوبی) نسبت به سایرین برجسته‌تر بوده است. گیرنده‌های استروژن به طور گسترده در بافت تیروئید نوپلاستی بیان می‌شوند و شواهدی وجود دارد که استروژن ممکن است به سرطان‌زایی تیروئید کمک کند؛ این موضوع نشان‌دهنده اهمیت بالای هورمون‌ها در بروز سرطان تیروئید می‌باشد (۲ و ۳).

مطالعات بسیاری جهت شناسایی عوامل مولکولی دخیل در بیماری‌زایی سرطان تیروئید صورت گرفته است. به عنوان یک عامل اساسی، می‌توان نقش مسیرهای سیگنالینگ، اختلالات مولکولی، سبک‌های زندگی و محیط‌های اقامتی خاص را با بروز و توسعه سرطان تیروئید مرتبط دانست. مرکز همه این مکانیسم‌ها تغییرات ژنتیکی و اپی‌ژنتیکی در این مسیرها، مانند جهش، چندشکلی‌های ژنی و متیلاسیون نابجای ژن است (۴-۶). شواهد نشان می‌دهد که اختلال در مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده (آپوپتوز) نقش مهمی در بیماری‌زایی بیماری‌های خودایمنی و پرولیفراتیو تیروئید دارد (۷). آپوپتوز یک مکانیسم فیزیولوژیک مرگ‌ومیر برنامه‌ریزی شده سلولی وابسته به ژنتیک است که نقش مهمی در تنظیم رشد سلول‌ها، هموستازی و توسعه ارگانیسم‌های چند سلولی بالغ و حذف سلول‌های ناخواسته یا بالقوه خطرناک دارد (۸) و نقص در تنظیم آن منجر به رشد و تکثیر بدون کنترل سلول‌ها و ایجاد تومور خواهد شد (۹). توانایی مقاومت در برابر مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده یکی از نشانه‌های بدخیمی‌هایی است که معمولاً از تغییرات ژنتیکی ژن‌های درگیر در آن، مانند FAS، FASL، TNF، Bcl-2، TP53 و غیره حاصل می‌شود (۱۰ و ۱۱). بنابراین، شناسایی چندشکلی‌های موجود در ژن‌های درگیر در این مسیر از اهمیت بسزایی برخوردار می‌باشد. FAS یک گیرنده سطح سلولی از اعضای مهم خانواده فاکتورهای نکروز تومور (Tumor Necrosis Factor) بوده و از عوامل اولیه برای مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده به شمار می‌رود (۱۲). در اثر میانکشی FAS با لیگاند طبیعی خود (FASL)، مسیر خارج سلولی آپوپتوز راه‌اندازی می‌شود و با فراخوانی مولکولی FADD و تشکیل کمپلکس DISC، موجب فعال شدن کاسپاز ۸- و در نهایت کاسپازهای اجرایی می‌شود (۱۳). ژن FAS دارای چندشکلی رایج در ناحیه پروموتری است که اتصال فاکتورهای رونویسی را تحت تأثیر قرار می‌دهد و موجب کاهش اتصال فاکتور رونویسی به پروموتر می‌شود. چندشکلی FAS-670A/G در ناحیه افزایش‌دهنده ژن و در محل اتصال فاکتور رونویسی STAT1 واقع شده است. اگرچه اثر مستقیم STAT1 بر بیان ژن FAS به‌وضوح روشن نشده است، اما پیشنهاد شده است که آلل G در این جایگاه موجب بهم خوردن تنظیم بیان این ژن می‌گردد. بنابراین، تغییرات توالی در پروموتر ژن FAS روی بیان این ژن اثر گذاشته و موجب عدم تنظیم سیگنال دهی مرگ سلولی شده و به این ترتیب بر حساسیت به سرطان‌های مختلف، از جمله سرطان تیروئید، تأثیر می‌گذارد (۱۴).

علاوه بر این، تحقیقات دیگری در مورد نقش این چندشکلی در احتمال ابتلا به سرطان تیروئید در جمعیت‌های مختلف انجام شده است. به عنوان مثال، مطالعاتی که بر روی جمعیت ترکیه‌ای (۱۵) و جمعیت چینی (۱۶) صورت گرفته، نشان داده‌اند که ارتباط معنی‌داری بین چندشکلی rs1800682 ژن FAS و ابتلا به سرطان پستان، تیروئید و لوسمی میلوئیدی حاد بالغ وجود ندارد. با این حال، در تحقیقاتی که در جمعیت کره‌ای (۱۷) انجام شده، ارتباط معنی‌داری بین چندشکلی‌های rs1800682، rs1571013 و rs1468063 ژن FAS و سرطان پاپیلاری تیروئید گزارش شده است. بنابراین می‌توان انتظار داشت که چندشکلی‌های ژنتیکی در ایجاد سرطان در جمعیت‌های مختلف به دلیل تفاوت‌های ژنتیکی در این جمعیت‌ها، نقشی متفاوت داشته باشند (۱۸). با توجه به اینکه تاکنون مطالعاتی در خصوص ارتباط چندشکلی مذکور با احتمال ابتلا به سرطان تیروئید در شمال غرب ایران مطرح نشده است، هدف این پژوهش بررسی ارتباط پلی‌مورفیسم ناحیه پروموتری ژن FAS-670A/G با خطر ابتلا به تومور تیروئید در جمعیت استان آذربایجان شرقی ایران می‌باشد.

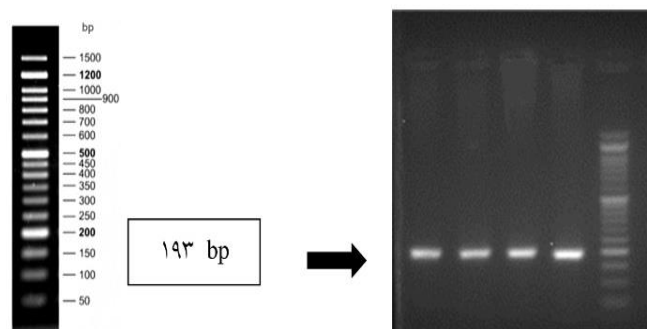
مواد و روش‌ها

این مطالعه مورد-شاهدی در آزمایشگاه رادیوبیولوژی دانشگاه تبریز انجام شد. در این مطالعه، ۱۱۵ فرد مبتلا به تومور تیروئید (۸۶ زن و ۲۹ مرد) که در بیمارستان‌های امام رضا (ع) و نورنجات تبریز تحت عمل جراحی تیروئیدکتومی قرار گرفته بودند، گروه بیماران و ۱۲۵ فرد سالم (۹۳ زن و ۳۲ مرد) بدون سابقه فامیلی سرطان در بستگان درجه اول و درجه دوم، گروه کنترل را تشکیل دادند. در گروه بیماران، افراد مبتلا به تومورهای تیروئیدی که در بیمارستان بستری شده بودند ولی تحت جراحی تیروئیدکتومی قرار نگرفته بودند و افراد دارای مشکلات تیروئید بدون نیاز به جراحی، از مطالعه خارج شدند. مشخصات تمامی این افراد با کسب اجازه و رضایت از ایشان ثبت گردید. مطالعه روی نمونه‌های انسانی مورد استفاده در این پژوهش با کد اخلاق شماره IR.AZARUNIV.REC.1405.017 در دانشگاه شهید مدنی آذربایجان مورد تأیید قرار گرفت.

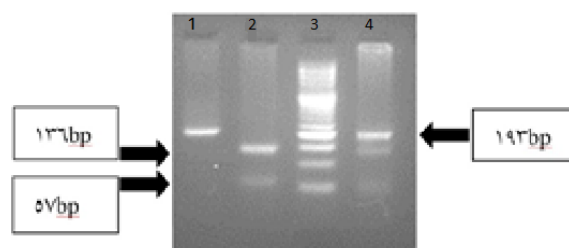
استخراج DNA ژنومی: نمونه‌گیری از خون وریدی انجام گرفت؛ بدین ترتیب که از هر فرد مقدار ۵ سی‌سی خون گرفته شد و در لوله‌های فالتون حاوی EDTA به عنوان ماده ضد انعقاد ریخته شد. سپس لوله‌ها به آرامی تکان داده شدند تا خون و EDTA مخلوط و از تشکیل لخته‌های خونی جلوگیری شود. در ادامه، به روش رسوب‌گذاری با نمک اشباع، استخراج DNA صورت گرفت. در این روش، با استفاده از حذف گلبول‌های قرمز از طریق اضافه کردن لیز بافر به خون و سانتریفوژ کردن آن‌ها و در نهایت هضم با پروتئیناز K (Sialon، ایران)، DNA از گلبول‌های سفید خون استخراج شد. کیفیت و کمیت DNA استخراج شده به ترتیب با استفاده از الکتروفورز ژل آگارز و اسپکتروفتومتری مورد بررسی قرار گرفت.

واکنش زنجیره‌ای پلیمرز و برش آنزیمی: با استفاده از سیستم واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (Polymerase Chain Reaction)، نمونه‌های DNA استخراجی تکثیر شدند. تکثیر قطعات توسط آغازگرهای مستقیم و معکوس (۱۹) به ترتیب با توالی‌های 5'-ATAGCTGGGGCTATGCGATT-3' و 5'-CATTGACTGGGCTGTCCAT-3' در دستگاه ترمال سایکلر (Sensoquest, GmbH, Germany) انجام شد. PCR در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر با استفاده از ۲/۵ میکرولیتر بافر ۱۰X PCR، ۰/۷۶ میکرولیتر منیزیم کلرید ۱۰۰ mM، ۰/۵ میکرولیتر dNTPs (۱۰ mM) (SinaClon، ایران)، ۰/۹ میکرولیتر از هر کدام از آغازگرهای رفت و برگشت (۱۰ پیکومولار)، ۰/۱۸ میکرولیتر Taq polymerase (SinaClon، ایران) معادل یک واحد آنزیم، ۱ میکرولیتر DNA (معادل ۲۰۰ نانوگرم) و مقدار ۱۸/۲۶ میکرولیتر آب مقطر دوبار یونیزه صورت گرفت. شرایط بهینه برای PCR شامل یک سیکل با زمان ۲ دقیقه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد، ۳۵ سیکل شامل ۳۰ ثانیه در دمای ۹۴ درجه، ۳۰ ثانیه در دمای ۶۳ درجه و ۴۵ ثانیه در دمای ۷۲ درجه و در نهایت ۱ سیکل با زمان ۷ دقیقه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد می‌باشد. محصولات PCR جهت اطمینان از اندازه قطعات حاصله بر روی ژل آگارز ۲٪، بارگذاری شدند و در نهایت، ژل مربوطه با استفاده از رنگ آمیزی اتیدیوم بروماید (SinaClon، ایران) و دستگاه شناساگر نور ماوراء بنفش مشاهده و بررسی گردید. تکثیر صحیح قطعه مورد نظر در PCR، محصولی به طول ۱۹۳ جفت باز ایجاد می‌نماید که با استفاده از برش آنزیمی توسط MvaI ژنوتیپ فرد این آنزیم می‌تواند ژن FAS را در جایگاه چندشکلی مربوطه زمانی که آلل G وجود دارد، هضم کرده و دو قطعه به طول‌های ۱۳۶ و ۵۷ جفت باز ایجاد نماید. واکنش هضم آنزیمی در حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر با استفاده از ۱/۲ میکرولیتر بافر ۱۰X اختصاصی آنزیم، ۰/۸۸ میکرولیتر آنزیم MvaI (یک واحد آنزیم)، ۶/۳۶ میکرولیتر محصول PCR و ۱۱/۵۶ میکرولیتر آب دوبار یونیزه صورت گرفت. سپس میکروتیوب‌ها به مدت ۷ ساعت در دمای ۴۰ درجه قرار داده شد.

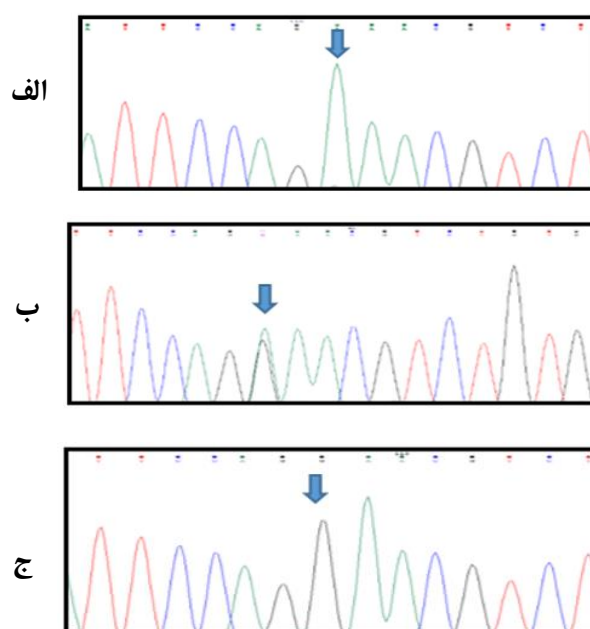
پس از انجام PCR، قطعه‌ای به اندازه ۱۹۳ جفت‌باز بر روی ژل آگارز ۲ درصد مشاهده شد (شکل ۱). برش آنزیمی محصول PCR در صورت حضور آلل G، ایجاد دو قطعه به طول ۱۳۶ و ۵۷ جفت باز نمود، در حالی که حضور آلل A مانع از برش آنزیمی بوده و محصول ۱۹۳ جفت بازی دست نخورده باقی می‌ماند. بر این اساس، پس از برش آنزیمی، در ژنوتیپ AA تنها یک باند در محدوده ۱۹۳ جفت بازی و در ژنوتیپ GG دو باند به طول ۱۳۶ و ۵۷ مشاهده شد. همچنین هر سه باند ۱۹۳، ۱۳۶ و ۵۷ جفت بازی در هتروزیگوت‌های AG روی ژل آگارز آشکار گردید. نتایج حاصل از برش آنزیمی ژنوتیپ‌های مختلف در شکل ۲ نشان داده شده است. از هر الگوی برشی آنزیمی تعداد دو نمونه جهت تعیین توالی ارسال گردید که نتایج مربوطه در شکل ۳ نمایش داده شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود، ژنوتیپ AA یک پیک بزرگ به رنگ سبز، ژنوتیپ GG یک پیک بزرگ به رنگ سیاه و ژنوتیپ هتروزیگوت AG دو پیک به رنگ‌های سبز و سیاه نشان می‌دهد.



شکل ۱. الکتروفورز ژل آگارز ۲٪ برای تعدادی از محصول PCR افراد بیمار و مارکر ۵۰ جفت‌باز. (نقشه مارکر اندازه مولکول در این شکل آورده شده است)



شکل ۲. الکتروفورز ژل آگارز ۲٪ برای محصول هضم آنزیمی. ستون ۱: ژنوتیپ AA، ستون ۲: ژنوتیپ GG، ستون ۳: مارکر ۵۰ جفت‌باز، ستون ۴: ژنوتیپ AG



شکل ۳. نتیجه توالی یابی برای ژنوتیپ‌های AA (الف)، AG (ب)، GG (ج)

جهت تأیید ژنوتیپ‌های به دست آمده از روش PCR-RFLP (Restriction Fragments Length Polymorphism- Polymerase Chain Reaction)، محصولات PCR تعدادی از نمونه‌ها به شرکت پیشگام تهران ارسال گردیدند و نتایج توسط نرم‌افزار Chromas بررسی شدند. تجزیه تحلیل آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۶ انجام گرفت. به منظور بررسی ارتباطات احتمالی بین چندشکلی مورد مطالعه با استعداد ابتلا به سرطان تیروئید و همچنین بین ویژگی‌های کیلینی‌کوپاتولوژیکال، آزمون مربع کای و یا فیشر انجام گرفت. نسبت شانس (odds ratio: OR) نیز توسط رگرسیون دوگانه لجستیک انجام شد. T-Test برای مقایسه بین دو گروه استفاده شد. نرمال بودن توزیع داده‌ها بر اساس آزمون Kolmogorov-Smirnov یا Shapiro-Wilk انجام شد. به منظور ارزیابی همسانی واریانس‌ها نیز، آزمون Leven به کار رفت و $p < 0.05$ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

آنالیز In Silico: تجزیه و تحلیل چندشکلی‌های تک نوکلئوتیدی (Single Nucleotide Polymorphisms) با استفاده از ابزارهای محاسباتی، به عنوان تجزیه و تحلیل In Silico شناخته می‌شود. برای مطالعه چندشکلی‌های تک نوکلئوتیدی غیر مترادف (Non-synonymous Single Nucleotide Polymorphisms)، در مناطق کد کننده و غیر کد کننده، از ابزارهای بیوانفورماتیکی مختلفی استفاده می‌کنیم. به طور خاص، چندشکلی rs1800682 در ژن FAS در یک منطقه غیر کد کننده یافت می‌شود. برای این تحلیل از نرم‌افزارهای آنالیز مانند AliBaba، SpliceAid و HaploReg استفاده شد. از نسخه ۱/۲ وب AliBaba (www.gene-regulation.com) برای تجزیه و تحلیل و حضور جایگاه‌های اتصال فاکتور رونویسی در نواحی پروموتور ژن استفاده شد. از وب سایت SpliceAid (http://193.206.120.249/splicing_tissue.html) برای بررسی آنالیز،

تجزیه و تحلیل و تجسم فرآیند پیرایش که به توالی pre-mRNA متصل می‌شود، استفاده شد و در نهایت، از HaploReg (www.pubs.broadinstitute.org) که یک نرم‌افزار برای بررسی بخش‌های غیر کد کننده ژنوم است و بر SNP‌های تنظیم‌کننده مرتبط با بیماری‌ها تمرکز می‌کند، برای بررسی تمایل اتصال فاکتورهای رونویسی و پروتئین‌ها به چندشکلی rs1800682 ژن FAS استفاده گردید.

یافته ها

توزیع فراوانی ژنوتیپی برای چندشکلی rs1800682 در ژن FAS در دو جمعیت بیماران و افراد سالم، از تعادل هاردی-وینبرگ پیروی می‌کند. این چندشکلی برای ۱۱۵ بیمار مبتلا به سرطان تیروئید با میانگین سنی $32 \pm 10/44$ و ۱۲۵ فرد سالم با میانگین سنی $42 \pm 5/7$ به عنوان گروه شاهد تعیین ژنوتیپ شدند. پس از تعیین ژنوتیپ‌ها، تمامی بیماران و افراد سالم به سه گروه ژنوتیپی AA، GG و AG تقسیم‌بندی شدند که توزیع فراوانی ژنوتایپ‌های متغیر rs1800682 در بیماران مبتلا به سرطان تیروئید و گروه شاهد در جدول ۱ ارائه شده است.

جدول ۱. توزیع فراوانی ژنوتیپی و آلی در نمونه‌های بیمار و کنترل در چند شکلی rs1800682A>G (FAS -670A/G) در مدل‌های مختلف توارثی

Models	Genotypes	p-value	OR	95% CI for OR	
				Lower	Upper
	GG vs AA	0.505	1.241	0.658	2.343
	GA vs AA	0.831	0.937	0.518	1.697
Recessive	GG vs AA+AG	0.411	1.276	0.713	2.284
Dominant	GG+AG vs AA	0.819	1.062	0.636	1.772
Codominant	AG vs AA+GG	0.600	0.865	0.502	0.489
Allelic	G vs A	0.499	1.134	0.788	1.631

در هیچ‌یک از ژنوتیپ‌ها ارتباط معنی‌داری بین توزیع فراوانی ژنوتیپی در گروه کنترل و بیمار دیده نشد. آلل G در چندشکلی FAS-670A>G در ۴۳/۰۴٪ از بیماران و ۴۰٪ از افراد سالم تشخیص داده شد. آلل A نیز در ۵۶/۹۶٪ از بیماران و ۶۰٪ از افراد سالم مشاهده گردید. تفاوت معنی‌داری در فراوانی آلل A و G بین بیماران و گروه کنترل وجود نداشت.

بر اساس تجزیه و تحلیل آماری صورت گرفته با مدل‌های مختلف در این پژوهش، ارتباط معنی‌داری بین فراوانی ژنوتیپ‌های AA، GG و AG و فراوانی آلل G و A ($p=0/05$) برای چندشکلی rs1800682 ژن FAS بین گروه بیمار و گروه کنترل مشاهده نشد. ژنوتیپ AA به‌عنوان شایع‌ترین ژنوتیپ در ۴۱/۷۴٪ (۴۸ نفر) از بیماران و ۴۳/۲٪ (۵۴ نفر) از گروه شاهد دیده شد. ژنوتیپ AG در ۳۰/۴۳٪ (۳۵ نفر) از بیماران و ۳۳/۶٪ (۴۲ نفر) از گروه شاهد به‌دست آمد و ژنوتیپ GG نیز در ۲۷/۸۲٪ (۳۲ نفر) از بیماران و ۲۳/۲٪ (۲۹ نفر) از گروه شاهد مشاهده گردید که کمترین شیوع را در بین افراد داشت. مشخصات آسیب‌شناختی بیماران شامل درجه تومور، سن، اندازه تومور و درگیری گره‌های لنفاوی مورد بررسی قرار گرفت که در جدول ۲ خلاصه شده است. در توضیح همبستگی علایم بالینی و ژنوتیپ، این نکته قابل توجه است که بین اندازه تومور و چندشکلی مورد مطالعه، ارتباط معنی‌دار وجود دارد ($p<0/05$). به‌عبارت دیگر، می‌توان گفت نوع ژنوتیپ در این جایگاه ژنی با اندازه تومور در مبتلایان به سرطان تیروئید همراهی دارد. ($p=0/0077$)

نتایج بررسی با نرم‌افزار AliBaba نشان داد که در حالت حضور آلل وحشی A، تمایل به اتصال فاکتور رونویسی NF-1 و در حالت حضور آلل جهش یافته G، تمایل به اتصال فاکتور رونویسی TEC1 وجود دارد. نتایج حاصل از بررسی آنلاین با کمک نرم افزار بیوانفورماتیک SpliceAid نشان داد که بر اثر تغییر نوکلئوتید A به G پروتئین SRp55 با امتیاز مثبت ۵ به توالی pre-mRNA مربوطه متصل می‌شود. نتایج حاصل از بررسی SNP با نرم‌افزار HaploReg نشان داد که با تغییر آلل وحشی به آلل موتانت، به ترتیب پروتئین‌ها CFOS, GATA2, CEBPB, TBP, POL2, STAT3، قابلیت اتصال پیدا می‌کنند و موتیف‌های فاکتورهای رونویسی Hsf, STAT, ZBRK1 تغییر پیدا می‌کند. نتایج به دست آمده از نرم‌افزار HaploReg در شکل ۴ آورده شده است.

جدول ۲. همبستگی علایم بالینی بیماران مبتلاء به سرطان تیروئید با ژنوتیپ‌های چندشکلی FAS-670A/G

p-value	GG تعداد(درصد)	AG تعداد(درصد)	AA تعداد(درصد)	علایم بالینی بیماران
اندازه تومور (سانتی متر)				
۰/۰۰۷۷	۹(۱۲/۷)	۱۷(۲۳/۹)	۲۱(۲۹/۶)	≤۲/۵
	۱۲(۱۶/۹)	۲(۲/۸)	۱۰(۱۴/۱)	>۲/۵
وضعیت درگیری گره‌های لنفاوی				
۰/۱۸۶۷	۱۲(۱۸/۸)	۸(۱۲/۵)	۱۱(۱۷/۲)	مثبت
	۶(۹/۴)	۱۲(۱۸/۸)	۱۵(۲۳/۴)	منفی
آسیب شناسی				
۰/۶۴۱۵	۱(۱/۳)	۰(۰)	۰(۰)	کارسینومای مدولاری
	۱(۱/۳)	۱(۱/۳)	۱(۱/۳)	کارسینومای سلول هارتل
	۰(۰)	۲(۲/۷)	۲(۲/۷)	کارسینومای فولیکولار
	۲۱(۲۸)	۱۹(۲۵/۳)	۲۷(۳۶)	کارسینومای پاپیلاری
درجه تومور				
۰/۱۳۶۲	۱۴(۱۹/۷)	۲۲(۳۱)	۲۳(۳۲/۴)	۱
	۳(۴/۲)	۰(۰)	۲(۲/۸)	۲
	۴(۵/۶)	۱(۱/۴)	۲(۲/۸)	۳
سن				
۰/۵۶۹۸	۱۶(۱۴/۴)	۱۵(۱۳/۵)	۲۷(۳۴/۳)	>۳۵
	۱۵(۱۳/۵)	۱۸(۱۶/۲)	۲۰(۱۸)	≤۳۵

Query SNP: rs1800682 and variants with $r^2 \geq 0.8$

chr	pos (hg38)	LD (r ²)	LD (D')	variant	Ref	Alt	AFR freq	AMR freq	ASN freq	EUR freq	SiPhy cons	Promoter histone marks	Enhancer histone marks	DNAse	Proteins bound	Motifs changed	NHGRI/EBI GWAS hits	GRASP QTL hits	Selected eQTL hits	GENCODE genes	dbSNP func annot
10	88981858	0.98	0.99	rs7082101	C	A	0.82	0.53	0.44	0.42		GI	7 tissues	OVRY		4 altered motifs			37 hits	ACTA2	intronic
10	88982198	0.98	0.99	rs7069841	T	C	0.82	0.53	0.44	0.42		GI	5 tissues			4 altered motifs			37 hits	ACTA2	intronic
10	88982292	0.98	0.99	rs7082720	C	T	0.82	0.53	0.44	0.42			5 tissues			Isl2			37 hits	ACTA2	intronic
10	88983440	0.98	0.99	rs7910660	G	A	0.82	0.53	0.44	0.42		VAS, GI	7 tissues	14 tissues	PU1, GATA2	HNF1, Pax-1			38 hits	ACTA2	intronic
10	88983584	0.98	0.99	rs7910825	G	A	0.82	0.53	0.44	0.42		VAS	6 tissues	GI		5 altered motifs		4 hits	42 hits	ACTA2	intronic
10	88986603	0.99	1	rs1926201	G	C	0.82	0.53	0.44	0.42		VAS	8 tissues	7 tissues	SIN3AK20, PU1				37 hits	ACTA2	intronic
10	88986776	0.99	1	rs1926200	G	A	0.82	0.53	0.44	0.42		VAS	11 tissues	7 tissues	EGR1, PU1, SIN3AK20	EWSR1-FLI1, Ets, GATA			37 hits	ACTA2	intronic
10	88986903	0.99	1	rs1926199	G	T	0.82	0.53	0.44	0.42		VAS	7 tissues	7 tissues		9 altered motifs			37 hits	ACTA2	intronic
10	88987690	0.99	0.99	rs7914490	A	G	0.80	0.53	0.44	0.43		BLD	9 tissues	BLD, BLD, BLD		4 altered motifs			35 hits	ACTA2	intronic
10	88988869	0.99	1	rs1926197	A	G	0.82	0.53	0.44	0.42		FAT	11 tissues	LNG					38 hits	ACTA2	intronic
10	88990206	1	1	rs1800682	A	G	0.77	0.53	0.44	0.43		22 tissues	8 tissues	37 tissues	6 bound proteins	Hsf, STAT, ZBRK1	1 hit	4 hits	41 hits	ACTA2	intronic
10	88991759	0.84	0.98	rs1324551	C	T	0.82	0.56	0.44	0.46		24 tissues		50 tissues	7 bound proteins	CFOS, GATA2, CEBPB, TBP, POL2, STAT3			45 hits	FAS	intronic
10	88992261	0.85	0.99	rs6586163	A	C	0.82	0.56	0.44	0.46		21 tissues	4 tissues	7 tissues					44 hits	FAS	intronic
10	88992274	0.85	0.99	rs6586164	T	A	0.82	0.56	0.44	0.46		21 tissues	4 tissues	7 tissues		E1F5, PU.1			44 hits	FAS	intronic
10	88992859	0.85	0.99	rs3824729	A	G	0.82	0.56	0.44	0.46		19 tissues	8 tissues	8 tissues		4 altered motifs			40 hits	FAS	intronic
10	88993281	0.85	0.99	rs10887877	A	G	0.82	0.56	0.44	0.46				13 tissues	NFKB, POL24H8	7 altered motifs			44 hits	FAS	intronic
10	88993503	0.85	0.99	rs7097572	T	C	0.82	0.56	0.44	0.46		18 tissues	10 tissues	11 tissues	NFKB, POL2, POL24H8	7 altered motifs		4 hits	44 hits	FAS	intronic
10	88993991	0.85	0.99	rs1926196	T	C	0.82	0.57	0.44	0.46		13 tissues	12 tissues	8 tissues	POL24H8	NF-1, RREB-1		15 hits	45 hits	FAS	intronic
10	88994001	0.85	0.99	rs1926195	G	A	0.82	0.56	0.45	0.46		13 tissues	12 tissues	9 tissues	POL24H8	Cdx, Myc, Pou2f2			44 hits	FAS	intronic
10	88994850	0.82	0.99	rs7897395	T	C	0.82	0.57	0.44	0.47		BLD	5 tissues			10 altered motifs			40 hits	FAS	intronic
10	88995152	0.84	0.99	rs7069061	A	G	0.82	0.56	0.44	0.47		BLD	6 tissues		POL2, TBP	6 altered motifs			39 hits	FAS	intronic
10	88995196	0.84	0.99	rs7072828	T	A	0.82	0.56	0.44	0.47		BLD	6 tissues	BLD	POL2, TBP				40 hits	FAS	intronic
10	88995299	0.85	0.99	rs6586165	T	A	0.82	0.56	0.44	0.46		6 tissues	9 tissues	6 tissues	POL2, TBP	Cdx			44 hits	FAS	intronic
10	88996308	0.85	0.99	rs6586166	C	T	0.83	0.56	0.44	0.46		BLD	6 tissues						40 hits	FAS	intronic
10	88996389	0.85	0.99	rs6586167	T	G	0.83	0.56	0.44	0.46		BLD	6 tissues	BLD, OVRY		BDP1, E2F			44 hits	FAS	intronic

شکل ۴. نتیجه به دست آمده از نرم افزار HaploReg. در اثر تغییر نوکلئوتید A به G در چندشکلی 670A/G- ژن FAS، پروتئین های CFOS، GATA2، CEBPB، TBP، POL2، STAT3 و قادر به اتصال به ناحیه مربوطه می‌شوند.

بحث و نتیجه گیری

مطالعه حاضر ارتباط معنی داری بین ژنوتیپ‌ها و آلل‌های چندشکلی مورد مطالعه و استعداد ابتلا به سرطان تیروئید نشان نداد، اما ارتباط آلل G با اندازه تومور در افراد مبتلا معنی دار به دست آمد. در توافق با این نتایج، مطالعات صورت گرفته در جمعیت ترکیه‌ای (۱۵) و جمعیت چینی (۱۶) نیز ارتباط معنی داری را بین این چندشکلی و استعداد ابتلا به سرطان تیروئید پیدا نکردند. در مقابل، تحقیقاتی که در جمعیت کره‌ای (۱۷) انجام شده، ارتباط بین چندشکلی‌های rs1800682، rs1571013 و rs1468063 با سرطان پاپیلاری تیروئید را نشان داد. با توجه به نتایج حاصل از تحقیقات، به نظر می‌رسد که چندشکلی مذکور در استعداد ابتلا به سرطان تیروئید دخیل نمی‌باشد.

همچنین، نتایج آنالیزهای *Insilico* در مطالعه حاضر تغییرات عمده‌ای را در الگوی اتصال فاکتورهای مختلف رونویسی و پیرایشی را با تغییر آلل وحشی به آلل موتانت نشان می‌دهد. مثلاً پروتئین SRp55 که یکی از رایج ترین فاکتورهای پیرایش است، با تغییر آلل قدرت اتصال پیدا می‌کند و در صورت آسیب DNA، حتی بدون پروتئین p53، می‌تواند افزایش یابد نتایج مطالعات انجام شده نشان می‌دهد که کاهش فعالیت SRp55 سلول‌ها را در برابر آسیب DNA مقاوم‌تر می‌کند. Pecce و همکاران با آزمایش‌های رسوب دهی ایمنی RNA (RNA immunoprecipitation experiments) نشان دادند که جهش هم معنی p.Cys630 در ژن RET باعث ایجاد موتیف جدید پیرایشی برای اتصال پروتئین SRp55 می‌شود که اتصال این پروتئین به موتیف جدید باعث افزایش میزان mRNA کد کننده رسپتور RET می‌شود و باعث پیشرفت سرطان می‌گردد (۲۰). نتایج مطالعه حاضر نیز می‌تواند تاییدی بر داده‌های ذکر شده باشد، به این صورت که تجزیه و تحلیل *in silico* با نرم‌افزار SpliceAid نشان می‌دهد که در چندشکلی rs1800682 ژن FAS پروتئین SRp55 با امتیاز مثبت ۵ به RNA متصل می‌شود.

مطالعات مختلفی در مورد این پلی مورفیسم‌ها و همراهی آن‌ها با انواع سرطان‌ها در نقاط مختلف جهان انجام شده است. به عنوان مثال، در مطالعه‌ای که توسط Tahmasebi Fard در تهران، بر روی چندشکلی‌های FAS-670A/G و چندشکلی‌های دیگر ژن‌های FAS و FASL انجام شد، مشاهده گردید که هر دو چندشکلی همراهی معنی داری با خطر فزاینده سرطان پستان دارند (۲۱). Chen و همکاران گزارش دادند که چندشکلی FAS-670A/G در ایجاد بیماری نقشی ندارد (۲۲). Erdogan و همکارانش در بررسی ارتباط بین چندشکلی FAS-670A/G با سرطان پاپیلاری تیروئید گزارش دادند که این چندشکلی احتمالاً در ایجاد این بیماری نقش ندارد (۱۵). Eun و همکارانش ارتباط چشمگیری بین چندشکلی‌های تک نوکلئوتیدی FAS، rs1800682، rs1571013، rs1468063 و بیماری سرطان پاپیلاری تیروئید گزارش کردند (۱۷).

Huang و همکارانش که همراهی چندشکلی FAS-670A/G و خطر ابتلا به لوسمی میلوئیدی حاد بالغ را در چین بررسی کردند، هیچ ارتباطی بین این چندشکلی و خطر ابتلا به لوسمی میلوئیدی حاد بالغ گزارش نکردند (۱۶). Dastmalchi و همکاران، ارتباط چندشکلی ژن FAS و سرطان پستان را مورد بررسی قرار دادند. نتایج حاصل از آنالیزهای *in silico* توسط این گروه نشان داد که تأثیر چندشکلی‌های ناحیه پروموتری ژن FAS (چندشکلی FAS-670A/G) بر روی الگوی اتصال پروتئینی ناحیه پروموتری باعث تغییر در الگوی اتصال پروتئین STAT1 می‌شود، به این صورت که در حضور آلل G تمایل این اتصال کاهش می‌یابد (۱۹). این عامل خود باعث تغییر در اتصال فاکتورهای رونویسی به پروموتور FAS و باعث تغییراتی در رونویسی و ترجمه ژن مذکور خواهد شد. به جز دو مورد از مطالعات ذکر شده، در بیشتر مطالعات انجام گرفته ارتباط معنی داری بین بیماری‌های مختلف و چندشکلی‌های مختلف ژن‌های FAS و FASL دیده نمی‌شود. در مطالعه حاضر نیز همسو با اکثر مطالعات قبلی، ارتباط معنی داری بین چندشکلی مورد مطالعه و ریسک ابتلا به سرطان تیروئید یافت نشد. با این وجود، ارتباط آلل G با اندازه تومور در مبتلایان معنی دار به دست آمد. علت نتایج متناقض در مطالعات مختلف در این زمینه را می‌توان با تفاوت در زمینه ژنتیکی جمعیت‌های مورد مطالعه توجیه نمود. همچنین، نوع سرطان مورد مطالعه در پژوهش‌ها متفاوت است. اختلافات نژادی و عوامل محیطی، مانند اختلاف در منطقه جغرافیایی و به دنبال آن تفاوت در نوع تغذیه، نیز می‌توانند عوامل تأثیرگذار در این مسئله باشند (۱۸). داده‌های این مطالعه نشان داد که چندشکلی rs1800682 ژن FAS در استعداد ابتلا به سرطان تیروئید در منطقه شمال غرب ایران تأثیری ندارد. با توجه به مطالعه انجام شده، پیشنهاد می‌شود ارتباط چندشکلی rs1800682 با ابتلا به سرطان تیروئید در نمونه‌های بیشتر و جوامع آماری بزرگ‌تر از افراد بیمار و سالم و در سایر نقاط کشور ایران و جهان مورد مطالعه قرار بگیرد.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه شهید مدنی آذربایجان به جهت حمایت از تحقیق و تمام افرادی که برای انجام این پژوهش یاری رساندند، قدردانی می‌گردد.

References

- 1.Dhuli K, Medori MC, Donato K, Donato K, Maltese PE, Tanzi B, et al. Omics sciences and precision medicine in thyroid cancer. Clin Ter. 2023;174(Suppl 2(6)):11-20.
- 2.Chen DW, Lang BHH, McLeod DSA, Newbold K, Haymart MR. Thyroid cancer. Lancet. 2023;401(10387):1531-44.
- 3.Hernandez BY, Morita SY, Wilkens LR. UH cancer center hotline: thyroid cancer: rising incidence and ethnic disparities. Hawaii J Med Public Health. 2012;71(8):240-1.
- 4.Shen Y, Wang X, Wang L, Xiong D, Wu C, Cen L, et al. Modifiable risk factors for thyroid cancer: lifestyle and residence environment. Endokrynol Pol. 2024;75(2):119-29.
- 5.Xing M. Molecular pathogenesis and mechanisms of thyroid cancer. Nat Rev Cancer. 2013;13(3):184-99.
- 6.Safavi A, Azizi F, Jafari R, Chaibakhsh S, Safavi AA. Thyroid Cancer Epidemiology in Iran: a Time Trend Study. Asian Pac J Cancer Prev. 2016;17(1):407-12.
- 7.Rashid FA, Mansoor Q, Tabassum S, Aziz H, Arfat WO, Naoum GE, et al. Signaling cascades in thyroid cancer: Increasing the armory of archers to hit bullseye. J Cell Biochem. 2018;119(5):3798-808.
- 8.Zhu J, Lu L, Cheng X, Xie R, Chen Z, Li Y, et al. Association between CD95L polymorphism and cervical cancer risk: evidence from a meta-analysis. Tumour Biol. 2014;35(6):5137-42.
- 9.Hosseinpourfeizi MA, Dianati S, Samir A, Dastmalchi N, Pouladi N. Investigation of Mutations of Exon 11-A of BRCA1 Gene in Women with Breast Cancer in the Northwest of Iran. J Babol Univ Med Sci. 2018;20(7):28-32. [In Persian]
- 10.Hossein Pour Feizi MA, Ravanbakhsh Gavgani R, Pourahmad R, Pouladi N, Azarfam P, Montazeri V. Association of p53 Arg/Pro polymorphism at codon 72 with risk of breast cancer in east azerbaijani women. J Babol Univ Med Sci. 2012;14(2):31-8. [In Persian]
- 11.Pouladi N, Hosseinpour feizi MA, Khani H. Evaluation of mutations in exons 7 and 8 of TP53 gene in breast cancer patients from Azarbaijan. J Babol Univ Med Sci. 2016;18(2):19-25. [In Persian]
- 12.Rossin A, Miloro G, Hueber AO. TRAIL and FasL Functions in Cancer and Autoimmune Diseases: Towards an Increasing Complexity. Cancers (Basel). 2019;11(5):639.
- 13.Sun H, Yang Y, Gu M, Li Y, Jiao Z, Lu C, et al. The role of Fas-FasL-FADD signaling pathway in arsenic-mediated neuronal apoptosis in vivo and in vitro. Toxicol Lett. 2022;356:143-50.
- 14.Valibeigi B, Amirghofran Z, Golmoghaddam H, Hajihosseini R, Kamazani FM. Fas gene variants in childhood acute lymphoblastic leukemia and association with prognosis. Pathol Oncol Res. 2014;20(2):367-74.
- 15.Erdogan M, Karadeniz M, Berdeli A, Tamsel S, Ertan Y, Uluer H, et al. Fas/Fas ligand gene polymorphism in patients with papillary thyroid cancer in the Turkish population. J Endocrinol Invest. 2007;30(5):411-6.
- 16.Huang Y, Deng D, Li H, Xiao Q, Huang L, Zhang B, et al. Fas-670A>G polymorphism is not associated with an increased risk of acute myeloid leukemia development. Biomed Rep. 2016;4(2):153-60.
- 17.Eun YG, Lee YC, Kim SK, Chung JH, Kwon KH, Park IS. Single nucleotide polymorphisms of the Fas gene are associated with papillary thyroid cancer. Auris Nasus Larynx. 2015;42(4):326-31.
- 18.Deng N, Zhou H, Fan H, Yuan Y. Single nucleotide polymorphisms and cancer susceptibility. Oncotarget. 2017;8(66):110635-49.

- 19.Dastmalchi N, Safaralizadeh R, Hosseinpour Feizi MA, Pouladi N. The Relationship of Fas Promoter Polymorphisms and Breast Cancer Risk in North-West of Iran: A Haplotype and in Silico Analysis. *Int J Cancer Manag.* 2017;10(9):e10528.
- 20.Pecce V, Sponziello M, Damante G, Rosignolo F, Durante C, Lamartina L, et al. A synonymous RET substitution enhances the oncogenic effect of an in-cis missense mutation by increasing constitutive splicing efficiency. *PLoS Genet.* 2018;14(10):e1007678.
- 21.Tahmasebi Fard Z. Evaluation of the Effect of Menopausal Status and BMI on Polymorphisms in Fas/Fas L and the Risk of Breast Cancer. *Clin Breast Cancer.* 2025;25(1):e56-62.
- 22.Chen Y, Wang H, Yan Y, Ren M, Yan C, Wang B. Correlation between FAS single nucleotide polymorphisms and breast carcinoma susceptibility in Asia. *Medicine (Baltimore).* 2019;98(49):e18240.